TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

UZUN QT (UQT) SENDROMU'NUN MOLEKÜLER MEKANİZMALARI

BURCU TÜRKGENÇ

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. S. Ayşe Özer

EŞ DANIŞMAN
Prof. Dr. M. Cengiz Yakıcıer

2016-İSTANBUL

.

TEZ ONAYI

Kurum	: Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi	: Doktora
Anabilim Dalı	: Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Tez Sahibi	: Burcu TÜRKGENÇ
Tez Başlığı	: Uzun QT Sendromu'nun Moleküler Mekanizmaları
Sınav Yeri	: Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Sınav Tarihi	: 26.08.2016

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	**Kurumu**	**İmza**
Prof. Dr. S. Ayşe Özer	M.Ü. Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD	

Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. M. Cengiz Yakıcıer (Eş Danışman)	Acıbadem Ü. Fen Fak., Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	
Prof. Dr. Halil Kavaklı	Koç Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik AD.	
Doç. Dr. Şehime Gülsün Temel	Uludağ Ü. Tıp Fak., Histoloji ve Embriyoloji AD; Yakın Doğu Ü. Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD	
Doç. Dr. Mustafa Akkiprik	Marmara Ü. Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD	
Yrd. Doç. Dr. Can Ezcik	Marmara Ü. Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 22/Eylül/2016 tarih ve 90 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Göksel ŞENER

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

25.07.2016

Burcu TÜRKGENÇ

I. TEŞEKKÜR

Bana doktora yapma fırsatı tanıyan, doktora tez çalışmamdaki değerli bilimsel katkıları, öğrenciliğim süresince gösterdikleri ilgi, sabır ve anlayıştan dolayı hocalarım Prof. Dr. Ayşe Özer ve Prof. Dr. M. Cengiz Yakıcıer'e,

Bana genetiği sevdiren ve bu alanda ilerlemem için desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, kariyer planlamalarımda ve kararsızlıklarımda bana hep yol gösterici olan değerli hocam Prof. Dr. A. Nurten Akarsu'ya,

Tez projem süresince görüş ve önerileriyle hep yanımda olan, büyük bir istek ve duyarlılıkla birçok hasta ve ailesini çalışmaya yönlendiren değerli hocam Doç. Dr. Şehime G. Temel'e,

Tez çalışmamda kullanılan materyalleri sağlayan diğer tüm hekimlerimiz ve araştırıcılara,

Tez çalışmamda projeye gönüllü olarak katılan tüm hasta ve ailelerine,

Tez çalışmamı verdikleri bütçe ile gerçekleştirmemi sağlayan Bilim Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı SANTEZ programına,

Tezimle İlgili her türlü malzeme alımı ve deney aşamalarımda desteklerini esirgemeyen Medsantek Firması'ndan Didem Seven ve Merve Tanrısarıkaya'ya,

Türk Toplumundaki varyant sıklıklarını paylaşan TÜBİTAK-Bilgem'den sayın Dr. Hüseyin Demirci ve Bekir Ergüner'e,

İstatistiksel hesaplamalarda yardımlarını esirgemeyen Özge Karadağ'a,

Hayatım boyunca her alanda ve her an koşulsuz destek ve sevgilerini hissettiğim, bana ben değil de biz olmanın, aile olmanın önemini kavratan biricik ailem; annem, babam, ablam ve kardeşime teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Doktora sürecimin sonunda biteceğine ikna olacak olan eşim Deniz Emre Türkgenç'e de sabrından ve anlayışından ötürü ayrıca teşekkür ediyorum.

Bu tez, Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından 0253.STZ.2013-2 numaralı San-Tez projesi ile desteklenmiştir.

II. İÇİNDEKİLER

I. Teşekkür i

II. İçindekiler ii

III. Şekiller Dizini vii

IV. Tablolar Dizini xii

V. Kısaltma ve Simgeler xiv

1. ÖZET 1

2. SUMMARY 2

3. GİRİŞ ve AMAÇ 3

4. GENEL BİLGİLER 6

4.1. Kalp 6

4.1.1. Kalbin yapı ve fonksiyonu 6

4.1.2. Akımlar ve iyon kanalları 9

4.2. Uzun QT Sendromu (UQTS) 12

4.2.1. Genel bilgi 12

4.2.2. Tarihçe 13

4.2.3. Klinik bulgular 14

4.2.4. UQT tanısı 15

4.2.5. UQTS genetiği ve patofizyolojisi 18

4.2.5.1. Uzun QT sendromu tip 1 (UQTS1) 24

4.2.5.2. Uzun QT sendromu tip 2 (UQTS2) 26

4.2.5.3. Uzun QT sendromu tip 3 (UQTS3) 28

4.2.5.4. Uzun QT sendromu tip 4 (UQTS4) 30

4.2.5.5. Uzun QT sendromu tip 5 (UQTS5) 33

4.2.5.6. Uzun QT sendromu tip 6 (UQTS6) 36

4.2.5.7. Uzun QT sendromu tip 7 (UQTS7) 38

4.2.5.8. Uzun QT sendromu tip 8 (UQTS8) 39

4.2.5.9. Uzun QT sendromu tip 9 (UQTS9) 43

4.2.5.10. Uzun QT sendromu tip 10 (UQTS10) 45

4.2.5.11. Uzun QT sendromu tip 11 (UQTS11) 48

4.2.5.12. Uzun QT sendromu tip 12 (UQTS12) 50

4.2.5.13. Uzun QT sendromu tip 13 (UQTS13) 51

4.2.5.14. Uzun QT sendromu tip 14 (UQTS14) 53

4.2.5.15. Uzun QT sendromu tip 15 (UQTS15) 55

4.2.6. UQT için genotip-fenotip korelasyonu 55

4.2.6.1. Hastalığın kalıtım kalıbı ve genotipe özgü moleküler patoloji 55

4.2.6.2. Hastalığın multisistem tutulumu 56

4.2.6.3. Genotipe özgül T-dalga morfolojisi 57

4.2.6.4. Genotip ve ekzersiz testi 58

4.2.6.5. Kardiyak olaylar için genotipe özgül tetikleyiciler 58

4.2.6.6. Genotip ve risk sınıfları 60

4.2.6.7. Genotipe özgü tedavi 61

4.3. Yeni Nesil Sekanslama Teknolojileri 64

5. GEREÇ ve YÖNTEM 72

5.1. Kullanılan Aletler 72

5.2. Kullanılan Sarf Malzemeler 73

5.3. Kullanılan Kimyasallar 74

5.4. Kullanılan Çözeltiler 75

5.4.1. Periferik tam kandan DNA eldesi 75

5.4.2. ORTE görüntüleme sistemi ile PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi 75

5.4.3. Yeni nesil sekanslama verilerinin DNA dizi analizi ile konfirmasyonu 76

5.5. Hasta Materyallerinin Toplanması 76

5.6. Periferik Tam Kandan DNA Eldesi 77

5.7. DNA Miktar Tayini 78

5.8. Iontorrent PGM Cihazı Kullanılarak Yeni Nesil Sekanslama 79

5.8.1. Ion Ampliseq özel panel dizaynı 81

5.8.2. Ion Ampliseq özel panel ile kütüphanenin oluşturulması 81

5.8.2.1. Hedef bölgelerin çoğaltılması 81

5.8.2.2. Primer dizilerinin kısmi kesimi 82

5.8.2.3. Amplikonlara adaptörleri bağlama 83

5.8.2.4. Adaptör bağlı amplikonları saflaştırma 85

5.8.2.5. Kütüphanenin normalizasyonu 86

5.8.3. Kalıp hazırlama 89

5.8.4. Kalıp-pozitif ISP'lerin "Zenginleştirme" işlemi ile eldesi 90

5.8.5. Ion PGM cihazı ile sekanslama 92

5.8.5.1. Çalışma planının oluşturulması 94

5.8.5.2. Ion PGM cihazının temizliği 95

5.8.5.2.1. Klorid yıkama 96

5.8.5.2.2. Su yıkama 96

5.8.5.3. Ion PGM cihazının pH'ının otomatik olarak ayarlanması 96

5.8.5.4. Çipin yüklenmesi ve dizileme 97

5.8.6. Ion PGM verilerinin analizi 100

5.9. Yeni Nesil Sekanslama Verilerinin Klasik Sanger Sekanslama ile Doğrulanması 103

5.9.1. PZR ve DNA dizi analizinde kullanılan primerlerin dizayn edilmesi 103

5.9.2. DNA dizi analizi ile konfirme edilecek bölgelerin PZR ile çoğaltılması 104

5.9.3. ORTE görüntüleme sistemi ile PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi 106

5.9.4. Amplifiye edilen PZR ürünlerinin pürifiye edilmesi 107

5.9.5. Pürifiye edilen PZR ürünleri için tek yön sekans reaksiyonunun hazırlanması 108

5.9.6. Sekans reaksiyonu ürünlerinin saflaştırılması 109

5.9.7. Saflaştırılan örneklerin "Genome Lab GEXP, Beckman Coulter" cihazına yüklenmesi 109

5.9.8. Sonuçların DNASTAR yazılımı ile analizleri 110

6. BULGULAR 111

6.1. Ion Torrent sunucusunda gerçekleşen Yeni Nesil Sekanslama koşum özeti 111

6.1.2. Yeni Nesil Sekanslama sonrası tespit edilen patojenik/şüpheli varyantların klasik Sanger dizileme ile doğrulanması 120

6.1.3. Aile ağacı üzerinde taşıyıcılıkların gösterilmesi ve varyantların yorumlanması 121

6.2. Tez Çalışmasında Çalışılan 92 Hastaya Ait Klinik Veriler 123

6.3. Tez Çalışmasında Çalışılan 92 Hastaya Ait Genetik Sonuçlar 133

6.4. Tez Çalışmasında Çalışılan 92 Hastaya Ait Klinik ve Genetik Veriler Birleştirilerek Yapılan İstatistiksel Sonuçlar 156

7. TARTIŞMA ve SONUÇLAR 187

8. KAYNAKLAR 210

9. ÖZGEÇMİŞ 239

10.ULUSLARARASI KONGRE BİLDİRİLERİ 240

11. ETİK KURUL ONAYI 244

12. KLİNİK BİLGİ FORMU 246

13. BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU 251

III. ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Kalbin yapısı 6

Şekil 2: Kalbin iletim sistemi 8

Şekil 3: Bir insan kalbinin EKG'de görülen normal sinüs ritmine ait şematik diyagram 9

Şekil 4: Atriyal ve ventriküler AP'lerin oluşumundaki iyonik akımlar 11

Şekil 5: EKG'de uzamış QT aralığının görüntüsü 13

Şekil 6: Kardiyak hücrelerinde UQTS ile ilişkili iyon kanalları 22

Şekil 7: Tipik bir voltaj kapılı kardiyak iyon kanalının yapısı 23

Şekil 8: *KCNQ1* geni şematik diyagramı 24

Şekil 9: KvLQT1 proteini topolojisi 25

Şekil 10: *KCNH2* geni şematik diyagramı 26

Şekil 11: hERG K^+ kanalının yapısal organizasyonu 27

Şekil 12: *SCN5A* geni şematik diyagramı 29

Şekil 13: *SCN5A* geni Na^+ kanalının yapısal organizasyonu 29

Şekil 14: *ANK2* geni şematik diyagramı 30

Şekil 15: *ANK2* geni genomik yapısı 31

Şekil 16: Kardiyak miyositinde Ankirin-B protein kompleksi modeli 32

Şekil 17: *KCNE1* gen yapısı 34

Şekil 18: *KCNE1* geni şematik diyagramı 35

Şekil 19: Kv7.1/*KCNE1* kanallarının topolojisi ve stoikiometrisi 36

Şekil 20: KCNE protein ailesinin topolojisi 37

Şekil 21: *KCNE2* geni şematik diyagramı 37

Şekil 22: *KCNJ2* geni şematik diyagramı 38

Şekil 23: Kir2.1 topolojisi ve *KCNJ2* geni yapısı 39

Şekil 24: *CACNA1C* geni şematik diyagramı 41

Şekil 25: Voltaj kapılı kalsiyum kanalı Cav1.2'nin por yapısını oluşturan α11.2 alt biriminin şematik temsili 42

Şekil 26: İki Ca^{+2} kanalı kümelenmesine ait temsili şekil 43

Şekil 27: *CAV3* geni şematik diyagramı 44

Şekil 28: *CAV3* geni yapısı 44

Şekil 29: Kaveolin gen ailesinin şematik tasviri 45

Şekil 30: *SCN4B* geni şematik diyagramı 46

Şekil 31: Na kanalı β4 alt ünitesini kodlayan *SCN4B* geninin topolojisi 47

Şekil 32: Na kanalı β alt ünitesinin topolojisi 47

Şekil 33: *AKAP9* geni şematik diyagramı 48

Şekil 34: I_{Ks}/Yotiao kompleksinin şematik diyagramı 49

Şekil 35: Yotiao üzerindeki *KCNQ1*-bağlanma domainlerinin şematize edilmesi 49

Şekil 36: *SNTA1* geni şematik diyagramı 50

Şekil 37: α-1 sintrofin domainlerinin sematik diyagramı 51

Şekil 38: *KCNJ5* geni şematik diyagramı 52

Şekil 39: G proteinle aktive içeri doğrultucu potasyum kanalı 4 (GIRK) topolojisi 52

Şekil 40: *CALM1* geni şematik diyagramı 54

Şekil 41: Kalmodulin'in 4 adet Ca^{2+} yüklü kristal yapısı 54

Şekil 42: *CALM2* geni ekzonları 55

Şekil 43: UQT hastalarında rastlanan genotipe özgül T-dalga morfolojisi 58

Şekil 44: UQT hastalarında kardiyak olayların genotipe özgül tetikleyicileri 60

Şekil 45: UQT hastalarında çeşitli tipte ß-bloker kullanımına bağlı olarak kardiyak olayların oluşum yüzdesi 63

Şekil 46: B-Blokerlerin kullanımı ile UQT hastalarında kardiyak olaysız sağ kalımın Kaplan-Meier analizi 63

Şekil 47: UQT1, UQT2 ve UQT3 hastalarında mexiletine infüzyon testi öncesi ve sonrasındaki EKG görüntüsü 64

Şekil 48: Klasik Sanger DNA dizi analizi basamakları 66

Şekil 49: Sıkça kullanılan yeni nesil sekanslama platformlarının kütüphane hazırlığı ve dizileme aşamalarının şematize edilmesi 68

Şekil 50: Iontorrent kimyası 79

Şekil 51: Iontorrent sisteminde ard arda iki aynı nükleotidin ilavesi 80

Şekil 52: Yeni nesil dizileme akış diyagramı 80

Şekil 53: Ion One Touch 2 cihazında aparat ve solüsyonların yerleşimi 89

Şekil 54: Ion One Touch™ ES cihazında kuyucuk tablası 92

Şekil 55: Reaktifleri ve yıkama şişeleri ile Ion PGM sistemi 93

Şekil 56: Ion PGM sekanslama iş akışı 94

Şekil 57: Ion Torrent sunucusunda koşum planı oluşturulması 95

Şekil 58: Tez çalışmasında çalışılan başarılı bir koşum özeti 112

Şekil 59: Koşumun referans dizi ile benzerliği ve doğruluğu 113

Şekil 60: Başarılı bir koşuma ait analiz kapsamı özeti 113

Şekil 61: Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporu 114

Şekil 62: Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporundaki baz okuma derinlik grafiği 115

Şekil 63: Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporundaki amplikon kapsam grafiği 115

Şekil 64: Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporundaki referans kapsam grafiği 116

Şekil 65: Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporunun en altındaki indirilebilir dokümanlar 116

Şekil 66: Başarılı bir koşumda 'VariantCaller_BC_Mapping plug-in'ine (eklentisine) ait Ion Torrent sunucusu görüntüsü 117

Şekil 67: Başarılı bir koşumda 'VariantCaller_BC_Mapping plug-in'inde (eklentisinde) varyantların listelenmesi 117

Şekil 68: Başarılı bir koşumda Ion Torrent sunucusunda tespit edilen bir varyanta ait IGV görüntüsü 118

Şekil 69: H90 hastasında yapılan yeni nesil sekanslama sonucu varyant listesinin Ion Reporter görüntüsü 119

Şekil 70: H90 hastasında tespit edilen KCNQ1 geni c.1097G>A ve SCN5A geni c.2837A>C varyantlarının Ion Reporter görüntüleri 119

Şekil 71: H90 hasta ve ailesinde belirlenen KCNQ1 geni p.Arg366Gln mutasyonuna ait Klasik Sanger DNA Dizi Analizi görüntüsü 120

Şekil 72: H90 hasta ve ailesinde belirlenen SCN5A geni p.Asn946Thr varyasyonuna ait klasik Sanger DNA Dizi Analizi görüntüsü 121

Şekil 73: H90 hasta ve ailesine ait aile ağacı 121

Şekil 74: Tezde çalışılan toplam UQT hasta sayısı 156

Şekil 75: Tezde çalışılan ve QTc bilgisi mevcut 89 UQT hastasının ortalama QTc mesafesi 157

Şekil 76: Çalışılan 92 UQT hastasının yaş ortalaması grafiği 158

Şekil 77: 92 UQT hastasının hastalık seyrinin yüzdelerle dilim pasta grafiği üzerinde gösterilmesi 158

Şekil 78: UQT geni varyantı taşıyan ve taşımayan hasta sayıları 161

Şekil 79: Erkek ve kadınlarda varyasyon sayısı karşılaştırma 180

Şekil 80: QTc mesafesi <500 ile ≥500 olan hastalar arasında varyant sayısı karşılaştırma 182

Şekil 81: Erkek ve kadında patojenik alt sınıfların karşılaştırması 183

Şekil 82: QTc mesafesi <500 ve ≥500 ms olan hastalarda gözlenen varyantların patojenik alt sınıflarına göre karşılaştırılması 184

IV. TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: Önerilen Bazzet düzeltmesine göre hesaplanmış uzamış QTc değerleri 16

Tablo 2: Konjenital UQTS'de tanısal kriterler 17

Tablo 3: Yaşa göre geçirilen kardiyak arrest ya da ani kardiyak ölüm için yüksek-risk faktörleri 18

Tablo 4: UQTS ile ilişkilendirilen genler ve alt tipleri 20

Tablo 5: Konjenital UQTS'de ilk 3 genotipe özgü klinik 61

Tablo 6: Ticari olarak kullanılan yeni nesil sekanslama platformlarının karşılaştırılması 70

Tablo 7: Ion Reporter'da veri analizlerinde kullanılan veritabanları ve versiyonları 101

Tablo 8: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait klinik veriler 124

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar 134

Tablo 10: Alfabetik sıraya göre dizili genlerde saptanan mutasyon/varyasyonlar 148

Tablo 11: Cinsiyete göre semptomlar 160

Tablo 12: Klinik değişkenlere göre erkek ve kadın arasında anlamlı farkın araştırılması için yapılan istatistiksel testler ve p value değerleri tablosu 161

Tablo 13: 15 UQT genine ait varyant sıklıkları 163

Tablo 14: Panelde kullanılan diğer 53 gen + 4 ekzom sekans genine dair varyant sıklıkları 164

Tablo 15: Uzun QT hastalarında genotipe göre klinik ve genetik verilerin karşılaştırılması 167

Tablo 16: ≥3 varyasyonu gözlenen genler için patojenik alt sınıflara göre klinik bulgular 172

Tablo 17: Uzun QT hastalarında varyant sayısına göre klinik karşılaştırma 179

Tablo 18: UQTS genlerinin tekli ya da çoklu bulunduğu hasta sayıları 181

Tablo 19: Uzun QT hastalarında varyant sınıflarına göre klinik karşılaştırma 185

Tablo 20: İlk 3 UQT geninde protein pozisyonuna göre varyasyon sayısı 186

V. KISALTMA ve SİMGELER

α: Alfa

ACh: Asetilkolin

AKAP: Bir kinaz anchor (bağlanma) protein

AKÖ: Ani kardiyak ölüm

AP: Aksiyon potansiyeli

ASD: Atriyal septal defekt

AV: Atriyoventriküler

B56a: Fosfataz 2A proteini regülatör alt ünitesi olan B56α

β: Beta

°C: Santigrat derece

Ca: Kalsiyum

CaM: Calmodulin

cAMP: Siklik adenozin mono fosfat

dbSNP: "The Single Nucleotide Polymorphism Database"

KPVT: Katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi

CT-BD: C-terminal bağlanma domaini

CTD: Karboksil terminal domain

D: "Deleterious" (Zararlı)

DD: Death domain (Ölü domain)

DMSO: Dimetil sülfoksit

DTCS: Dye Terminator Cycle Sequencing

Δ: Delta

EKG: Elektrokardiyogram

emPZR: Emülsiyon PZR

ER: Endoplazmik retikulum

hERG: ‘Human ether-a-go-go-related gene’

HGMD: ‘Human Genome Mutation Database’

HGVS: ‘Human Genome Variation Society’

ICD: Implante edilebilir kardioverter-defibrilatör

IP3R: Inositol 1, 4, 5- üç fosfat reseptörü

IPSCs: Uyarılmış pluripotent kök hücreler

ISP: Ion sphere particles (İyon küre partiküler)

I_{Na}: Sodyum akımı

$I_{Ca,L}$: L-tip kalsiyum akımı

I_{to}: Geçici dışarı akım

I_{Kur}: Ultra hızlı aktive olan ertelenmiş doğrultucu potasyum akımı

I_{Kr}: Hızlı aktive olan ertelenmiş doğrultucu potasyum akımı

I_{Ks}: Yavaş aktive olan ertelenmiş doğrultucu akım

I_{K1}: İçeri doğrultucu potasyum akımı

$I_{K,ACh}$: Asetilkolinle aktive olan potasyum akımı

$I_{Kir2.1}$: İçe doğrultucu potasyum akımı

$I_{Kir3.4}$: G protein ile aktive olan içe doğrultucu potasyum akımı

IPSC: Uyarılmış pluripotent kök hücre

JLNS: Jervell ve Lange-Nielsen Sendromu

K: Potasyum

Kb: Kilobaz

Kir: İçeri doğrultucu potasyum kanalları

Kv: Voltaj kapılı potasyum kanalı

L: Litre

LCSD: Sol kardiyak sempatik denervasyonu

LZ: Lösin fermuar motifi

MAF: Minör allel frekansı

M1: Transmembran bölgesi 1

M2: Transmembran bölgesi 2

MBD: Membran bağlanma domaini

ml: Mililitre

MΩ: Megohm

ms: Milisaniye

mV: Milivolt

MVP: Mitral valv prolapsusu

µl: Mikrolitre

N: Nötral

Na: Sodyum

Nav1.5: Kardiyak sodyum kanalı

NCX: Sodyum kalsiyum değiştirici

NLS: Nükleer lokalizasyon sinyali

NMDA: N-metil-D-aspartat

nNOS: Nöronal nitrik oksit sentaz

NSR: Normal sinüs ritm

NT-BD: N-terminal bağlanma domain

OD: Otozomal Dominant

OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man

OR: Otozomal resesif

QTc: QT mesafesi

PD: Por domain

PFO: Patent foramen ovale

PIP2: Fosfatidilinositol 4,5-bifosfat

PKA: Protein kinaz A

PMCA4b: Plazma membranı Ca-ATPaz 4b alttipi

PP2A: Fosfataz 2A proteini

RPM: Devir / Dakika

PS: Pulmoner stenoz

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

RR: Saniye cinsinden Bir QRS kompleksi ile başlayıp diğer QRS kompleksine kadar olan mesafe

rSAP: Recombinant shrimp alkalin Fosfataz

RWS: Romano-Ward Sendromu

SA: Sinoatriyal

SBD: Spektrin bağlanma domain

SF: Seçici filtre

T: Tolere edilebilir

TAE: Tris-asetik asit-edta

TDP: Torsade de pointes

TSS: Transkripsiyon başlama bölgesi

UPKH: Uyarılmış pluripotent kök hücre

UQT: Uzun QT

UQTS: Uzun QT Sendromu

UTR: İfade edilmeyen bölge

VES: Ventriküler ekstrasistol

VF: Ventriküler fibrilasyon

VSD: Voltaj duyarlı domain

WHO: Dünya sağlık örgütü

VT: Ventriküler taşikardi

1. ÖZET

Uzun QT Sendromu'nun (UQTS) Moleküler Mekanizmaları

Doktora Tez Öğrencisi: Burcu Türkgenç

Danışman: Prof. Dr. S. Ayşe Özer, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Marmara Üniversitesi

Eş Danışman: Prof. Dr. M. Cengiz Yakıcıer, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Acıbadem Üniversitesi

Uzun QT Sendromu (UQTS) yaşamı tehdit eden ventriküler aritmiler ve ani ölümle ilişkilendirilen bir genetik hastalıktır. UQTS, genetik heterojenite, eksik penetrans ve değişken ekspresivite göstermektedir. Klinik tanısal kriterlere göre UQTS tanısı almış ve İlgili genlerde tayin edilebilir patojenik mutasyonu saptanmayan aile oranı yaklaşık %20-25'tir. Bu tez çalışmasında, hastalığın genetik temelleri, moleküler mekanizmaları ve klinik seyri arasındaki ilişkinin anlaşılması için UQTS'den sorumlu yeni genlerin tanımlanması hedeflendi. Çalışmada birbirleriyle akrabalık ilişkisi bulunmayan 92 UQTS vakasında (9,66±5,602, 53 erkek ve 8,69±5,676, 39 kadın) 68 kardiyak aritmi geni incelendi. İon PGM cihazında müşteri paneli ile yapılan hedefe özgü yeni nesil sekanslama sonucu bilinen 15 UQT gen varyantlarının (79) vakaların %40,5'inde, geri kalan gen varyantlarının (116) ise vakaların %59,5'inden sorumlu olduğu gösterildi. Geri kalan 10 hastada (%10,9) tayin edilen herhangi bir şüpheli varyanta rastlanmadı. Çalışmamızda, 38 bildirilmemiş yeni, 26 patojenik/muhtemel patojenik, 40 tartışmalı patojeniteli, 65 önemi belirsiz/tanımlanmamış/test edilmemiş ve 26 zararsız/muhtemel zararsız varyant tanımlandı. Varyant taşıyıcısı olmayan bireylerde (10,3±4,11 yaş) hastalık başlangıç yaşının, ≥1 varyant taşıyan bireylerle kıyaslandığında daha yüksek olduğu belirlendi(t test, $p>0,05$). 68 genlik kalıtsal aritmi panelimiz ile UQTS'den sorumlu olan yeni aday genler tanımlanmıştır. Tez çalışmamız, UQT panelinin sadece 15 genle sınırlandırılmayıp diğer kardiyak kanalopati genlerinin de araştırılması gerekliliğini vurgulamaktadır. Bulgularımızın, hastalığın patogenezinin anlaşılmasında literatüre önemli katkılar sağlayacağına, ayrıca ileri fonksiyon çalışmaları ve kişiye özgü tedavi yaklaşımları için öncül nitelik taşıdığına inanmaktayız.

Anahtar Kelimeler: UQT Sendromu, aritmi, mutasyon, yeni nesil sekanslama, hedef panel

2. SUMMARY

Molecular Mechanisms of Long QT Syndrome (LQTS)

Doctorate Thesis Student: Burcu Türkgenç

Advisor: Prof. Dr. S. Ayşe Özer, Department of Medical Biology and Genetics, University of Marmara

Co-Advisor: Prof. Dr. M. Cengiz Yakıcıer, Department of Molecular Biology and Genetics, University of Acibadem

Long QT syndrome (LQTS) is a genetic disorder associated with life threatening ventricular arrhythmias and sudden death. LQTS exhibits genetic heterogeneity, incomplete penetrance, and variable expressivity. Approximately 20-25% of families meeting clinical diagnostic criteria for disease do not have detectable pathogenic variants in LQTS genes. We sought to identify the new LQTS genesin understanding the relationship between the genetic background, molecular mechanisms and clinical course of disease in thesis study. In thesis study, We screened for 68 cardiac arrhythmia genes among 92 unrelated LQT cases (9,66±5,602, 53 male and 8,69±5,676, 39 female) from Turkey. Targeted next generation sequencing on ion PGM using Custom Panel revealed that known 15 LQT gene variants (79) acounted for 40,5% of the cases, while the remaining gene variants (116) accounted for 59,5% of the cases. Any suspicious variant has not be detected in the remaining 10 (10,9%) patients. We described 38 novel, 26 pathogenic/probably pathogenic, 40 conflicting interpretations of pathogenicity, 65 unknown significance/nonidentified/untested and 26 benign/likely benign variants. Age of onset was higher in noncarriers (10,3±4,11 years) when compared to ≥ 1 variant carriers (6,90±5,00 years) ($p>0,05$). Our 68 gene panel for inherited arrhythmias identified novel candidate genes which are responsible for LQTS. We recommend that LQT panel should not be limited only to 15 gene, but also should be investigated other cardiac channelopathy genes.We believe that our findings providea significant contributionto the literature in understanding the pathogenesis of the disease, also carry the leading attributionfor future functional studies and personalized treatment approaches.

Key words: LQT Syndrome, arrhythmia, mutation, next generation sequencing, targeted panel

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Uzun QT Sendromu, kalbin repolarizasyonundaki gecikme ve sonrasında kalp atımına bağlı olarak "Torsade de pointes" atak riskinin arttığı nadir görülen, genetik olarak heterojen bir kalp hastalığıdır (Jongbloed ve ark., 1999). Hastalık sıklığının genel popülasyonda 1/2000 ile 1/5000 arasında olduğu düşünülmektedir (Goldenberg ve ark., 2008; Schwartz ve ark., 2009).

UQT'lerin ana tipleri; otozomal dominant olarak kalıtılan Romano-Ward Sendromu (RWS) ve otozomal resesif olarak kalıtılan Jervell ve Lange-Nielsen sendromudur (JLNS). Otozomal resesif formları klinik olarak daha ağır seyreder ve hastalığa nöral sağırlık eşlik eder (Jervell ve Lange-Nielsen, 1957; Romano ve ark., 1963; Ward, 1964).

Şimdiye kadar hastalıkla ilişkili 15 farklı alt tip ve binlerce mutasyon tanımlanmıştır (UQT1-15). Mutasyonların, membran iyon kanallarında yapısal ve fonksiyonel defektlere yol açtığı belirlenmiştir. Mutasyonu taşıyan bireylerde, ventriküler aksiyon potansiyeli süresinde ve buna bağlı olarak QT aralığında artış gözlenmektedir. QT uzaması, UQT'lerin ayırt edici bir özelliğidir ve iki yol ile oluşabilir: ilk yolak, aksiyon potansiyelinin 3. fazı sırasında dışarıya potasyum iyon çıkışında azalma (fonksiyon kaybı) ikinci yolak ise kardiyak miyositlerine sodyum ya da kalsiyum iyonlarının geçişinin süresinin artmasıdır (fonksiyon kazanımı) (Goldenberg ve ark., 2008). Bununla beraber, hastalığın yeni formlarında iyon kanallarıyla ilişkili proteinlerde (*AKAP9*, *SNTA1*, *CALM1* ve *CALM2*) meydana gelen değişiklikler de tanımlanmıştır (Chen ve ark., 2007; Ueda ve ark., 2008; Crotti ve ark., 2013; Makita ve ark., 2014).

UQT1'de, *KCNQ1* mutasyonları görülür ve anormal I_{Ks} potasyum kanal fonksiyonu gözlenir. UQT2'de gözlenen *KCNH2* mutasyonları, I_{Kr} potasyum kanal fonksiyonunun bozulmasına neden olur (Curran ve ark., 1995). Hastalığın UQT3 formu, *SCN5A* mutasyonları ile oluşmaktadır ve anormal I_{Na} kanal fonksiyonu gözlenir (Wang ve ark., 1995). Hastalığın UQT5 formundan, *KCNQ1'*in yardımcı β alt ünitesi olan *KCNE1* mutasyonları sorumludur (Splawski ve ark, 1997) ve gen mutasyonları hastalığın hem dominant hem de resesif formuyla ilişkilendirilmiştir

(Bianchi ve ark., 1999; Krumerman ve ark., 2004; Van den Berg ve ark., 1997). UQT6 formunda ise *KCNE2* ya da Mirp1 mutasyonları, mevcut olan potasyum akımında azalmaya neden olur (Larsen ve ark., 2001; Lu ve ark., 2003). Yukarıda bahsedilen 5 gende (*KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1* ve *KCNE2*) meydana gelen mutasyonların tamamı, klinik olarak tanımlanan UQT'lerin yaklaşık %72'sinden sorumludur (Napolitano ve ark., 2005).

UQT, genellikle çocukluk döneminde ortaya çıkar. Bayılma, fiziksel ya da duygusal stres semptomları arasındadır. Hastalık semptomları değişkendir ve tüm taşıyıcılar semptomatik değildir (Eksik penetrans). RWS ile ilişkili olan genlerden birisinde mutasyonu taşıyan bireylerin ≤%50'sinde septomlar görülürken ≥%50'si aseptomatiktir (Vincent ve ark., 1992; Zareba ve ark., 1998). Semptomatik hastalarda ilk kardiyak olayın %50 vakada 12 yaşından önce, %90'ında ise 40 yaşına kadar görüldüğü bildirilmiştir (Chern-En Chiang, 2004).

Daha önceden fark edilmeyen, RWS komplikasyonlarına bağlı olarak gelişen aniden ölüm oranı %10-15'tir. Her bir fenotip için doğumdan 40 yaşına kadar ani ölüm riski yaklaşık %4 olarak bildirilmiştir. UQT1'de senkoplar en sık görülürken (%63) bunu sırasıyla UQT2 (%46) ve UQT3 (%18) izler. Fakat her üç alt tipte de ölüm insidansı benzerdir (Zareba ve ark., 1998).

Yüzme, dalış, duygusal stres ve ekzersiz UQT1 için tetikleyici semptomlar arasında olup; uyarılma ve duygusal stres altında UQT2 gözlendiği, UQT3 ait tipinde ise semptomların dinlenme sırasında ortaya çıktığı bildirilmiştir (Moss ve ark, 1999; Ackerman ve ark., 1999; Schwartz ve ark., 2001).

UQT hastalığına ait mutasyonların tespit edilmesi, gene özgü tetikleyici olayların tespit edilmesi ve terapötik faydası açısından önemlidir. Genotipe özgü ilaç tedavisi hızla gelişen ve önü açık bir araştırma sahasıdır. UQT tedavisinde temel tedavi seçeneği olan B-blokerlerin, UQT1 ve UQT2'de koruyucu etkisi gösterilmesine rağmen, UQT3 hastalarında fayda görülmediği ve TDP (Torsade de pointes) için zemin hazırladığı kanıtlanmıştır. UQT2 tipi için K+ kanal aktivatör kullanımı, UQT3'de Na+ kanal blokeri mexiletin, lidokain ve flekainid kullanımı gibi genotip spesifik tedaviler ile QTc süresinin kısaltıldığı gösterilmiştir (Moss ve

ark., 2000). Genetik altyapı dikkate alınmadan gerçekleştirilen ilaç kullanımı, hem tedavide zaman kaybettirici olmakta, hem ülkemize maddi kayıp olarak yansımakta, hem de hasta fayda yerine zarar görmektedir.

UQT tanısı almış hastalarda genetik testin yapılması ve mutasyonların tespit edilmesi, UQT geliştirme riskinin yüksek olduğu bireylerde erken dönemde tedavilerini mümkün kılmaktadır (Priori ve ark., 2003; Imboden ve ark., 2006).

İdiopatik UQT klinik tanısı alan hastaların %75'inde genetik etken tayin edilebilmiştir (Chern-En Chiang, 2004). Bu durum, hastalıkla ilişkili olabilecek ilave genlerin varlığını işaret etmektedir.

Tezin amacı, ani kardiyak ölümü ve QT aralığının uzaması ile karakterize ve genetik olarak heterojen bir hastalık olan uzun QT sendromlu hastalarda, şimdiye kadar tanımlanmış olan hedef 15 genin yanı sıra kardiyolojik ritim bozuklukları ile ilişkilendirilmiş toplam 68 hedef gene ait oluşturulan Ampliseq panel ile Ion PGM cihazında; hedef genlere özgü kodlayan ekzon bölgeleri ve UTR bölgelerdeki nokta mutasyonları ve küçük delesyon/insersiyonları tayin etmek, mutasyonların Türkiye'deki sıklıklarını tanımlayarak kurucu ve sık mutasyonları tespit etmek, hastalıkla ilişkili genotip-fenotip korelasyonlarının kurularak tedaviye dayalı diagnostik stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlamak, mutasyonu saptanmış ailelerde genetik risklerin belirlenerek semptomlar başlamadan önce önlem alınmasını sağlayarak bu hastalığın oluşturduğu medikal ve toplumsal sorunların çözümünde önemli avantaj sağlamaktır.

4. GENEL BİLGİLER

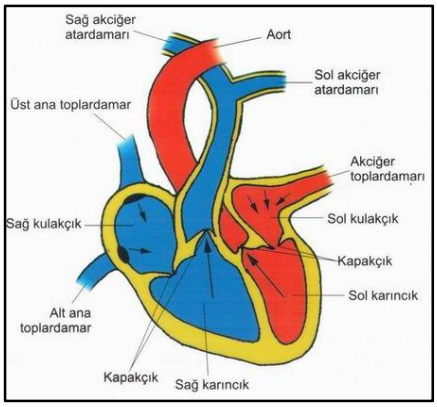
4.1. Kalp

Kalp dolaşım sisteminin bir parçası olarak vücudun tamamına oksijen ve kan desteği sağlayan primer organdır. Kalp, kardiyak iyon kanallarını içeren ve kalbin kasılmasını sağlayan miyokard olarak bilinen istemsiz çizgili kaslardan oluşur (Glaaser ve ark., 2003).

4.1.1 Kalbin yapı ve fonksiyonu

Kalp, akciğerlere ve tüm vücuda kan dolaşımını sağlayan özelleşmiş bir kastır. Dolaşımda kalp atım hızı dakikada 60-80 defadır ve dakikada 5-35 litre kanı pompalamaktadır (https: //tr.wikipedia.org/wiki/Kalp, Erişim tarihi: 23.03.2016).

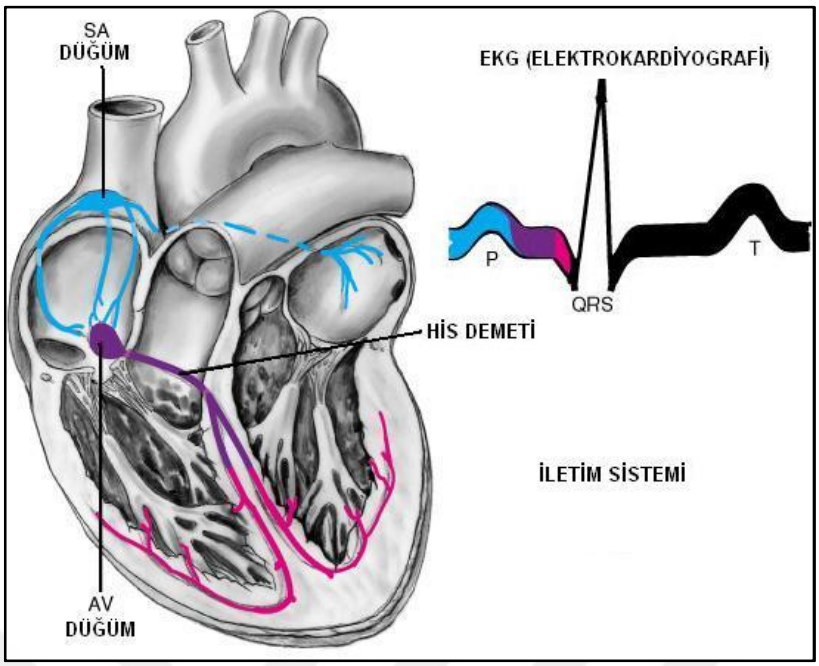
Kalp dört odacıktan oluşur: İki kulakçık (atriyum) ve iki karıncık (ventrikül) (Şekil 1). Oksijenden yoksun kan, üst ve alt vena kava ile periferik organlardan sağ atriyuma ulaşır; oradan sağ ventrikül içine pompalanır ve Pulmoner atardamarı ile akciğerlere oksijenlenmek üzere taşınır. Oksijenlenen kan, Pulmoner toplardamar aracılığıyla akciğerlerden çıkarak sol atriyuma gider, oradan sol ventriküle pompalanır ve aort aracılığı ile kalpten periferik organlara yayılır (https: //tr.wikipedia.org/wiki/Kalp, Erişim tarihi: 23.03.2016).



Şekil 1: Kalbin yapısı (http: //fenveteknoloji.net/img/fen_max/012.jpg, Erişim tarihi: 23 Ocak 2016).

Kalbin elektriksel aktivitesinin vücudun dış yüzeyine elektrotlar bağlanarak kaydedilebilmesi elektrokardiyogram (EKG) olarak adlandırılır. 1800'lü yılların sonlarına doğru, kurbağa kalbi tarafından üretilen elektriksel aktivite, elektrotların doğrudan organa yerleştirilmesiyle kaydedildi. 1893 yılında, Willem Einthoven bir tıp toplantısında elektrokardiyogramı tanıttı ve 1901 yılında vücut yüzeyinden kaydedilmesine olanak veren bir dizi galvanometreyi kullanarak elektrotların daha hassas olmalarını sağladı. EKG günümüzde kalbin elektriksel aktivitesine erişmenin hızlı ve non-invazif yolu olarak tıpta yaygın şekilde kullanılır. Einthoven, bu keşfi ile 1924 yılında Nobel Tıp ödülüne layık görülmüştür (Einthoven, 1925).

Bir EKG'deki kalbin elektriksel aktivitesi, yukarı ve aşağı doğru yönlendirilmiş dalgalar (P, Q, R, S ve T) ile temsil edilir. Kalbin kasılması için gerekli olan elektrik sinyalinin başlangıç noktası kalbin doğal pili olan Sinoatriyal (SA) düğüm'dür (Şekil 2). Kalp pili hücreleri kendiliğinden kasılırlar, yani dışarıdan bir uyaran yardımı olmadan bir elektrik sinyali üretirler. Elektrik sinyali SA düğümden kulakçıklara doğru yayılır, kulakçıklar kasılır ve EKG'de P dalgası oluşturur. Sinyal, daha sonra, atriyoventriküler düğüme (AV düğüm) gelerek kısa bir süre bekletilir. Bu sayede kulakçıklarla karıncıklar aynı anda kasılmaz. Kulakçıkların kasılması bittikten sonra His-Purkinje sistemi adı verilen bir elektriksel ağ ile uyarı tüm karıncıklara yayılır, bu defa karıncıklar kasılır (EKG'de QRS kompleksi). Bu kasılma sırasında kan kalbin sağ tarafında akciğerlere ve sol tarafında ise aort yoluyla tüm vücuda pompalanır. Son olarak, karıncıklar gevşer ve EKG'de T dalgası oluşur (Şekil 2) (http://www.nottingham.ac.uk/nursing/practice/resources/cardiology/function/conduction.php, Erişim tarihi: 23 Ocak 2016).

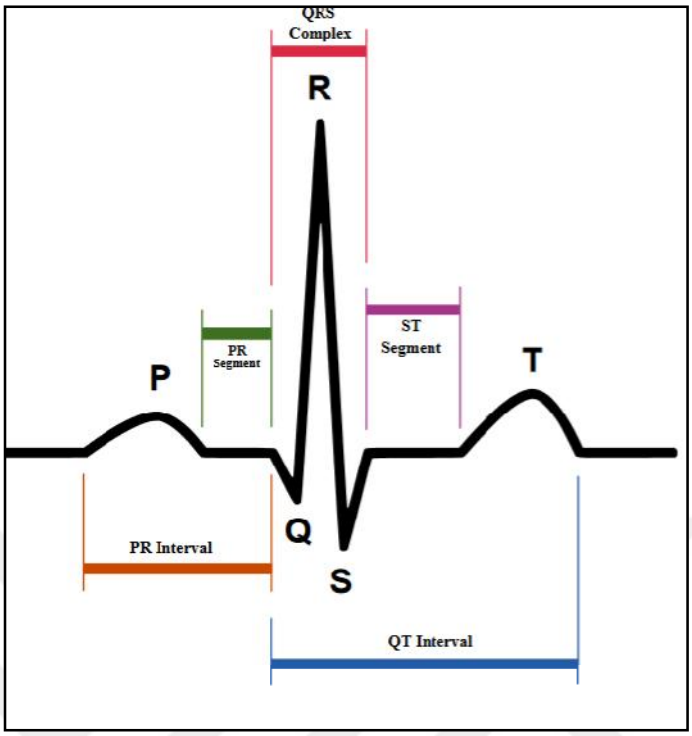


Şekil 2: Kalbin iletim sistemi Elektriksel sinyal SA (Sinoatriyal) düğümde başlatılır; sinyal önce kulakçıkları depolarize eder, daha sonra AV (Atriyoventriküler) düğümüne ulaşır. Buradan his demetlerine ve daha sonra sol ve sağ demet dalları boyunca yayılır ve sonunda karıncıklar depolarize olur (http: //www.nottingham.ac.uk/nursing/practice/resources/cardiology/function/conduction. php, Erişim tarihi: 23 Ocak 2016).

Kalp için kasılma döngüsünün tamamlanması (İki ardışık T dalgası arasındaki zaman) yaklaşık 800 ms'dir. Bu da dakikada 75 T-T aralığına karşılık gelir. P ve T arasındaki süre, iki ardışık T-T arasındaki sürenin yarısı kadardır (Nerbonne ve Kass, 2005).

Döngü sırasında kalp, bu zamanın yaklaşık yarısı kadar bir sürede dinlenir. Sinüs düğümü tekrar başka bir uyarı çıkararak yeni bir döngüyü başlatır. Normal fizyolojik koşullar altında sinüs düğümünden dakikada 60-100 civarında uyarı (kalp atımı) çıkar. Bu da kalp hızını oluşturur ve normal sinüs ritmi olarak bilinir (Pinnell ve ark., 2007).

Bir EKG'de olması gerekenler; QRS kompleksi, her QRS kompleksinden önce bir P dalgası, PR aralığı ve sonraki T dalgası şekilde gösterilmektedir (Şekil 3). Bu parametreler, kalbin normal hızda çalıştığının ve SA düğüm tarafından elektrik sinyalinin doğru şekilde iletiminin kontrolünde kullanılır (Glaaser ve ark., 2003; Becker, 2006).



Şekil 3: Bir insan kalbinin EKG'de görülen normal sinüs ritmine ait şematik diyagram. P dalgası, atriyal depolarizasyonun bir sonucudur. QRS kompleksi, kardiyomiyositlerde iç ve dış depolarizasyon dalgalarının ortalamasıdır. T dalgası, ventriküllerin repolarizasyonunu simgeler (https: //en.wikipedia.org/wiki/QRS_complex, Erişim tarihi: 23 Ocak 2016).

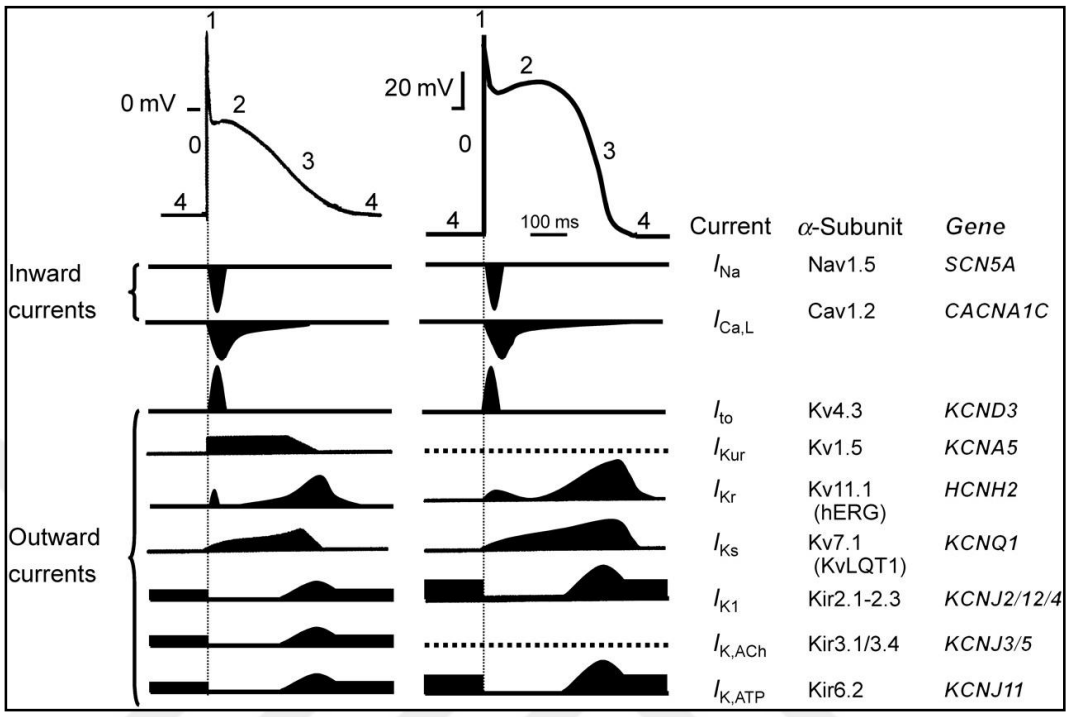
4.1.2. Akımlar ve iyon kanalları

EKG'deki dalgalar, kardiyak hücreler (kardiyomiyositler) tarafından üretilen elektrik akımlarını temsil etmektedir. Kardiyomiyositler elektriksel ve kimyasal olarak birbirleriyle plazma membranındaki ara bağlantılar ile bir arada tutulurlar. Ara bağlantılar, iki komşu hücrenin sitoplazmasını bağlayan kanal proteinleridir. Bunlar, kalbin senkronize bir şekilde kasılması sırasında küçük moleküllerin (iyonların) hücreler arası seyahat etmesine izin verirler. Kardiyomiyositlerde üretilen elektriksel akımların tamamı aksiyon potansiyeli (AP) olarak adlandırılır. AP'nin şekli, kalbin bölgelerine göre farklılık gösterir; bu şekil, iyon kanallarının (K^+, Na^+, Ca^{2+}) rölatif ifadesine (yani miktarı kadar varlığı ya da yokluğuna) ve hücre içindeki taşıyıcılara bağlıdır. Kardiyak fonksiyonunu tanımlamada ventriküler ve atriyal olmak üzere 2 çeşit AP sıklıkla kullanılmaktadır (Ravens ve Cerbai 2008).

Kardiyomiyosit tarafından üretilen ventriküler AP beş faza ayrılır (Şekil 4). Her bir faz iyon kanallarının göreceli aktivasyonunun sonucu ortaya çıkar (Nattel ve ark., 2007; Saenen ve Vrints, 2008). İlk aşama (faz 0) hücrenin hızlı depolarizasyonuna karşılık gelir; yani hücrenin istirahat halinde -80 mV (K^+'nın denge potansiyeline yakın) olan membran potansiyeli, pozitif olur. Bu durum içeriye doğru akım üreten (hücreye Na^+ iyonlarının girmesi) voltaj-kapılı Na^+ kanallarının aktivasyonuyla gerçekleşir. Daha sonra, kardiyomiyositin membran potansiyeli kısmen repolarize olur (membran potansiyeli biraz daha negatif olur) ve "çentik" (faz 1) oluşturur. Bu "çentik" voltaj kapılı Na^+ kanalının inaktivasyonu ve dışa doğru voltaj kapılı K^+ kanalının aktivasyonuyla oluşur. Böylece hücre dışına potasyum iyonu çıkışıyla pozitif yük kaybeden hücrenin potansiyeli yaklaşık olarak sıfıra düşer. Hücre, daha sonra içeri ve dışarı akımlar arasındaki denge durumuna karşılık gelen bir plato fazına (faz 2) girer. Faz 2, hem hücrenin depolarizasyonu ile aktive edilmiş L-tipi voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının aktivasyonu, hem de dışa doğru akım olan dışa doğru voltaj kapılı K^+ kanalının aktivasyonu sonucu oluşur. Potasyum çıkışı sürerken hücre içine kalsiyum girişi başlar. Bu kanalların inaktivasyonu yavaş olduğu için zar potansiyeli 100 ms süre kadar 0 mV civarında kalır ve plato oluşturur. Kardiyomiyositler bir sonraki adımda tam bir repolarizasyon fazına (faz 3) girerler. Faz 3, L-tipi voltaj bağımlı Ca^{2+} kanallarının inaktivasyonu ve gecikmiş, dışa doğrultucu voltaj kapılı K^+ kanallarının (I_{Kr} ve I_{Ks}) açılması ile gerçekleşir. Potasyum iyonu çıkışıyla hücre içi potansiyeli daha negatif bir değere inmeye başlar. Son olarak, faz 4, kardiyomiyositin dinlenme membran potansiyelini ayarlayan I_{K1} ve $I_{K,ATP}$ akımları tarafından oluşur. Bu dönemde aktive olan içeri doğrultucu potasyum kanalları ile hücre zarı dinlenim durumuna getirilir. Kalbin normal elektriksel aktivitesi için Na^+, K^+ ve Ca^{+2} konsantrasyonlarının optimal düzeyde olması gerekir (Ravens ve Cerbai, 2008).

Atriyal AP, ventriküldeki aynı akımları ve iyon kanallarını içeren beş benzer faza ayrılır. Ancak atriyal AP'deki plato fazında oluşan potansiyel pozitifliği daha düşüktür ve genel AP süresi daha kısadır. Bu kısalma, atrial hücrelerde Kv1.5 kanallarının bulunmasına bağlıdır. Kv1.5 kanalları, daha az pozitif ve daha kısa AP'yi oluşturacak şekilde dışarıya sabit bir akım üretirler. Ayrıca ventriküler

miyositlerde bulunmayan $I_{K,Ach}$ akımı, atriyal AP'de genel bir kısalmaya neden olur (Ravens ve Cerbai 2008).



Şekil 4: Atriyal ve Ventriküler AP'lerin Oluşumundaki İyonik Akımlar. İyon kanallarında içeri depolarize eden ve dışarı repolarize eden akımlar, atriyal (sol şekil) ve ventriküler (sağ şekil) AP'de görev alan proteinleri kodlayan genler şekilde gösterilmektedir. İçeri akımlar: I_{Na} Sodyum akımı, $I_{Ca,L}$ L-tip kalsiyum akımı, I_{to} geçici dışarı akım, I_{Kur} Ultra hızlı aktive olan ertelenmiş doğrultucu akım, I_{Kr} ve I_{Ks} hızlı ve yavaş aktive olan ertelenmiş doğrultucu akım, I_{K1} içeri doğrultucu akım, $I_{K,ACh}$ Asetilkolinle aktive olan potasyum akımı. Not: I_{Kur} sadece atriyumda bulunur. AP, 5 faza ayrılır: Faz 0, hızlı depolarizasyon (Na^+ kanallarının açılması); Faz 1, erken repolarizasyon (Na^+kanallarının inaktivasyonu, K^+ kanallarının aktivasyonu); Faz 2, plato fazı (Ca^{+2} ve K^+ kanallarının aktivasyonu); Faz 3, repolarizasyon (Ca^{+2} kanallarının inaktivasyonu ve K^+ kanallarının aktivasyonu); ve Faz 4, membran dinlenme potansiyeli (Ravens ve Cerbai 2008).

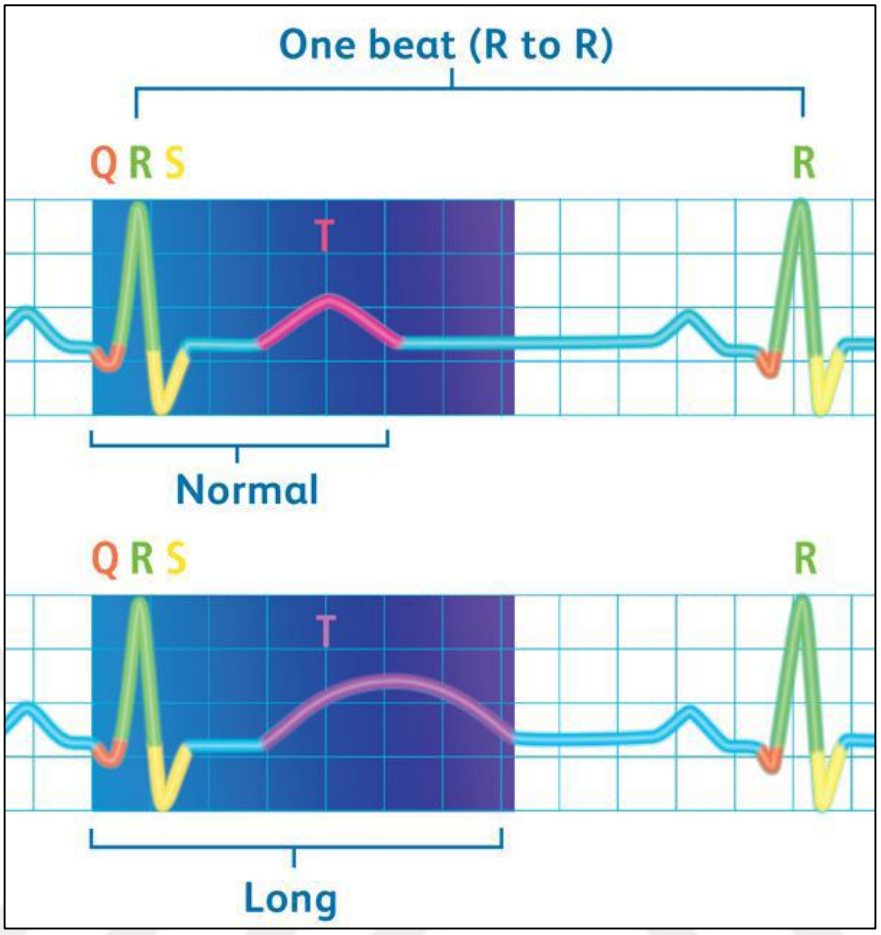
Farklı fazlar arasındaki denge kalbin doğru şekilde çalışması için oldukça kritiktir. Aksiyon potansiyelinin süresi ve şiddetindeki değişiklikler, hücre-hücre etkileşiminde meydana gelen değişikliklere, kalıtsal iyon kanalı kusurları ve tedavi girişimlerini içeren bir dizi faktöre bağlı olarak gelişebilir. Bu değişiklikler EKG'de sinüs ritminin bozulmasıyla tespit edilebilir (Shimizu ve Antzelevitch 1997; Gima ve Rudy, 2002; Clancy, 2005). Denge durumunda meydana gelebilecek bir dengesizlik, hayati tehlike doğuran kardiyak aritmilere neden olabilir. Uzun QT Sendromu (UQTS) bu aritmilerin arasında yer alır. Bu bozukluk ventriküllerin repolarizasyon

fazında (EKG'de QT aralığında) bir uzama ile karakterize edilir (Şekil 5). Bu durum, kalbin elektriksel stabilitesini değiştirir ve ventriküler aritmi riskinde bir artışa yol açar. Kardiyak aritmiler, ventriküler fibrilasyon, tekrarlayan senkop ve ani ölüm ile sonuçlanabilir (Schwartz ve ark., 2008).

4.2. Uzun QT Sendromu (UQTS)

4.2.1. Genel bilgi

Konjenital uzun QT sendromu (UQTS) elektrokardiyografik olarak uzamış QT mesafesi (Şekil 5) ve polimorfik ventriküler aritmi (Torsade de pointes- TDP) ile karakterize olan ve kardiyak aritmilerin tekrarlayan senkop, nöbet ya da ani kardiyak ölümlerine yol açabildiği bilinen, klinik ve genetik olarak heterojen bir hastalıktır (Wildeve ark., 1999). Hastalık sıklığının genel popülasyonda 1/2000 ile 1/5000 arasında olduğu düşünülmektedir (Goldenberg ve ark., 2008; Schwartz ve ark., 2009). Şimdiye kadar hastalıkla ilişkili 15 farklı alt tip tanımlanmıştır (UQT1-15) (http: //www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1129/, Erişim tarihi: 23.01.2016). Hastalığın otozomal dominant formu olan Romano-Ward sendromunda semptomlar sadece kardiyak sistemi ile sınırlıyken, resesif formu olan Jervell ve Lange-Nielsen sendromunda kardiyak sistem semptomlarına nöral sağırlık eşlik etmektedir (Jervell ve Lange-Nielsen, 1957; Romano, 1963; Ward, 1964). Düzeltilmiş QT mesafesi (QTc) yaşa bağlı olarak artış gösterir ve erişkin erkeklerde kadınlara göre daha kısadır (Reardon, 1996). Uzun QT sendromları konjenital ve akkiz olmak üzere iki alt gruba ayrılabilir. Akkiz UQTS konjenital tipe oranla çok daha sık görülmekte olup elektrolit bozuklukları, bradikardi ve ilaçlar gibi faktörlere bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir (Glaaser ve.ark., 2003; Clancy, 2005).



Şekil 5: EKG'de uzamış QT aralığının görüntüsü. QRS, tüm kalp hücrelerinden gelen depolarizasyon dalgalarının ortalamasıdır. QRS kompleksinde ardışık R zirveleri arasındaki mesafe bir kalp atışını temsil eder. Uzun QT sendromu olan bireylerin QT aralığı (alt resim) Etkilenmemiş bireylerin QT aralığından (üst resim) daha uzundur (http: //www.genedx.com/wp-content/uploads/2010/12/UQT.jpg, Erişim Tarihi: 23.01.2016)

4.2.2. Tarihçe

Uzun QT sendromu ilk olarak 1856 yılında Leipzig'te sağır bir kızın öğretmeni bağırdıktan hemen sonra ölmesiyle Meissner tarafından belgelenmiştir. Ölen kızın ailesi, erkek çocuklarının da aynı şekilde sağır olduğunu ve büyük bir korku sonrasında öldüğünü belirtmişlerdir (Tranebjaerg ve ark., 1999). 1957'de EKG icat edildikten sonra ilk tanımlanan sendrom; Anton Jervell ve Fred Lange-Nielsen tarafından Norveç'te tanımlanan, Uzun QT'nin resesif formu olan Jervell ve Lange-Nielsen Sendromu'dur (Jervell ve Lange-Nielsen, 1957). 1963'te İtalyan pediatrist Cesarino Romano ve 1964'te İrlandalı pediatrist Owen Conor Ward, daha sonra

Romano-Ward sendromu olarak adlandırılan Uzun QT sendromunun daha yaygın varyantını ayrı ayrı tanımladılar (Romano, 1963; Ward, 1964). 1974'te uluslararası Uzun-QT sendrom kayıtlarının bir araya getirilmesiyle, birçok pedigrinin kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi ve çok sayıda genin tespit edilebilmesi sağlanmıştır (Moss, 2005; Schwartz, 2001).

4.2.3. Klinik bulgular

UQT'lerde klinik semptomlar TDP oluşumuyla ilişkili olarak nöbet, baş dönmesi gibi hafif bulgulardan senkop ve ani kardiyak ölümüne kadar değişen ağır bulgular gösterebilir. Genelde TDP kısa sürer ve kendiliğinden sonlanır fakat ventriküler fibrilasyona dönüşürse ani kardiyak ölümüyle sonuçlanabilir. Semptomlar genellikle çocukluk ve ergenlik döneminde görülse de, hayatın ilk günlerinden 5-6. dekatlara kadar değişen bir dönem aralığında da çıkabilmektedir. Taşıyıcıların yaklaşık %30'unda hiçbir klinik bulguya rastlanmamaktadır. Semptomatik hastalarda ilk kardiyak olay %50 vakada 12 yaşından önce, %90'ında ise 40 yaşına kadar görüldüğü bildirilmiştir (Chern-En Chiang, 2004). Konjenital uzun QT sendromunda tedavi görmeyen hastalarda mortalite ilk senkop atağını takip eden birinci yılda %20 olup, 10 yılda %50'lere yaklaşır (Schwartz ve ark., 1985). Düşük riskli aile üyelerinin ve semptomatik yeni hastaların katılımı sonucunda hesaplanan yeni veriler ışığında, yıllık mortalite oranının %1-2 civarında olduğu sanılmaktadır. QTc süresi ani kardiyak ölüm için bir risk faktörü olup, QTc süresi 440 ms'den daha uzun olanlarda 2-3 kat daha fazla görülmektedir. UQTS'de klinik bulgular son derece değişkendir. Hastalar; asemptomatik olabilir, yinelenen nöbetler ve senkop görülebilir ya da en kötüsü hastalarda ani kardiyak ölüm (AKÖ) gerçekleşebilir. Ani kardiyak ölümü öngören faktörler ise kardiyak arrest öyküsü, tekrarlayıcı senkop atakları, rölatif bradikardi, kadın cinsiyet, konjenital sağırlık, 600 ms'den daha uzun QTc, ailede erken yaşta ani kardiyak ölüm öyküsü ve tedaviye refrakter durumlar olarak sıralanabilir (Moss ve ark., 1991). Amerika Birleşik Devletlerinde her yıl yaklaşık 3000-4000 civarında bebek UQTS nedeni ile kaybedilmektedir (Vincent, 1998).

UQTS'lerin klinik çeşitliliği nedenleri arasında, hastalık etkeni mutasyonların eksik penetransları, genler arasındaki etkileşimler, yaş, cinsiyet, yiyecek ve zehir gibi çevresel faktörlerin yanı sıra tedavi edici müdahaleler gösterilebilir (Abbott, 1999; Lehnart ve ark., 2007).

Bazı UQTS alt tiplerinin, daha şiddetli bir fenotipe sahip olduğu bilinmektedir ve bu ölümcül vakaların %10-15'inde AKÖ hastaların ilk ve son belirtisidir (Vincent, 1998; Goldenberg ve ark., 2006).

4.2.4. UQT tanısı

UQT tanısı genellikle EKG'de uzamış QT aralığının tanımlanması ve aile öyküsü ile konulmaktadır. Normal QT aralığı erkeklerde 370-430 ms arasında, kadınlarda ise 370-450 ms arasındadır. Sağlıklı toplumun %2,5'inde uzamış QT aralığı, UQT hastalarının %10-15'inde ise normal QT aralığı görülmesinden ötürü UQT tanısının konulması oldukça güçtür (Moric - Janiszewska ve ark., 2007).

QT aralığı ölçümü için en az üç kalp döngüsü boyunca QRS kompleksinden T dalgasının sonuna kadar mesafe aralıkları kaydedilip ortalama değerleri alınmalıdır (Goldenberg ve ark., 2008). Bazett formülü ($QTc = QT/\sqrt{RR}$ [RR, saniye cinsinden Bir QRS kompleksi ile başlayıp diğer QRS kompleksine kadar olan mesafedir]) olarak bilinen bir formül; erkek ve kadınlarda değişkenlik gösteren kalp hızında, QT mesafesini (QTc) düzeltmek için kullanılır (Tablo 1).

UQTS için hastayı değerlendirirken en uzun QT aralığını kullanmak standart bir uygulamadır. Özellikle QT mesafesi uzun olarak belirlenen hastalarda, pozitif klinik ve aile öyküsü eşliğinde tanı konulur (Goldenberg ve ark., 2006).

Tablo 1: Önerilen Bazzet düzeltmesine göre hesaplanmış uzamış QTc değerleri. Yaşa bağlı olarak normal, sınırda ve uzamış kabul edilen QTc değerleri (Goldenberg ve ark., 2006).

Uzun QT hızı	1-15 yaş	Erişkin Erkek	Erişkin Kadın
Normal	< 440 ms	< 430 ms	< 450 ms
Sınırda	440-460 ms	430-450 ms	450-470 ms
Uzamış	> 460 ms	> 450 ms	> 470 ms

UQT tanısında yaygın olarak kullanılan metod 'tanısal skorlama yöntemi'dir. Skorlama, değişik kriterlere verilen farklı puanların değerlendirilmesiyle yapılır. Tanıda yardımcı olabilecek, Schwartz ve arkadaşları tarafından geliştirilen skorlama sistemi Tablo 2'de gösterilmiştir. 4 ve üzerindeki puan, UQT için yüksek risk oluştururken, 1 ya da daha altı puan, UQT ihtimalini azaltmaktadır. 2 ya da 3 puan orta dereceli ihtimali göstermektedir (Schwartz ve ark., 1993). Orta olasılıktaki vakalarda QTc değerleri değişik zamanlarda farklılıklar gösterebildiği için, farklı zamanlarda çekilecek EKG'ler faydalı olacaktır. Egzersiz testi, Holter monitorizasyonu ve elektrofizyolojik çalışmalar, teşhis ve risk sınıflamasında pek değerli gözükmese de holterde saptanan çentikli T dalgaları, UQTS-2'nin bulunduğu hastaların saptanmasında yararlı olabilir (Lupoglazoff ve ark., 2001). Arada kalınan vakalarda egzersiz testi, uzun QT sendromlu hastalarda dinlenme fazında meydana gelen anormal QT süresi uzamasını göstermek amacıyla kullanılabilir (Swan ve ark., 1998).

Tablo 2: Konjenital UQTS'de tanısal kriterleri. (Schwartz ve ark., 1993; Schwartz, 2012)

			Puan
	Elektrokardiyografik Bulgular#		
A	QTc*	≥ 480 ms	3
		460-479 ms	2
		450-459 ms (erkek)	1
B	QTc* (Ekzersiz stres testinde 4. dakikadaki)	≥ 480 ms	1
C	Torsade de Pointes (TdP) **		2
D	T dalga alternansı		1
E	Çentikli T dalgası (3 derivasyonda)		1
F	Yaşa bağlı düşük kalp hızı†		0.5
	Klinik Öykü		
A	Senkop **	Stres ile oluşan	2
		Stressiz oluşan	1
B	Doğumsal işitme kaybı		0.5
	Aile Öyküsü		
A	Kesin UQT tanısı konmuş aile bireyleri ±		1
B	30 yaşın altında açıklanamayan ani kalp ölümlü aile üyesi ±		0.5

#	EKG bulgularını etkilediği bilinen ilaçların kullanılmadığı durumda
*	Bazzet formülüne göre hesaplanmış QTc (QTc=QT/√RR)
**	Birbirini dışlayan
†	İstirahat kalp hızı 2 persentilin altında
±	A ve B'deki aynı aile üyesi sayılamaz

Skor	
≤ 1 puan	Düşük Olasılıkla UQT
1.5-3 puan	Sınırda UQT
≥ 5 puan	Yüksek olasılıkla UQT

2008 yılında Goldenberg ve arkadaşları, UQT bireyleri için AKÖ gibi risk faktörlerini belirlediler. Ancak, bu risk faktörleri sadece temel referans olarak kullanılırlar. UQTS'de ölümcül risk faktörleri arasında, hastaların senkop öyküsü, aile öyküsü, geçirilen kardiyak arrest ve QTc >500ms gibi kardiyak olaylar yer alır (Tablo 3) (Goldenberg ve ark., 2008).

Tablo 3: Yaşa göre geçirilen kardiyak arrest ya da ani kardiyak ölüm için yüksek-risk faktörleri (Goldenberg ve ark., 2008).

Yaş	Yüksek Risk Faktörleri
Çocukluk (1-12 yaş)	Bayılma öykülü ve/ya da QTc>500 ms olan erkek çocuk Bayılma öyküsü bulunan kız çocuk
Adolesan (13-20 yaş)	Erkekte ya da kadında aşağıdakilerden 1,2 ya da daha fazlasının bulunması: QTc ≥530 ms Geçen yıl ≥1 senkop öyküsü Geçen 2-10 yılda ≥2 senkop öyküsü
Erişkin (21-40 yaş)	Aşağıdakilerden 1 ya da daha fazlasının bulunması: Dişi cinsiyet 18 yaşından sonra geçici senkop QTc>500 ms
41-60 yaş	Aşağıdakilerden 1 ya da daha fazlasının bulunması: Dişi cinsiyet Geçen 10 yıl içinde senkop QTc ≥500 ms UQTS3 genotipi
61-75 yaş	Geçen 10 yılda senkop

4.2.5. UQTS genetiği ve patofizyolojisi

Kalıtsal UQT'ler genellikle otozomal dominant geçişlidir (Romano-Ward Sendromu- RWS). Hastalığın otozomal resesif formu olan Jervell and Lange-Nielsen Sendromu ise daha nadir görülür ve daha şiddetli fenotip ile ilişkilidir. Kalıtsal UQT formlarının, esasen iyon kanal proteinleri ile aksesuar alt birimleri ve kalp içinde

aksiyon potansiyelinin düzenlenmesinde görev alan proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlara bağlı olarak geliştiği bilinmektedir (Glaaser ve ark., 2003).

Yang ve arkadaşları, kalıtsal ya da de novo oluşan sık polimorfizmlerin, uzun QT aralığı ve aritmik olaylara yatkınlığı arttırabileceğini öne sürdüler (Yang ve ark., 2002).

Önceki çalışmalar aritmi sendromlarının kalıtsal formlarının birçoğunun, başka bir yapısal kalp hastalığının varlığı olmadan görüldüğünü desteklemektedir (Goldenberg ve ark., 2006 ; Lehnart ve ark., 2007; Schulze Bahr, 2012). UQTS'ler, tüm etnik gruplar arasında görülmesi ve nispeten yüksek sıklığa sahip olmaları nedeniyle model hastalık olarak kullanılabilirler (Lehnart ve ark., 2007; Schulze Bahr, 2012).

Bugüne kadar en az 15 gen ve binlerce mutasyonun, UQTS kalıtsal formlarına neden olduğu gösterilmiştir. Bu mutasyonlar, genlerin kodlayan bölgeleri içinde dağınık olarak bulunurlar ve hastalığın farklı formlarıyla ilişkilendirilmişlerdir (http: //databases.lovd.nl/shared/genes/, Erişim tarihi: 30.01.2016; http: //www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1129/, Erişim tarihi: 30.01.2016) (Tablo 4). Uzun QT sendromu tanısı alan hastaların en az %75'inde genetik etken tayin edilebilmiştir (Chern-En Chiang, 2004; Goldenberg ve ark., 2008).

UQTS bazı formları diğerlerinden daha yaygınken ve sadece aritmi öyküsü içeriyorken, UQT8 gibi nadir formları aritmi ile beraber ilave yapısal kardiyak anomalileri de içerebilir (Schulze Bahr, 2012).

Tablo 4: UQTS ile ilişkilendirilen genler ve alt tipleri

OMIM	Lokus	Gen	Kromozomal Lokus	Protein	Etkilenen İyon Kanalı	Fonksiyonu	UQTS oluşum %
192500	UQT1	*KCNQ1* (KvLQT1)	11p15.5	Kv7.1	I_{Ks} α-alt ünitesi	↓ I_{Ks}	%30-35
152424	UQT2	*KCNH2*	7q35-q36	Kv11.1	I_{Kr} α-alt ünitesi	↓ I_{Kr}	%25-30
603830	UQT3	*SCN5A*	3p21	Nav1.5	I_{Na} α-alt ünitesi	↑ I_{Na}	%5-10
600919	UQT4	ANK2	4q25-q26	Ankirin B	Na pompası ve Na/Ca değiştiricisi	↓Na/K ATPaz, Ncx koordinasyonu	< %1
176261	UQT5	*KCNE1* (minK)	21q22.1-q22.2	MinK	I_{Ks} β-alt ünitesi	↓ I_{Ks}	< %1
603796	UQT6	*KCNE2* (MİRP1)	21q22.1	MiRP1	I_{Kr} β-alt ünitesi	↓ I_{Kr}	< %1
170390	UQT7	*KCNJ2*	17q24.3	Kir2.1	$I_{Kir2.1}$	↓ $I_{Kir2.1}$	< %1
601005	UQT8	*CACNA1C*	12p13.33	Cav1.2	$I_{Ca,L}$	↑ $I_{Ca,L}$	< %1
611818	UQT9	*CAV3* (Kaveolin)	3p25.3	Caveolin 3	Nav1,5	↑ I_{Na}	< %1
611819	UQT10	*SCN4B*	11q23	Sodyum kanalı β4 alt ünitesi	*SCN5A* β-alt ünitesi	↑geçI_{Na}	< %0.1
611820	UQT11	*AKAP9*	7q21-q22	Yotiao	A Kinaz ankor proteini	↓ I_{Ks}	< %0,1
601017	UQT12	*SNTA1*	20q11.2	Sintrofin α 1	Sodyum akımı (*SCN5A*) regülatörü	↑ I_{Na}	< %0,1
600734	UQT13	*KCNJ5*	11q24	IKAc kanalı Kir 3.4 alt ünitesi	$I_{Kir3.4}$	↓ $I_{K\text{-}Ach}$	< %0,1
616247	UQT14	*CALM1*	14q32.11	Kalmodulin 1	Kalmodulin 1 (Fosforilaz Kinaz, Delta)	Fonksiyonel olmayan Ca^{+2} sinyali	< %1
616249	UQT15	*CALM2*	2p21	Kalmodulin 2	Kalmodulin 2 (Fosforilaz Kinaz, Delta)	Fonksiyonel olmayan Ca^{+2} sinyali	< %1

Son yıllarda ise Kalmodulin1 (*CALM1*) and Kalmodulin 2 (*CALM2*) mutasyonları, bebeklik döneminde gelişen şiddetli QT uzaması ve tekrarlayan kardiyak arrest ile ilişkilendirilmiştir (Crotti ve ark., 2013). 2014 yılında Makita ve arkadaşları ise *CALM2* mutasyonlarının UQT'nin daha hafif formuna neden olduğunu, klinik ve fizyolojik bulgularla göstermişlerdir (Makita ve ark., 2014).

Uzun QT sendromunun kalıtsal formunda, kalp kası hücresindeki iyon kanallarında K^+ Na^+ ve Ca^{2+} geçişini düzenleyen genlerde meydana gelen

mutasyonlar sonucu aksiyon potansiyeli genişlemekte ve kalp kası hücresinde repolarizasyon uzamaktadır. Bunun sonucunda EKG'de uzamış QT aralığı görülmektedir. Potasyum kanal mutasyonları sonucunda hücre dışına potasyum iyonu çıkışı azalmaktadır (fonksiyon kaybı). Na^+ ve Ca^{2+} kanal mutasyonlarında ise fonksiyon kazanımı söz konusudur; hücre içine aşırı miktarda Na^+ ya da Ca^+ girişi olur ve kanallar yeterli miktarda kapanamaz (Zareba ve ark, 1998; Schwartz ve ark., 2001; Goldenberg ve ark., 2008).

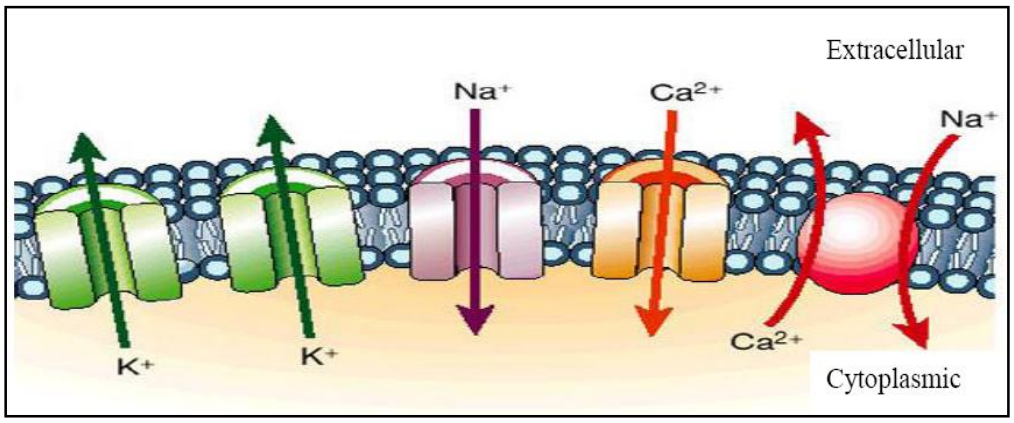
QT uzaması, UQT'lerin ayırt edici bir özelliğidir ve iki yolak ile oluşabilir: Aksiyon potansiyelinin 3. fazı sırasında dışarıya potasyum iyon çıkışında azalma ile (fonksiyon kaybı) ya da kardiyak miyositlerine sodyum veya kalsiyum iyonlarının geçişinin süresinin artmasıyla (fonksiyon kazanımı) (Goldenberg ve ark., 2008).

Kardiyak aksiyon potansiyeli uzunluğunda ve QT mesafesinin uzamasına büyük ölçüde katkıda bulunan belli başlı üç iyon akım kanalı vardır. Bunlar: I_{Ks} , I_{Kr} ve I_{Na} kanallarıdır. I_{Ks} kanalları, yavaş aktive olan gecikmiş doğrultucu potasyum akımlarından sorumludur (Splawski ve ark., 2000).

Diğer taraftan I_{Kr} kanalları, hızla aktive olan ve potasyum iyonlarının hücre dışına kıyasla hücre içine geçişini kolaylaştıran, gecikmiş doğrultucu potasyum akımlarından sorumludur (Splawski ve ark., 2000; Hibino ve ark., 2010).

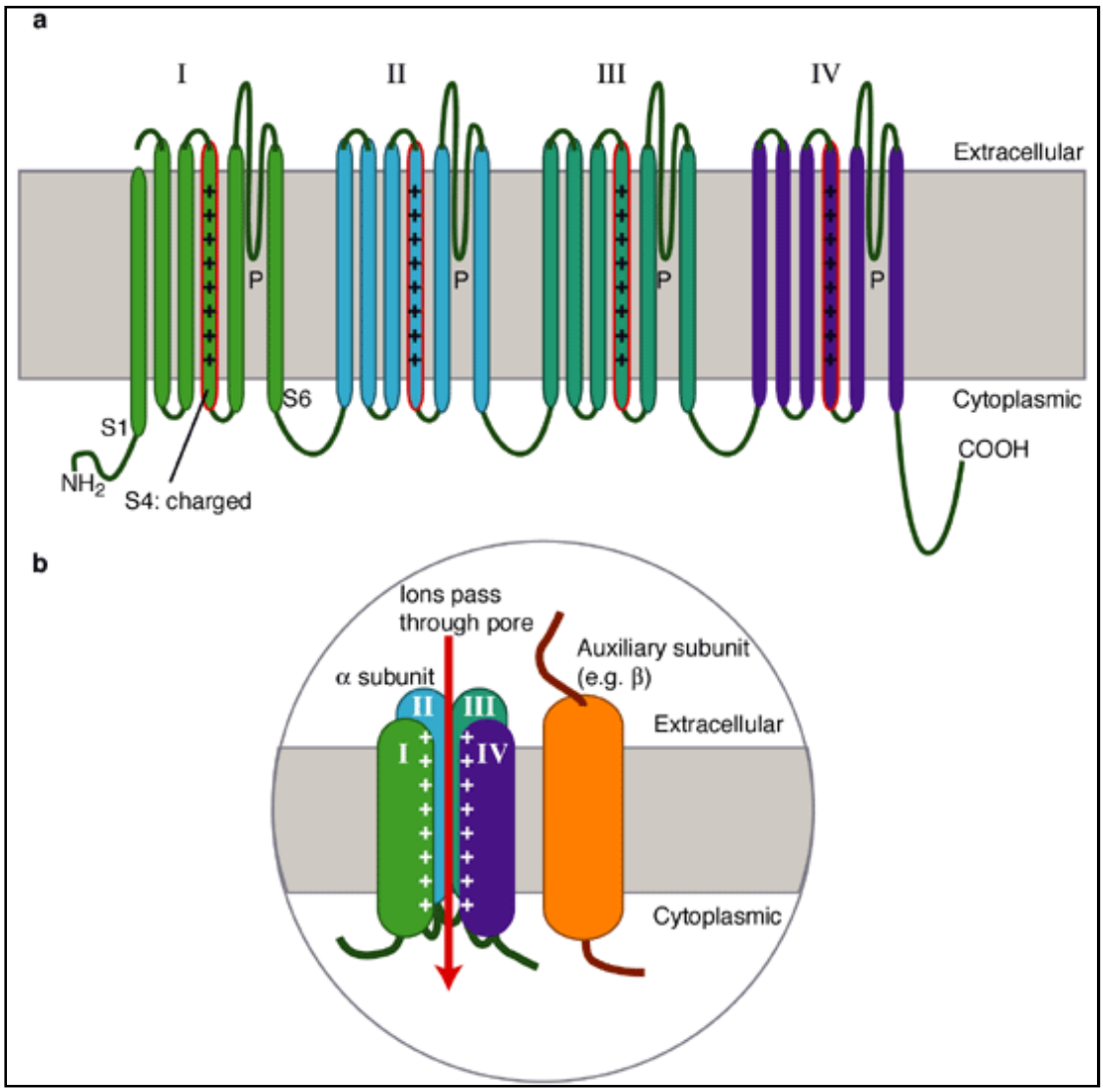
I_{Na} kanalları, kalbin sodyum akımından sorumludur (Splawski ve ark., 2000). Kalpte I_{Ks} ve I_{Kr} azaldığı veya I_{Na} arttığı zaman, kardiyak aksiyon potansiyeli uzayacak ve QT mesafesinin uzaması, aritmi için risk artışına neden olacaktır (Splawski ve ark., 2000).

UQTS gelişimi ile ilişkili olan iyon kanalları genel olarak, hücre zarından potasyum (K^+) sodyum (Na^+) kalsiyum (Ca^{2+}) gibi belirli iyonların taşınmasını sağlayan transmembran proteinleridir (Şekil 6). Bu kanallar voltaj bağımlıdır ve sadece hücre içi voltaj gereken seviyeye ulaştığı zaman aktive olurlar. Aktivasyon için gereken özgül voltaj değeri, kanallar arasında α ya da β alt ünitelerine göre farklılık gösterir (Şekil 6) (Medeiros-Domingo ve ark., 2007).



Şekil 6: Kardiyak hücrelerinde UQTS ile ilişkili iyon kanalları. Potasyum iyon (K^+) kanalları, hücre K^+akışını kolaylaştırır. Sodyum iyonu (Na^+) kanalları ve kalsiyum iyon (Ca^{+2}) kanalları, İlgili iyonların akışına aracılık ederler. Na^+/Ca^{+2} iyon değiştirici kanal, membran boyunca hücre dışı matrikse doğru taşınan her bir Ca^{+2} için sitoplazmaya üç Na^+ taşır (Marban, 2002).

Bu kanallar, kardiyomiyositlerin regülasyonu ve bir tam kalp kas kasılması için gerekli olan moleküler bileşenlerden oluşurlar. Bu bileşenler, membran porlarını oluşturan bir protein biriminden oluşabildiği gibi (α alt birimi) yardımcı alt birimler olan bir ya da daha fazla ikincil düzenleyici proteinlerden de oluşabilir (β alt birimleri). Tam bir iyon kanalında, bir α alt ünitesi ile diğer yardımcı alt üniteler (Örneğin; β, γ) kanal fonksiyonunu gerçekleştirmek üzere bir araya gelirler (Şekil 7).



Şekil 7: Tipik bir voltaj kapılı kardiyak iyon kanalının yapısı

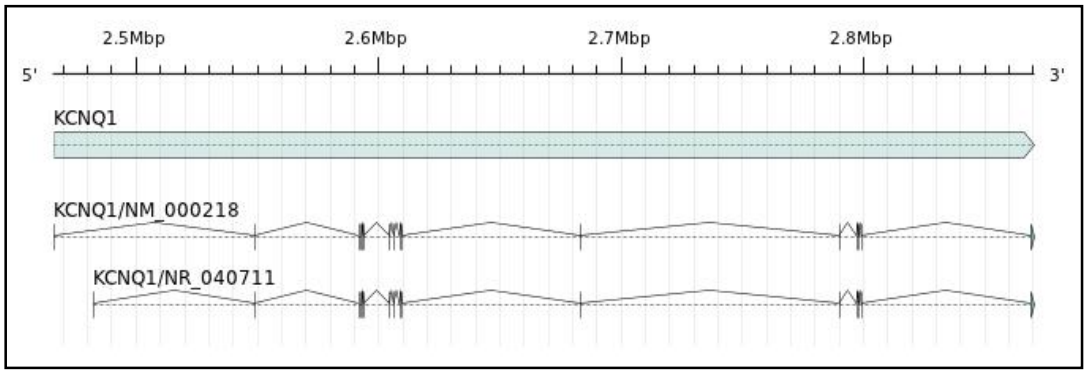
a) Dört alt üniteyi içeren α alt birimi (I-IV). Voltaj kapılı iyon kanallarında α alt birimi, dört alt ünite içerir (K^+ kanallarındaki homolog alt üniteler ya da Na^+ ve Ca^{+2} kanallarındaki homolog tekrar domainleri). Her bir domain ya da alt ünite altı transmembran domaini içerir (S1-S6); S4 domaini pozitif yüklü olup kanal için voltaj sensörü olarak görev yapar. Katyonlar, hücre içine aköz porlardan, dört alt ünite arasında hareket ederek geçerler. **b)** Tipik bir voltaj kapılı kardiyak iyon kanalında bir araya gelen α ve β alt üniteler. Şekil iyon transportu için, tipik bir voltaj kapılı iyon kanalında tam bir kanal oluşturmak üzere bir araya gelen alfa (α) ve yardımcı (β) alt birimlerini göstermektedir (http: //journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM1_19/S1462399499001349sup022.gif, Erişim Tarihi: 01.02.2016).

Kardiyak iyon kanalı mutasyonlarının konumunun, hastalığın şiddetini etkilediği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Moss ve arkadaşları, *KCNH2* geninin por bölgesindeki mutasyonların daha ağır klinik fenotip ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar

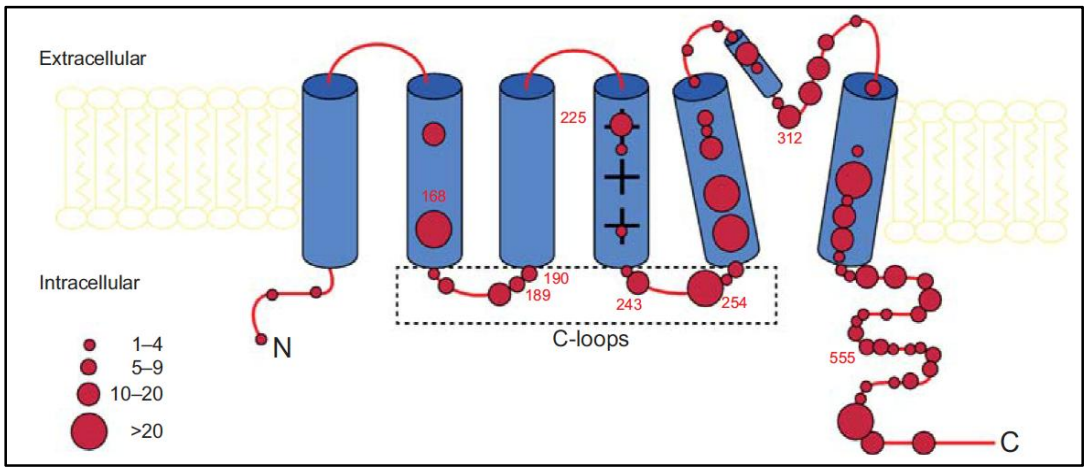
sunmuşlardır (Moss ve ark., 2002). Benzer şekilde Brink ve arkadaşları, proteinin por bölgesinde meydana gelen A341V mutasyonunun Güney Afrika popülasyonunda şiddetli klinik fenotip ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Brink ve ark., 2005). Shimizu ve arkadaşları ise *KCNQ1* geninde meydana gelen transmembran bölge mutasyonlarının, UQTS1 hastalarında kardiyak olaylar için yüksek risk teşkil ettiğini bildirmişlerdir (Shimizu ve ark., 2004).

4.2.5.1. Uzun QT sendromu tip 1 (UQTS1)

Hastalığın UQT1 formu, Uzun QT sendromunun en sık görülen formu olup tüm vakaların %30-35'inde UQT1 lokusunda mutasyon saptandığı bildirilmiştir (Levineve ark., 2008). UQT1 geni olan *KCNQ1*, kromozom 11p15.5 bölgesinde tanımlanmıştır (Splawski ve ark., 1998). *KCNQ1*, kalpte yüksek miktarda ifadesi gerçekleşen voltaj kapılı potasyum kanalı olan KvLQT1'i kodlar (Wang ve ark., 1996). *KCNQ1* geni, I_{Ks} iyon kanalını oluşturmak üzere diğer proteinlerle (özellikle *KCNE1* beta alt ünitesi ile) etkileşime geçen I_{Ks} alfa alt ünitesini kodlar (Sanguinetti ve ark., 1996). *KCNQ1* geni, 400 kb uzunluğundadır ve 6 transmembran segmentini oluşturan 16 ekzon içerir (Splawski ve ark., 1998) (Şekil 8 ve 9). *KCNQ1,* cDNA'sı 676 amino asitlik bir polipeptidi kodlar (Yang ve ark., 1997).



Şekil 8: *KCNQ1* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/KCNQ1/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).



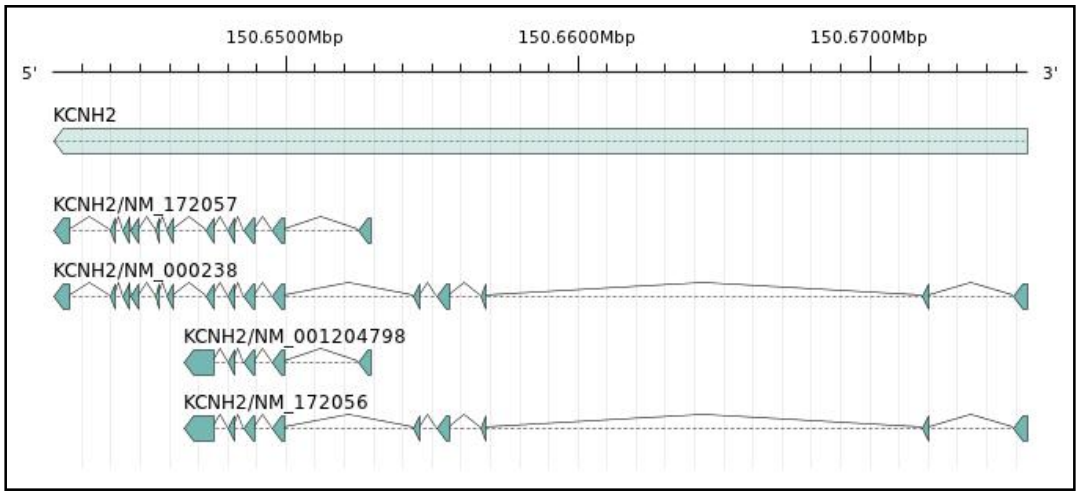
Şekil 9: KvLQT1 proteini topolojisi. KCNQ1 proteini hücre içi N-terminal bölge, membran boyunca uzanan 6 adet transmembran segmenti (S1-S6) ile 2 sitoplazmik bağlayıcı loop (S2-S3 ve S4-S5 segmentleri arasında) ve bir hücre içi C-terminal bölge içerir. Şekilde kırmızı yuvarlakların boyutu, yapılan bir çalışmada tespit edilen 99 farklı mutasyonun lokasyona göre sıklıklarını ifade etmektedir. Kırmızı renkli rakamlar ise lokasyonun amino asit pozisyonunu göstermektedir (Barsheshet ve ark., 2012).

Aynı ailede *KCNQ1* mutasyonları otozomal dominant ya da otozomal resesif bir şekilde kalıtılabilir. Hastalığın otozomal resesif formu olan Jervell ve Lange-Nielsen sendromunda, homozigot mutasyonlar sonucu, I_{Ks} iyon kanalının neredeyse tamamının yokluğu söz konusudur ve QT aralığındaki uzama daha şiddetlidir. Ventriküler aritmi riski daha yüksektir ve konjenital sağırlıkla beraber seyreder (Jervell ve Lange-Nielsen, 1957; Schwartz ve ark., 2006). Bundan başka, UQT1 hastalarında endokrin fenotipi bulunur. Bir glikoz yükü esnasında, UQT1 hastalarında aşırı insülin salgısı ardından geçici insülin direnci oluşur. Direnç azaldığında ise hastalar hipoglisemi riski altındadır (Torekov ve ark., 2014).

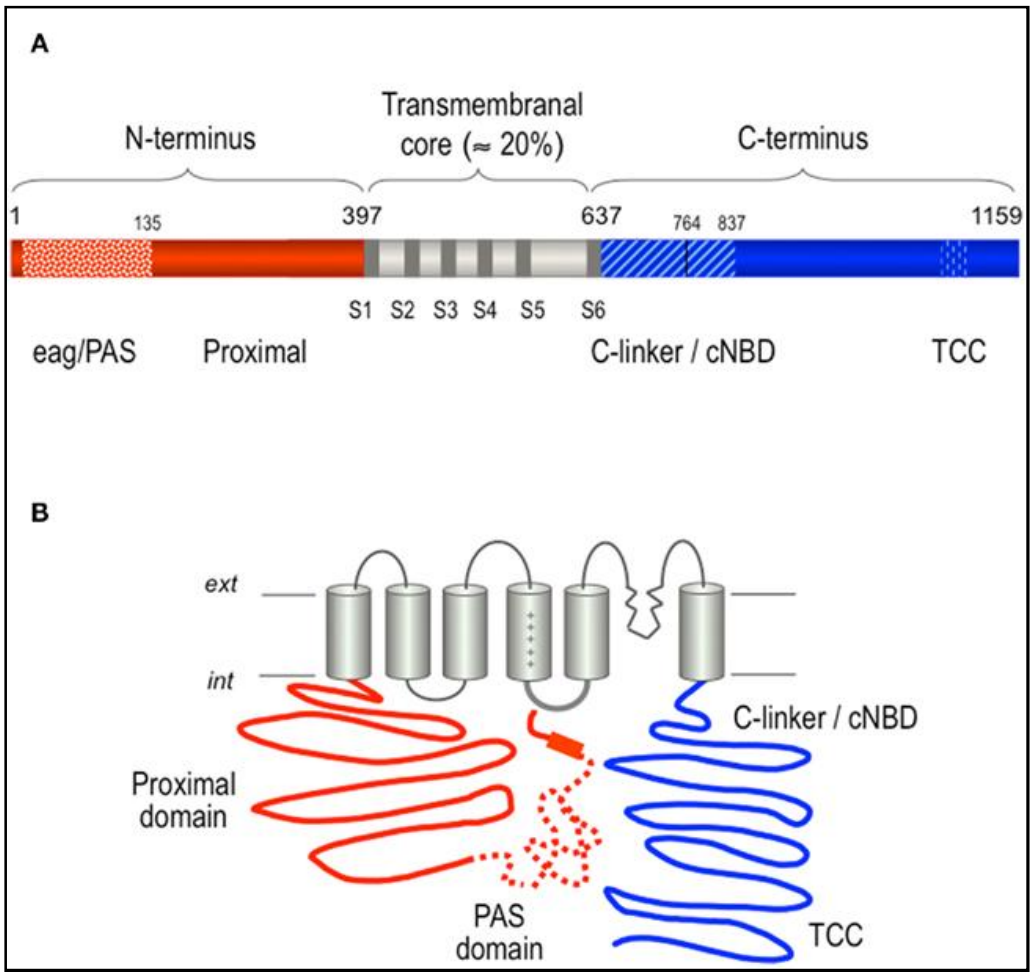
UQT1'li çoğu bireyde, epinefrin infüzyonu ile QT aralığında paradoksal uzama görülür. Bu uzama sayesinde, genin latent taşıyıcıları belirlenmiş olur. UQT1 geninde şimdiye kadar yüzlerce missense mutasyon tanımlanmıştır. Bunlar, genellikle yüksek frekansta senkop atakları ile ilişkiliyken, UQT2'ye kıyasla daha az ani ölümü vardır (Ackerman ve ark., 2002).

4.2.5.2. Uzun QT sendromu tip 2 (UQTS2)

Uzun QT 2 formu ile ilişkilendirilen gen, 7q35-q36'da lokalize olan *hERG* (human ether-a-go-go-related gene) olarak da bilinen *KCNH2* genidir (Jiang ve ark., 1994). Gen 16 ekzonludur, yaklaşık 55 kb uzunluğundadır ve 6 trasmembran segmentinden oluşur (Itoh ve ark., 1998; Splawski ve ark., 1998) (Şekil 10 ve 11).



Şekil 10: *KCNH2* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/KCNH2/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).



Şekil 11: hERG K^+ kanalının yapısal organizasyonu. A) HERG kanal proteinin doğrusal şematik diyagramı. eag/PAS bölgesi (1-135. rezidüler arası) ve birinci transmembran sarmalın kadarki proksimal domainler sırasıyla çizgili ve düz kırmızı çubuklarla gösterilmektedir. Altı transmembran heliksini içeren transmembranal çekirdek bölgesi ve karboksi terminal bölgesi sırasıyla gri renkli ve mavi gösterilmiştir. TCC, C-terminalinde çift kıvrımlı (coiled-coil) tetramerizasyonu için önerilen lokasyonu gösterir. Her domainin boyutu, proteinin toplam uzunluğu ile orantılı olacak şekilde yatay ölçeklendirilmiştir. **B)** Bir hERG kanalı α - alt-biriminin şematik gösterimi; şekilde, amino grup ucunun PAS bölgesi (noktalı çizgi) amino grup ucunun esnek kuyruğu (baştaki sabit kırmızı çizgi) ve bunları ayıran, kanal çekirdeğinin sitoplazmik yüzeyindeki S4-S5 bağlantısını gösteren amfipatik α–heliks (kırmızı dikdörtgen) bölgesi gösterilmektedir. N-terminal bölgesinin başlangıç bölgeleri ve doğrudan S6 sarmalının altında sitoplazmik kapıya bağlanmış C-bağlayıcı/cNBD domainleri arasındaki yakınlık, bu kanal yapıları arasındaki olası ilave etkileşimlerin varlığını göstermek için kullanılmaktadır (Barros ve ark., 2012).

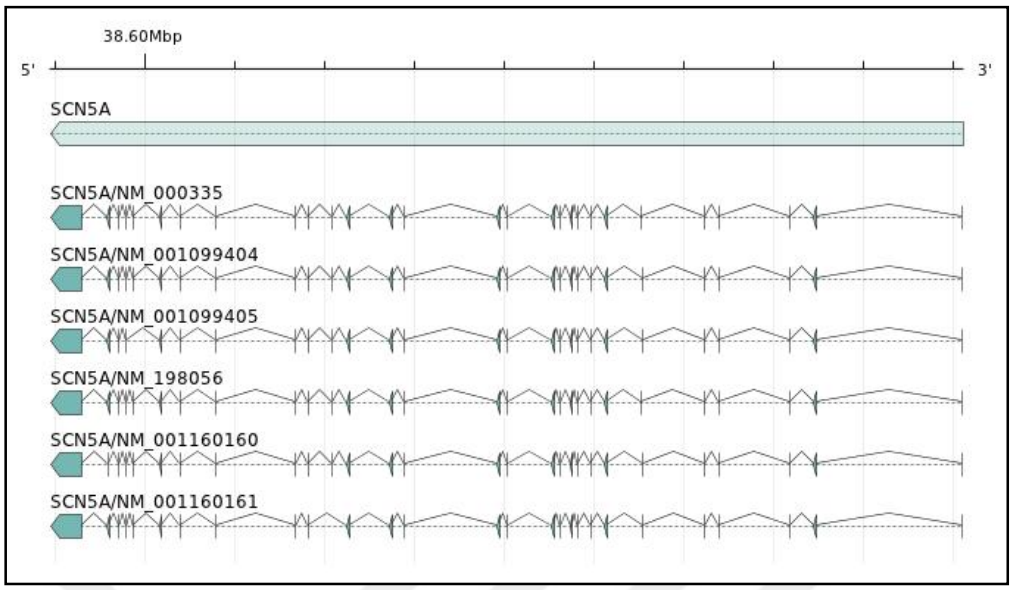
KCNH2, ventriküler aksiyon potansiyelinin final repolarizasyonunda önemli bir rol oynayan, hızla aktive olan gecikmiş doğrultucu potasyum kanalının por oluşturan alt ünitesini kodlar (Gianulis ve Trudeau, 2011). *KCNH2* geni, *KCNE2* ile bir araya

gelerek gecikmiş düzeltici potasyum akımını (I_{Kr}) hızla aktive eder; I_{Kr} akımı, kardiyak aksiyon potansiyelinin sonlanmasında repolarizasyondan dolayısıyla QT aralığının uzunluğundan sorumludur. *hERG* mutasyonları sonucu potasyum akımının kaybına neden olan anormal bir protein ürünü meydana gelir ve repolarizasyon süresi uzar (Jiang ve ark, 1994; Warmke ve ark, 1994; Anderson ve ark, 2006; Shinnawi ve ark., 2014).

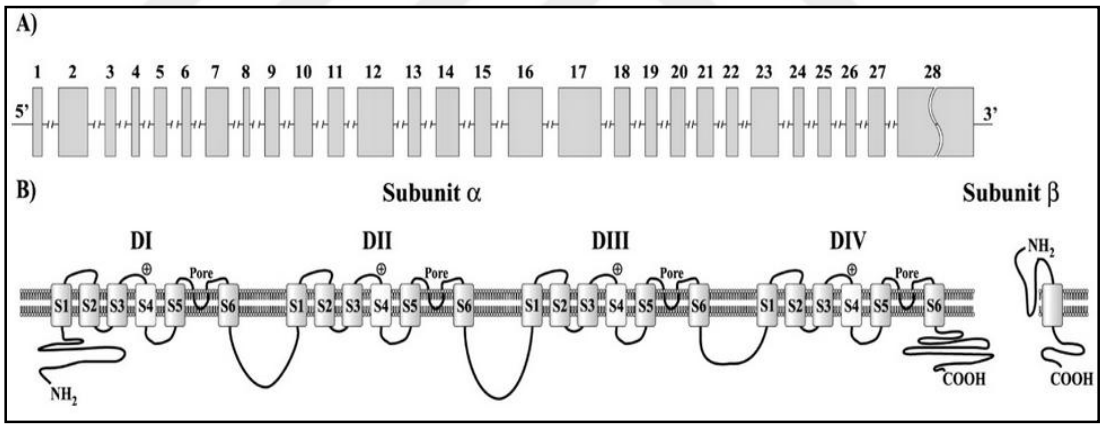
Uzun QT sendromuna neden ilaçların birçoğu, *hERG* geni aracılığıyla I_{Kr} akımı bloke ederler. Bu ilaçlar arasında eritromisin, terfenadin ve ketokonazol yer alır. hERG kanalı, 652. pozisyondaki tirozin ve 656. pozisyondaki fenilalanin aromatik amino asitleriyle istenmeyen ilaç bağlanmasına karşı çok hassastır. Bu amino asit rezidülerine bağlanan ilaçlar, kanalın akımı iletmesine engel olurlar. Diğer potasyum kanallarında, İlgili pozisyonlarda bu rezidüler bulunmaz, bu yüzden blokaj eğilimli değillerdir (Milnes ve ark., 2003; Sanguinetti ve ark., 2006).

4.2.5.3. Uzun QT sendromu tip 3 (UQTS3)

Uzun QT sendromu 3 ile ilişkili gen olan *SCN5A* (aynı zamanda *hH1* veya $Na_V1.5$ olarak da bilinir) 3. kromozomda 3p21-24 bölgesinde lokalizedir (George ve ark., 1995). Gen, kardiyak sodium iyon kanalının α alt ünitesini kodlar; *SCN5A* geni, yaklaşık 80 kb uzunluğunda olup 28 ekzon içerir (Wang ve ark., 1996) (Şekil 12 ve 13). Protein yapısı Şekil 13'te ayrıca gösterilmektedir. Xenopus oositlerindeki mutant proteinlerin ifadelerini izleyen elektrofizyolojik çalışmalar sonucunda, mutasyonların fonksiyon kazanımı tipte olduğu ve Na^+ kanalının inaktivasyonunu yavaşlatarak, depolarizasyon sırasında Na^+ akışının uzamasına neden olduğu gösterilmiştir (Bennett ve ark., 1995).



Şekil 12: *SCN5A* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/SCN5A/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).



Şekil 13: *SCN5A* geni Na^+ kanalının yapısal organizasyonu (A) *SCN5A* geninin genomik yapısı; ekzonlar ve intronlar sırasıyla kutucuklar ve yatay çizgilerle gösterilmiştir. (B) Bir voltaj kapılı Na^+ kanalının dört domain (DI–DIV) içeren α-alt ünitesinin şematik gösterimi; her bir domain membran boyunca uzanan altı adet alfa heliks (S1-S6) ve beta alt ünitesi içerir (Moric ve ark., 2003).

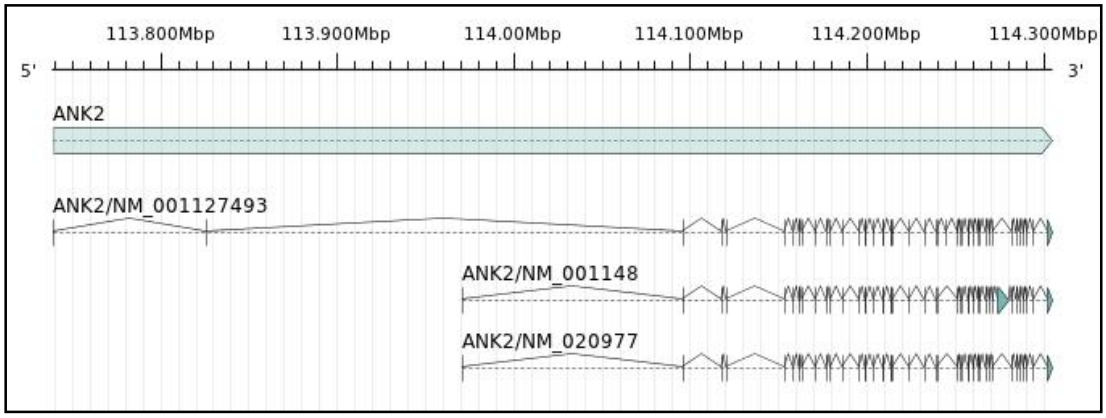
UQT3'e yol açan ya da hastalık yatkınlığını artıran çok sayıda mutasyon karakterize edilmiştir. Tan ve arkadaşları, kalmodulinin kalsiyum bağımlı yol ile karboksi terminal IQ domainine bağlandığını gösterdiler. Bu bağlanma, belirgin şekilde yavaş inaktivasyonu hızlandırır (Tan ve ark., 2002).

SCN5A genindeki mutasyonlar; Brugada sendromu, ilerleyici iletim bozukluğu, ailesel atriyal ve ventriküler fibrilasyon, dilate kardiyomiyopati ve hasta sinüs sendromu ile ilişkilendirilmiştir (OMIM#600163).

4.2.5.4. Uzun QT sendromu tip 4 (UQTS4)

1995'te uzun QT sendromlu 65 etkilenmiş bireyli bir Fransız ailede yapılan çalışmada 4q25-q27 lokusuna bağlantı saptandı (Schott ve ark., 1995). Daha sonra ise bölgede Ankirin-B'yi kodlayan *ANKB* (*ANK2*) geni tanımlandı (Mohler ve ark., 2003).

Ankirin-B proteini yaklaşık 220 kDa ağırlığındadır ve birkaç izoformu bulunur (http: //www.uniprot.org/uniprot/Q01484, Erişim tarihi: 02.02.2016). *ANK2* geni, yaklaşık 560 kb uzunluğunda olup 53 ekzonludur (Şekil 14 ve 15) ve 3957 amino asitlik bir protein kodlar. *ANK2* geni kardiyak kaslarında izoformların değişken ifadesi ile transkripsiyonel olarak, 30'un üzerinde alternatif splicing mekanizması tarafından regüle edilir (Van Oort ve ark., 2008; Cunha ve ark., 2008; Wu ve ark., 2015).

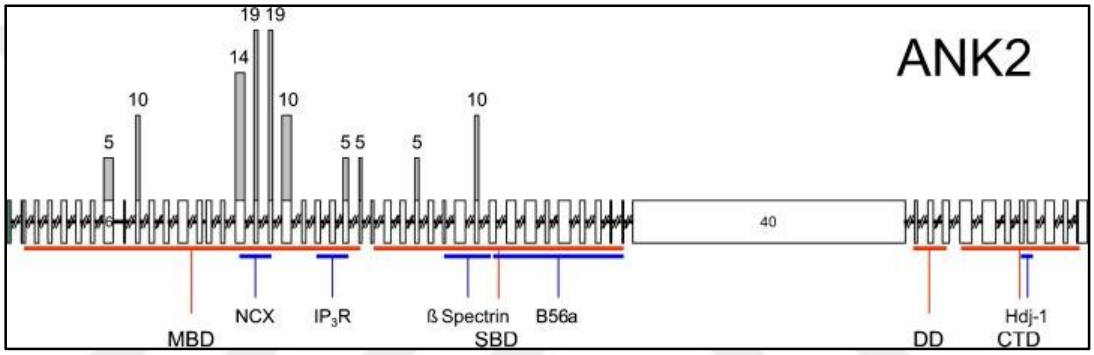


Şekil 14: *ANK2* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/ANK2/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

Ankirin-B, ankirin protein ailesinin bir üyesidir ve 3 yapısal domainden oluşan modüler bir proteindir; çoklu ankirin tekrarı içeren bir N-Terminal domaini, merkezi bölgede yüksek oranda korunmuş spektrin bağlanma domaini ve death (ölü) domain, son kısımda ise en az korunmuş olan ve ankirin-B aktivitesini belirleyen bir C-

terminal domain (Mohler ve ark., 2002a; Mohler ve ark., 2002b). Ankirin-B'nin membrana bağlanma bölgesi, 24 adet ardı sıra ankirin tekrarlarından oluşur ve ankirin izoformları arasındaki fonksiyonel farklılıkları bu domain belirler (Mohler ve ark., 2002b). Tüm dokularda ifade olmasına rağmen, ankirin-B, kardiyak kasında yüksek düzeyde eksprese olurken iskelet kaslarında 10 kat daha düşük ifadesine rastlanır, bu durum proteinin kalp kasında özgül olarak işlevsel bir rolü olduğunu desteklemektedir (Eber ve ark., 1996).

ANK2 gen yapısı ve gende meydana gelen mutasyon yüzdeleri şekilde belirtilmiştir (Hedley ve ark., 2009) (Şekil 15).

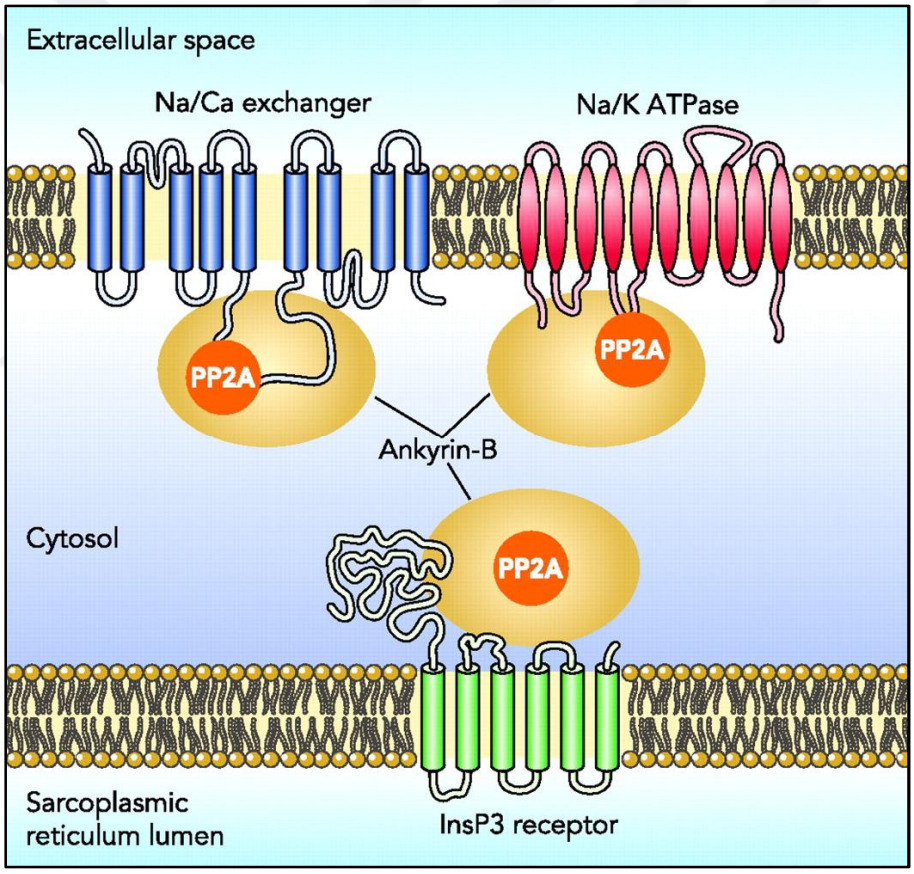


Şekil 15: *ANK2* geni genomik yapısı. Genin ekzonları orta kısımda (dikdörtgen kutucuklar) ve gendeki mutasyonların ekzonlara göre dağılım yüzdesi ekzonların üzerinde gösterilmektedir. B56a: Fosfataz 2A protein regulator alt ünitesi B56α bağlanma domaini; CTD: Karboksil terminal domaini; DD: death domain (ölü domain); Hdj-1: moleküler şaperon HSP40/Hdj-1 bağlanma domaini; IP3R: Inositol 1,4,5- üç fosfat reseptörü bağlanma domaini; MBD: membran bağlanma domaini; NCX: sodyum kalsiyum değiştirici bağlanma domaini; SBD: spektrin bağlanma domaini (Hedley ve ark., 2009).

ANK2 geni mutasyonları, otozomal dominant olarak kalıtılan ve kardiyak aritmi sendromu (ankyrin-B sendromu) olarak da bilinen, daha önce uzun QT sendromu tip 4 olarak adlandırılan ve uzun QT'nin bradikardi, atriyal fibrilasyon, iletim bloğu, aritmi ve ani kardiyak ölüm riski ile seyreden atipik bir formu ile ilişkilendirilmiştir (Kline ve ark., 2006; Mohler ve ark., 2006; Hashemi ve ark., 2009).

Hipertrofik kardiyomiyopatili 874 hastada yapılan büyük bir genotip-fenotip çalışmasında, *ANK2* varyantına sahip hastalarda sol ventrikül duvar kalınlığının daha fazla olduğu gösterilmiştir (Lopes ve ark., 2015).

Ankirin-B, kardiyomiyositlerde iyon taşıyıları ve iyon kanallarının lokalizasyonu ve mebran stabilizasyonu için esansiyel role sahiptir. Ankirin-B mutasyonları, sodyum pompasının, sodyum/kalsiyum değiştirici ve inositol-1,4,5-trifosfat reseptörlerinin hücresel lokalizasyonunu bozar, ifade seviyelerini azaltır ve erişkin kardiyak miyositlerinde Ca^{+2} sinyalini etkiler. Bu bulgular sonucu, sadece iyon kanalı ya da kanal alt ünitesindeki mutasyonların değil aynı zamanda Ankirin-B gibi iyon kanalıyla ilişkili proteinlerde meydana gelen mutasyonların da kardiyak aritmilere yol açtığı gösterilmiştir (Mohler ve ark., 2003; Mohler ve ark., 2004). Kardiyak miyositinde Ankirin-B protein kompleksi modeli şekilde gösterilmektedir (Mohler ve ark., 2007) (Şekil 16).



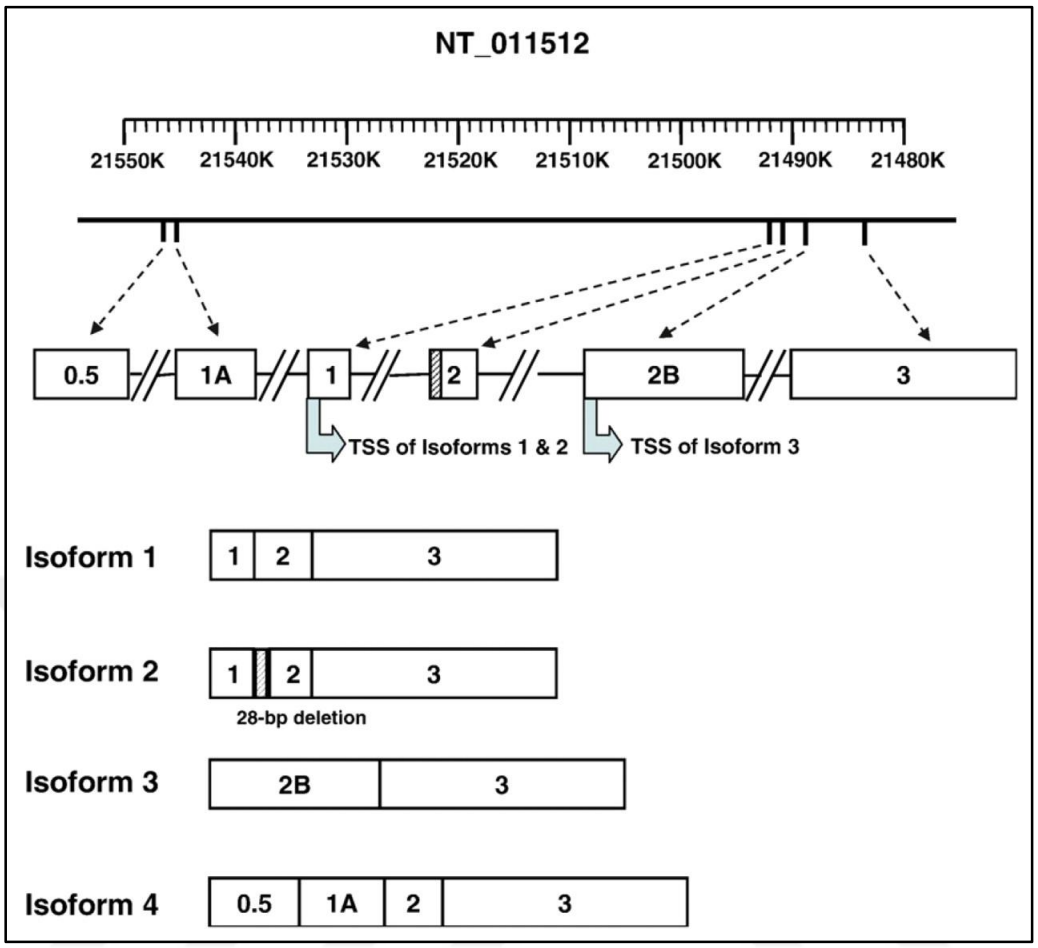
Şekil 16: Kardiyak miyositinde Ankirin-B protein kompleksi modeli. Ankyrin-B, kardiyak hücre iskeleti bileşenleri ile doğrudan Na^{+}-K^{+} ATPaz, Na^{+}/Ca^{+2} değiştirici ve InsP3 reseptörü gibi birbirinden bağımsız kardiyak iyon kanalları ve taşıyıcılara yapısal olarak bağlanan çok yönlü bir adaptor proteindir. Ankirin-B'nin yakın zamanda, fosfataz 2A proteini (PP2A) ile etkileşimi de gösterilmiştir (Mohler ve ark., 2007).

4.2.5.5. Uzun QT sendromu tip 5 (UQTS5)

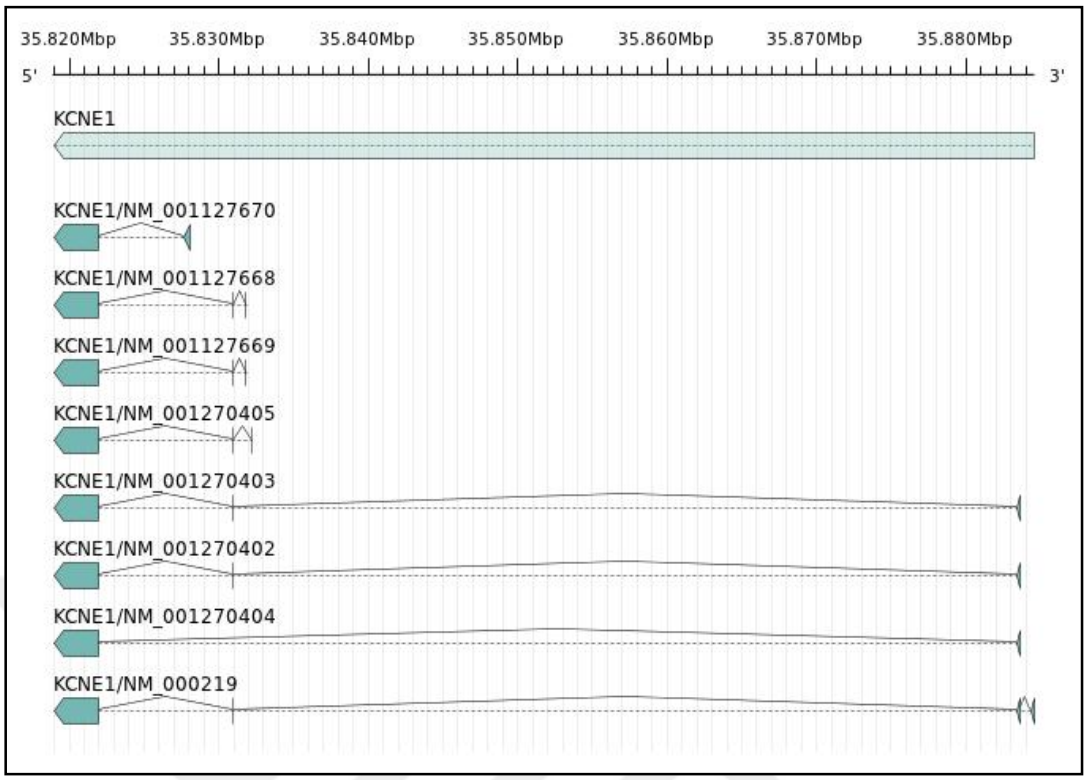
UQT ile ilişkili olan gen 21q22.1 bölgesine lokalize olan *KCNE1* (*MinK*) genidir (Malo ve ark., 1995). Gen, 3 ekzonludur ve genin 2 intronu, translasyona uğramayan 5' UTR bölgesinde yer alır (Splawski ve ark., 1998). *KCNE1* geni, insanlarda potasyum voltaj-kapılı kanalının E alt ailesine ait 1. üyesini kodlamaktadır (Chevillard ve ark., 1993). Voltaj-kapılı potasyum kanalları (Kv) hem işlevsel hem de yapısal olarak, voltaj kapılı iyon kanallarının en karmaşık sınıfını temsil etmektedir. Bu kanalların nörotransmitter salınımı, kalp hızı, insülin salgısı, nöronal uyarılabilirliği, epitelyal elektrolit taşıma, düz kas kasılması ve hücre hacminin korunmasında önemli işlevleri bulunur (https: //en.wikipedia.org/wiki/KCNE1, Erişim tarihi: 02.02.2016).

*KCNE1'*in 4 farklı izoformu bulunur (İzoform 1, 2, 3 ve 4) izoform 1 Splawski ve arkadaşlarının bildirdiğine benzerdir (Splawski ve ark., 1998); fakat 5' bölgesinde 38 bç'lik ilave bir diziye sahiptir. İzoform 2, izoform 1'e benzer fakat 2. ekzonun 5' bölgesi izoform 1'inkinden 28 bç daha kısadır.

İzoform 3, ekzon 3'ün yukarı kısmında farklı dizilere sahiptir ve ekzon 2B olarak adlandırılır. İzoform 4 ise, 4 ekzon içerir ve 2. ve 3. ekzonlardan önce 0,5 ve ekzon 1A olarak adlandırılan ilave dizilere sahiptir (Mustapha ve ark., 2007) (Şekil 17 ve 18).



Şekil 17: *KCNE1* gen yapısı. *KCNE1* genine ait 4 farklı izoform ve ekzon dizilimleri. TSS: Transkripsiyon başlama bölgesi (Mustapha ve ark., 2007).

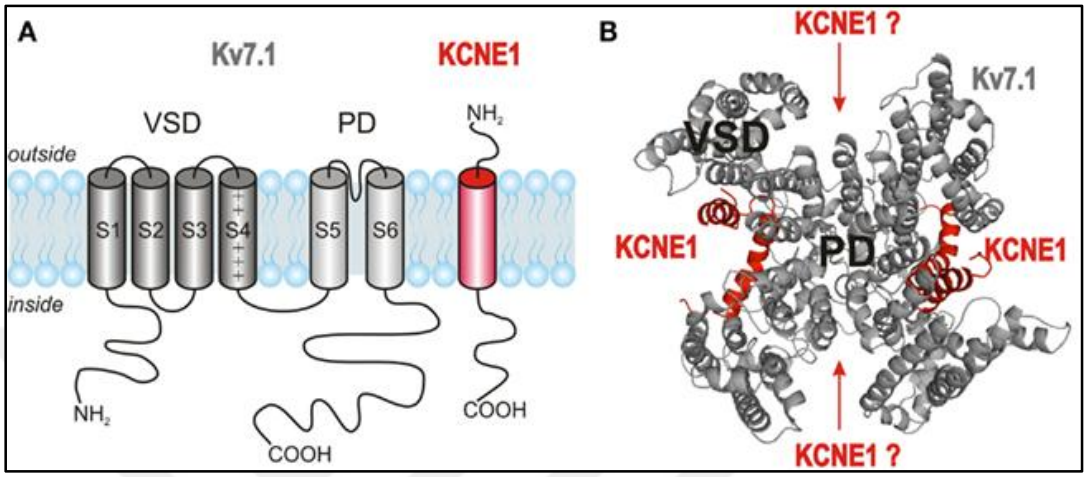


Şekil 18: *KCNE1* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/KCNE1/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

KCNE1 geni, *KCNQ1* geni ile bir araya gelerek kardiyak I_{Ks} kanalını oluşturur. Hızla aktive olan K^+ akımı (I_{Kr}) ile beraber I_{Ks}, ventriküler repolarizasyon için oldukça önemlidir (Sanguinetti ve ark., 1996). *KCNQ1* çoğu epitelyal dokunun normal fonksiyonunu sürdürebilmesi için birincil öneme sahipken; *KCNE2* ya da *KCNE3*, uyarılamayan hücrelerin regülasyonunda esansiyeldir (Abbott ve ark., 2015).

KCNE1 C-Terminal domaininde özellikle 73.ve 79. amino asitler arası bölge, gecikmiş potasyum doğrultucu akımının SGK1 (Serin/threonin-protein kinaz 1) tarafından stimulasyonunda gereklidir (Seebohm ve ark., 2008). *KCNE1'*in *KCNQ1* geninin por domainindeki S6 alfa heliksiyle etkileşimi sonucunda, bu kanalın benzodiazepine L7 ve Kromamanol 293B'ye yüksek eğilim ile bağlanması gerçekleşir. *KCNE1, KCNQ1* kanal proteinindeki S4-S5 alfa heliks ve S6 alfa heliks bağlantılarının stabilitelerini bozarak kanalın daha yavaş aktivasyonuna yol açar (Strutz-Seebohm ve ark., 2011). *KCNE1* ile *KCNQ1* arasında farklı stoikiometriler

tartışılmakla beraber bir plazma mebranının I_{Ks} kompleksinde, 2 *KCNE1* ve 4 *KCNQ1* alt ünitenin bir araya geldiği bildirilmiştir (Plant ve ark., 2014). Kv7.1/*KCNE1* kanallarının topolojisi ve stoikiometrisi şekil 19'da gösterilmektedir **(**Wrobel ve ark., 2012).



Şekil 19: Kv7.1/*KCNE1* kanallarının topolojisi ve stoikiometrisi

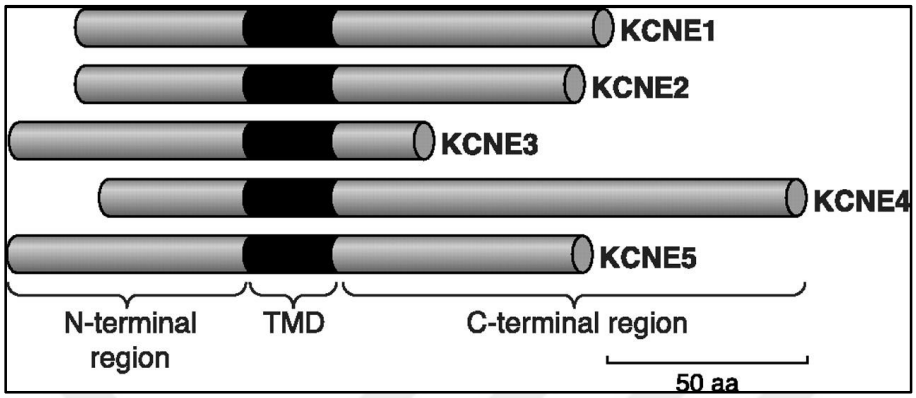
A) Kv7.1α-alt ünitesi membran boyunca uzanan 6 segment (S1-S6) ve hücre içi N ve C terminal domainleri içerir. S1-S4 segmentleri voltaj duyarlı domain olup (VSD) S5 ve S6 segmentleri por domainini (PD) oluşturur. *KCNE1* β alt üniteleri, ekstraselüler bir N-terminal ve sitozolik bir C-terminal kısmına sahip tek bir transmembran segmentinden oluşur. **B)** Dört Kv7.1 α alt ünitesi, fonksiyonel bir kanal oluşturmak üzere bir araya gelir (Wrobel ve ark., 2012).

KCNE1 gen mutasyonları hastalığın dominant ve resesif formuyla ilişkilendirilmiştir (Bianchi L ve ark., 1999; Krumerman ve ark., 2004; Van den Berg ve ark., 1997).

4.2.5.6. Uzun QT sendromu tip 6 (UQTS6)

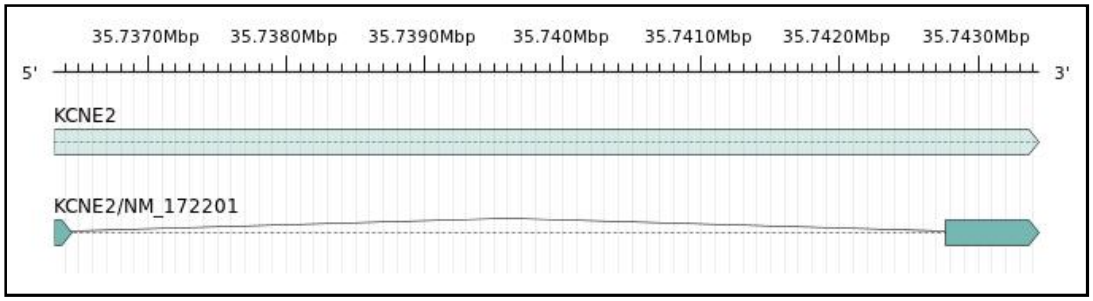
UQTS6, *KCNE2* ya da *MIRP1* olarak bilinen gende meydana gelen mutasyonlar sonucu meydana gelir. *KCNE2* geni, MinK-ilişkili peptid 1 (Mirp1) olarak da bilinen potasyum voltaj-kapılı kanalın E alt ailesine ait 2. üyeyi kodlar (Abbott ve ark., 1999).

İnsanda *KCNE2*, *KCNE* genlerinin 5 ailesinden biridir. KCNE proteinlerinde, membran boyunca uzanan bir transmembran domain, hücre dışı N-terminal ve hücre içi C-Terminal bölge bulunur (Şekil 20).



Şekil 20: KCNE protein ailesinin topolojisi. İnsanda her bir KCNE geni bir alt üniteyi sentezler (*KCNE1*-5). Şekilde transmembran domain, N-terminal bölge ve C-terminal bölge *KCNE1*-5 için ayrı ayrı gösterilmektedir. TMD: Transmembran domain (Pongs ve Schwarz, 2010).

KCNE2 geni 2 ekzon (1 kodlayan ekzon) içerir. Gen, 21q22.1 bölgesinde yer alır ve HERG2 geni ile bir araya gelerek I_{Kr} akımını oluşturur. *KCNE2* mutasyonları sonucu mevcut olan potasyum akımı azalır (Larsen ve ark., 2001; Lu ve ark., 2003). *KCNE2* geni, hERG kanal fonksiyonunu regüle eder. *KCNE2*-hERG akımlarının makroskopik olarak homomerik hERG'e kıyasla daha küçük olduğu ve *KCNE2*'nin hERG deaktivasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir (Abbott ve ark., 1999).



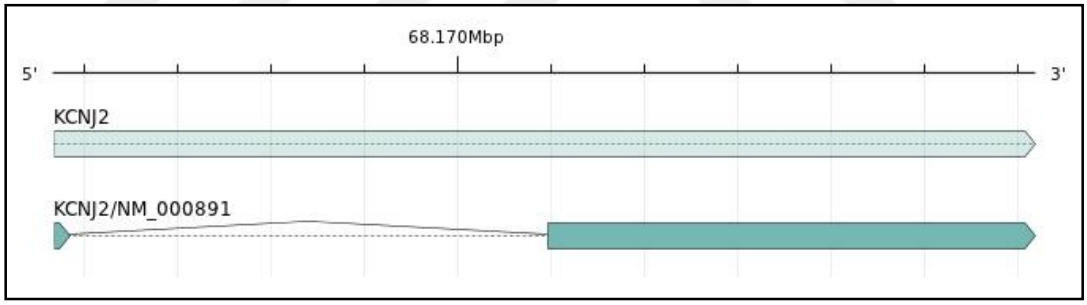
Şekil 21: *KCNE2* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/KCNE2/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

KCNE2 fonksiyon kaybı mutasyonları, uzun QT sendromunun otozomal dominant formu olan Romano Ward sendromlu bireylerin yaklaşık %1'inde görülmektedir (Splawski ve ark., 2000). Literatürde *KCNE2* mutasyonları, ilaçla tetiklenen aritmi ile de ilişkilendirilmiştir (Sesti ve ark., 2000).

4.2.5.7. Uzun QT sendromu tip 7 (UQTS7)

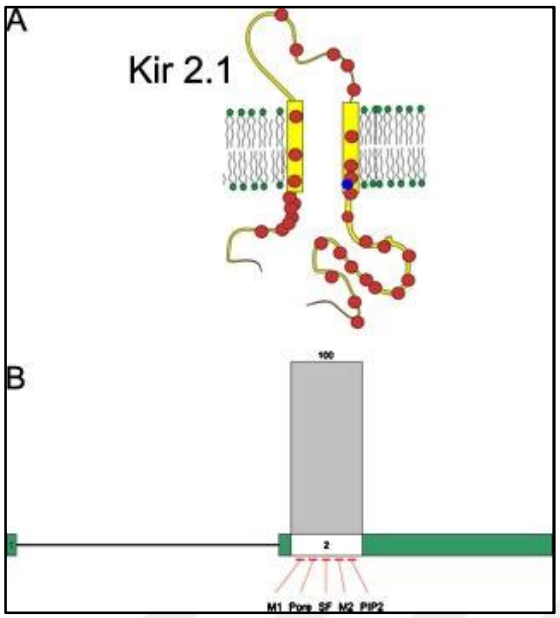
Andersen Sendromu olarak da bilinen UQT7 formu peryodik paraliz, kardiyak aritmiler, uzun QT ile karakterize ve kısa boy, skolyoz, klinodaktili, hipertelorizm, yana yatmış düşük kulaklar, mikrognati ve geniş alın gibi dismorfik bulguların gözlendiği nadir görülen bir otozomal dominant hastalıktır. Hastalıkta klinik anlamda aile içinde çeşitlilik ve eksik penetrans görülür (Davies ve ark., 2005).

Hastalıkla ilişkili olan gen 17q23 bölgesine lokalize *KCNJ2* genidir. Gen 2 ekzon içerir ve yaklaşık 10 kb uzunluğundadır (Derst ve ark., 2001) (Şekil 22 ve Şekil 23B).



Şekil 22: *KCNJ2* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/KCNJ2/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

Gen, iskelet ve kardiyak kaslarında eksprese olan içe doğrultucu potasyum kanalı Kir2.1'i kodlar (Şekil 23A). İçeri doğrultucu potasyum kanalları (Kir) dinlenme membran potansiyeli ve hücrelerin uyarılabilmesi için önemlidir. Kir kanallarının aktivitesi, fosfatidilinositol 4,5-bifosfat (PIP2) ile kanal etkileşimlerinin bütünlüğüne büyük oranda bağlıdır. Gende meydana gelen mutasyonların kanal-PIP2 etkileşimlerinin gücünü azalttığı gösterilmiştir (Lopes ve ark., 2002).



Şekil 23. Kir2.1 topolojisi ve *KCNJ2* geni yapısı. A) Kir 2.1'in şematik gösterimi, UQTS ve ŞQTS ile ilişkili mutasyonlar kırmızı ve mavi noktalarla gösterilmektedir. **B)** *KCNJ2* geninin temel yapısal elementleri ile genomik yapısı, M1: transmembran bölgesi 1; M2: transmembran bölgesi 1; PIP2: Fosfatidilinositol 4,5-bifosfat bağlanma domaini; SF: Seçici filtre (Hedley ve ark., 2009).

Kir2.1, -40 mV'nin üzerindeki akımların geçişini engellemektedir. Elektrofizyolojik çalışmalarla, mutant proteinin Kir2.1 üzerinde baskın bir dominant etkisi olduğu ve potasyum akımında belirgin bir düşüşe yol açtığı saptanmıştır (Tawil ve ark., 1994; Tsuboi ve ark., 2006).

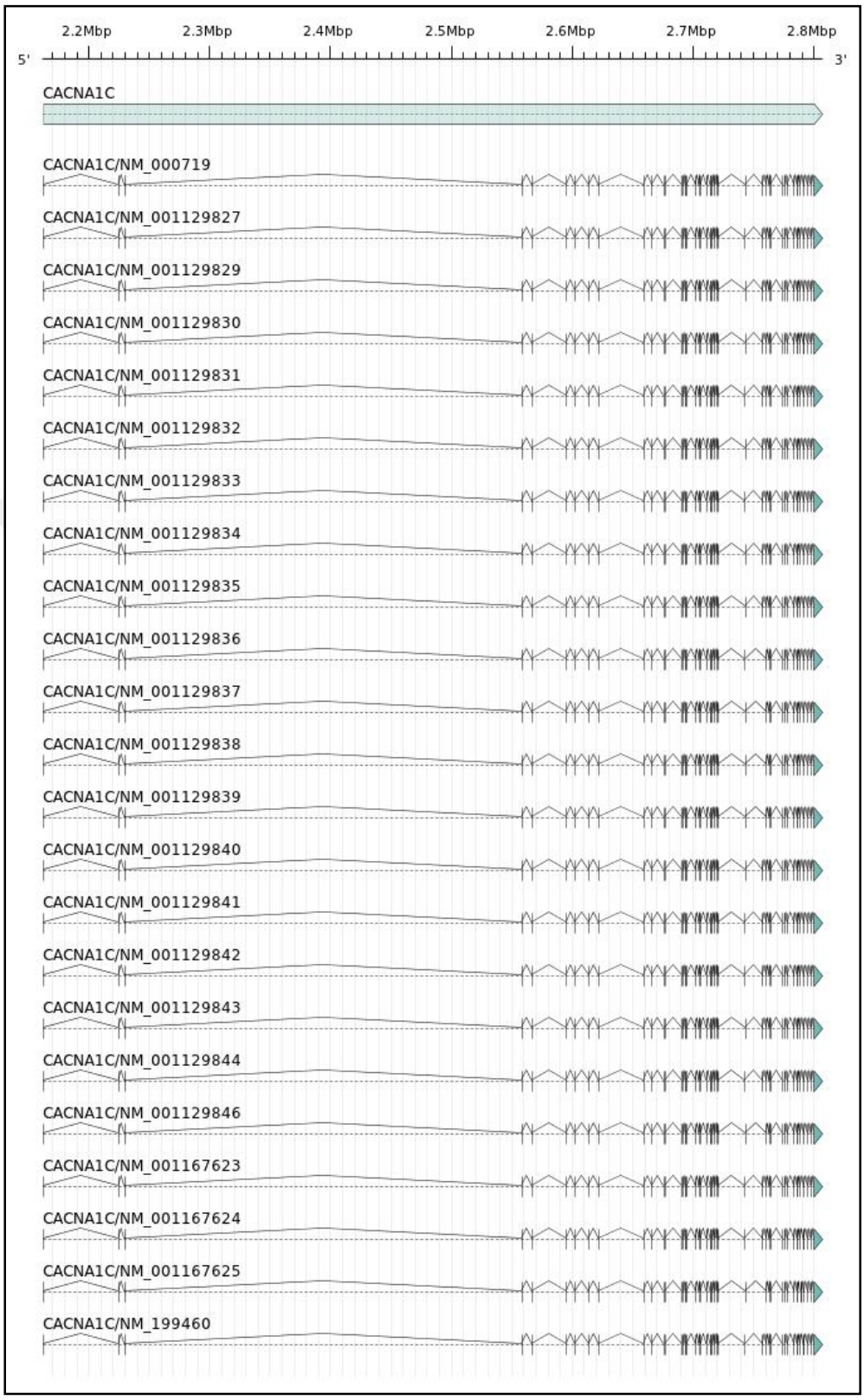
4.2.5.8. Uzun QT sendromu tip 8 (UQTS8)

Hastalığın UQT8 formu, Timothy Sendromu olarak bilinir; şiddetli QT uzaması, yüzde dismorfik özellikler, sindaktili, immün yetmezlik, intermitent (aralıklarla meydana gelen) hipoglisemi, mental reterdasyon ile karakterizedir ve *CACNA1C* geni mutasyonları sonucu meydana gelir (Splawski ve ark., 2004).

İnsanlarda *CACNA1C* geni, Cav1.2 olarak ta adlandırılan voltaj bağımlı L tipi kalsiyum kanalının alfa alt-birimi olan 1C'yi kodlar (Catterall ve ark., 2005). Protein 2180 amino asitlik sentezlenip 243.6 kD ağırlığındadır. Protein 5 protein kinaz A fosforilasyon bölgesi ve 4 N-glikozilasyon bölgesinden oluşur (Schultz ve ark., (1993). Cav1.2 düz kaslarda, pankreatik hücrelerde, fibroblastlarda ve nöronlarda

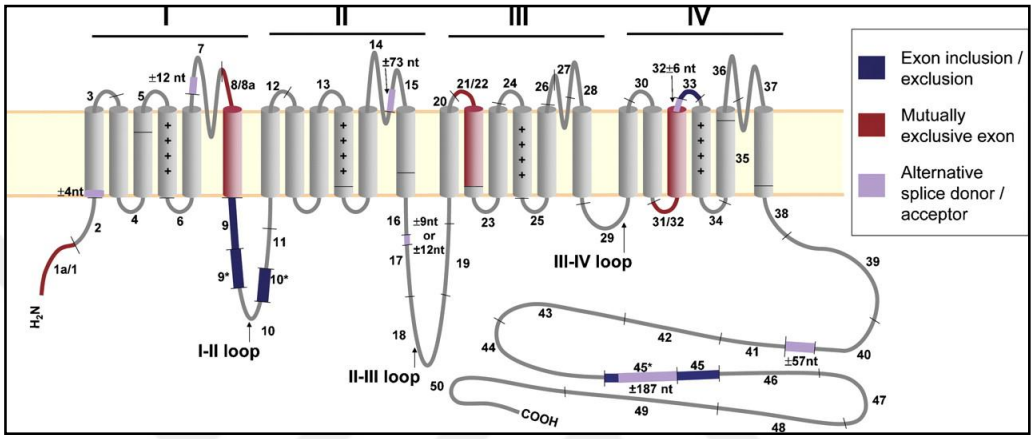
büyük oranda ifade olur (Christel ve ark., 2012; Berger ve ark., 2014). Özellikle Cav1.2, kalpte L-tipi akımlara aracılık eder ve endoplazmik retikulum (ER) depolarındaki ryanodin reseptörleri üzerinden kalsiyumla uyarılmış kalsiyum salınmasına neden olur. Cav1.2,-30mV'de depolarize olur; kardiyak ve düz kaslarda aksiyon potansiyelinin şeklini belirlemeye yardımcı olur. Kalsiyum kanalları, membran polarizasyonu sırasında hücre içine kalsiyum iyonlarının girmesine aracılık eder. Alfa-1 alt birimi 24 transmembran segmentinden oluşur ve iyonların hücre içine geçtiği por yapısını oluşturur. Kalsiyum kanalı, 1: 1: 1 oranında alfa-1, alfa-2/delta ve beta alt ünitelerinden oluşan bir kompleksi içerir. Cav1.2'nin S3-S4 bağlayıcıları ise kanalın açılıp kapanma kinetiğini kontrol eder (Lipscombe ve ark., 2004).

CACNA1C geni, 12p13.3 bölgesine lokalizedir (Schultz ve ark., 1993). Genin uzunluğu 150 kb'dir (Soldatov, 1994). Genin farklı alternatif transkriptleri mevcuttur (Şekil 24).



Şekil 24: CACNA1C geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/CACNA1C/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

Blumenstein ve arkadaşları insan kalbinde ekzon 1'i 1a ya da 1b olarak adlandırılan, 2 alternatif *CACNA1C* transkriptini tanımladılar. Ekzon 1a, 46 amino asitlik N-terminal segmentini kodlarken; ekzon 1b, 16 amino asitlik N -terminal segmenti kodlamaktadır (Blumenstein ve ark., 2002). Genin ekzonları ve voltaj kapılı kalsiyum kanalı Cav1.2'nin por yapısını oluşturan α11.2 alt biriminin şematik temsili aşağıda gösterilmiştir (Şekil 25) (Liao ve ark., 2005).

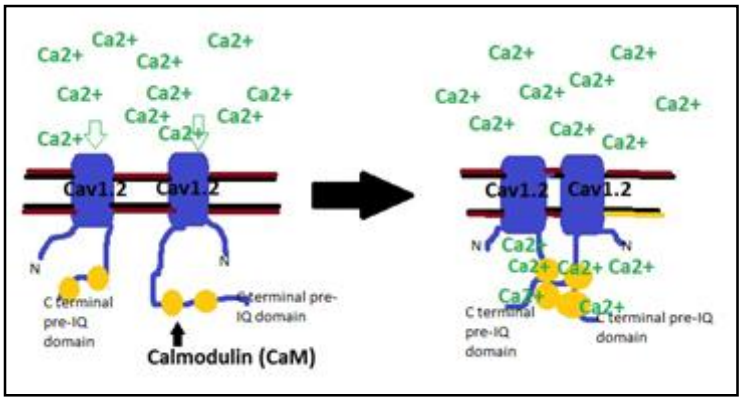


Şekil 25: Voltaj kapılı kalsiyum kanalı Cav1.2'nin por yapısını oluşturan α11.2 alt biriminin şematik temsili. α11.2 alt birimi 4 domain (I-IV) altı transmembran segmentlerinin (S1-S6) 'den oluşur. S4 segmenti, 3-5 pozitif yüklü rezidüden oluşan voltaj sensörüdür. Yeniden giriş S5-S6 loop bölgesi porun hatlarını belirler ve seçici filtre olarak hizmet verir. Sitoplazmik I-II, II-III ve III-IV arasındaki loop'lar bağlantı domainleridir. Tüm α11.2-alt birimini kodlayan ekzonlar rakamla belirtilmiştir (Liaove ark., 2005).

Splawski ve arkadaşları, 16 Klasik Timothy Sendromlu hastanın tamamında, *CACNA1C* geni ekzon 8A'da bir de-novo p.Gly406Arg mutasyonu saptamış olup genin tüm dokularda ifade olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan fonksiyonel çalışmada G406R mutasyonunun fonksiyon kazanımı tipte olup, mutasyon sonucu hücre içine giren Ca^{+2} akımını arttığını ve voltaj bağımlı kanal inaktivasyonunun gerçekleşmediğini; dolayısıyla aksiyon potansiyelinin uzamasına neden olduğunu göstermişlerdir (Splawski ve ark., 2004).

CaV1.2 kanallarının aktivitesi, ürettikleri Ca^{+2} sinyalleri tarafından kontrol edilir. Hücre içine giren Ca^{+2} iyonlarının bir kısmı kalmodulin ile bağlanır. Ca^{+2}/kalmodulin bir arada CaV1.2 kanalının C-terminal kuyruğundaki IQ domainine bağlanır (Kim ve ark., 2010) (Şekil 26).

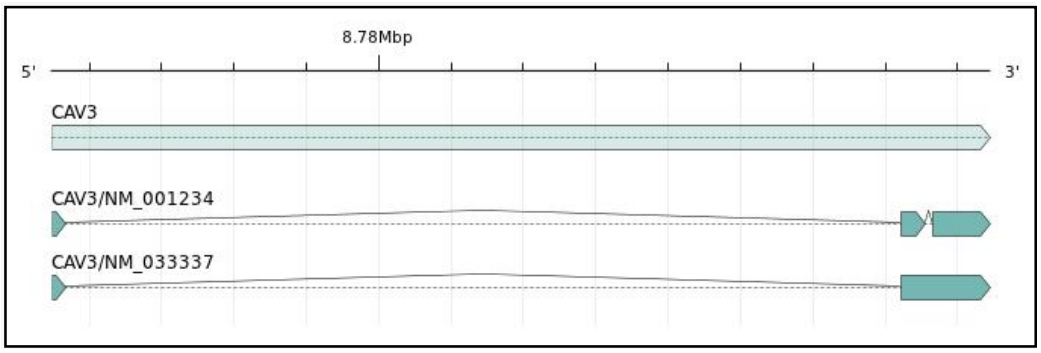
Cav1.2 kanalları, hücre membranında ortalama olarak sekizli kümeler halinde bulunurlar. Kalsiyum kalmoduline bağlandığı zaman Cav1.2 kanalına bağlanma gerçekleşebilir; bu sayede Cav1.2 kanalları küme halinde birbirleriyle etkileşime girerler (Şekil 18). Bu birliktelik ile kanalların aynı zamanda açılarak içeri daha fazla Ca^{+2} girişi ve sonra tekrar birlikte kapanarak hücrenin dinlenme fazına girmesi sağlanır (Dixon ve ark., 2015).



Şekil 26: İki Ca^{+2} kanalı kümelenmesine ait temsili şekil. Depolarizasyon olduğunda, kalsiyum iyonları kanal boyunca içeri doğru girer ve bunların bazıları kalmoduline bağlanır. Cav1.2 kanalının C-terminal pre-IQ domainine kalsiyum/kalmodulin bağlanması, yan yana bulunan kanalların birbirleriyle etkileşimini sağlar (https: //en.wikipedia.org/wiki/Cav1.2#/media/File: Ca1.2channelclutseringpng, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

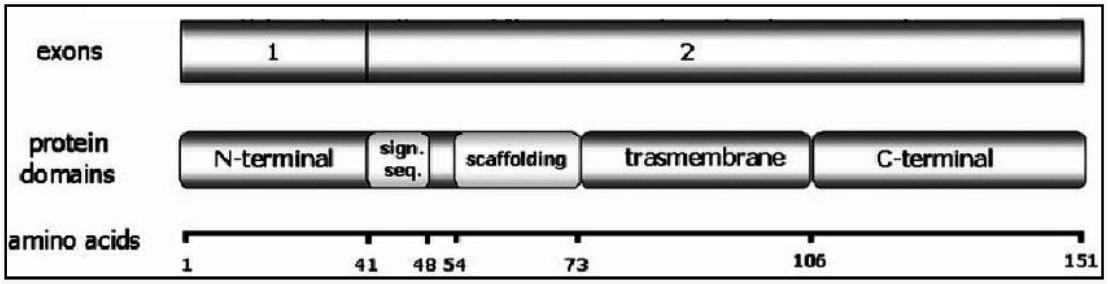
4.2.5.9. Uzun QT sendromu tip 9 (UQTS9)

Uzun QT sendromunun tip 9 formu, *CAV3* geninde meydana gelen mutasyonlara bağlı olarak UQT hastalarının %2'sinden az bir kısmında görülmektedir (Vatta ve ark., 2006). *CAV3* geni, Kaveolin-3 (M-kaveolin) olarak adlandırılan bir protein kodlar. Gen 2 ekzonlu olup kromozom 3p25 bölgesinde lokalizedir (McNally ve ark., 1998; Minetti ve ark., 1998) (Şekil 27 ve 28).



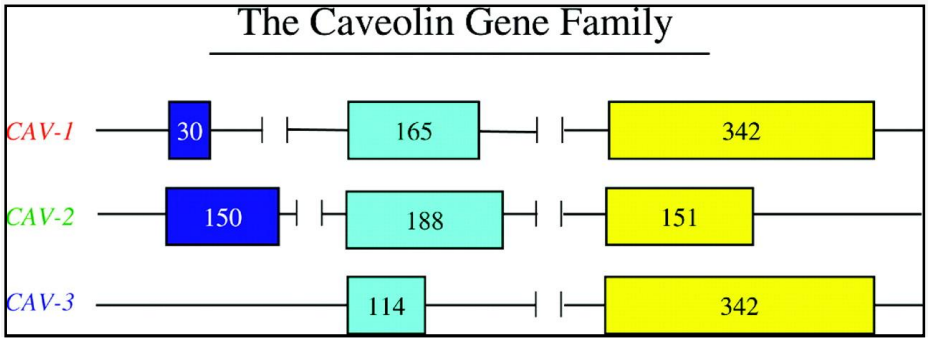
Şekil 27: *CAV3* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/*CAV3*/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

Kaveolin-3 protein yapısı şekil 28'de gösterilmektedir. Kaveolin-3 proteini 1435 aa dizisinden oluşur (http: //www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/299115915?report=genbank. Erişim Tarihi: 16.02.2016) ve yaklaşık 22 kDa ağırlığındadır. Yaklaşık 14-16 kaveolin monomeri homo-oligomerize olarak kaveolanın integral membran komponenti olan 300-350 kD'lik moleküler multimerlerini oluşturmak üzere biraraya gelir. Kaveola, membran trafiği, transportu ve hücre sinyalinin iletiminde fonksiyon gören küçük plazma membran invajinasyonlarıdır. İskelet myoblastlarının farklılaşması sırasında CAV3 ifadesi artar. CAV3, distrofin-glikoprotein kompleksi ile etkileştiği plazma membranında bulunur. *CAV3* geni mutasyonları sonucu farklı klinik fenotipler oluşabilmektedir (Vorgerd ve ark., 2005).



Şekil 28: *CAV3* geni yapısı. Şekilde üst kısımda, *CAV3* geninin 2 ekzonu temsili olarak gösterilmektedir. Alt kısımda ise kaveolin-3 proteinine ait domainler (Sinyal dizileri içeren N-terminal domaini, iskelet (scaffolding) domaini, transmembran domaini ve C-terminal domaini) (Fulizio ve ark., 2005).

Kaveolin-3, kaveolin-1 ve kaveolin-2'nin de içine dahil olduğu kaveolin protein ailesine ait kasa özgü bir proteindir (Şekil 29). Kaveolin-3 çoğu hücre tipinde plazma membranında bulunan kaveola'nın bir komponenti olarak fonksiyon görür. Kaveolin proteinleri, kaveolinle etkileşen belirli moleküllerin organizasyonu ve bütünlüğün sağlanması için iskele (scaffold) vazifesi görür ve nikrik oksit sentezi, kolesterol metabolizması ve kardiyak miyosit kontraksiyonunu içeren çeşitli metabolik süreçlerde görev alır (Bossuyt ve ark., 2002; Gratton ve ark., 2004; Gazzerro ve ark., 2010).



Şekil 29: Kaveolin gen ailesinin şematik tasviri. Şekilde *CAV1*, *CAV2* ve *CAV3* genlerinin her bir ekzonu farklı renkte kutucuklarla gösterilmektedir. Kutuların içindeki rakamlar ise ekzondaki nükleotid sayısını ifade etmektedir (Cohen ve ark., 2004).

CAV3 geni mutasyonları geç Na^+ akımını arttırarak repolarizasyonun uzamasına neden olur. Vatta ve arkadaşları, kardiyak sodyum kanalını eksprese eden geçici transfekte HEK293 hücrelerinde yaptıkları elektrofizyolojik analizler sonucunda yabanıl tip kaveolin-3 ile karşılaştırıldığında, mutant kaveolin-3'ün geç sodyum akımında 2-3 katlık bir artış gözlemişlerdir (Vatta ve ark., 2006).

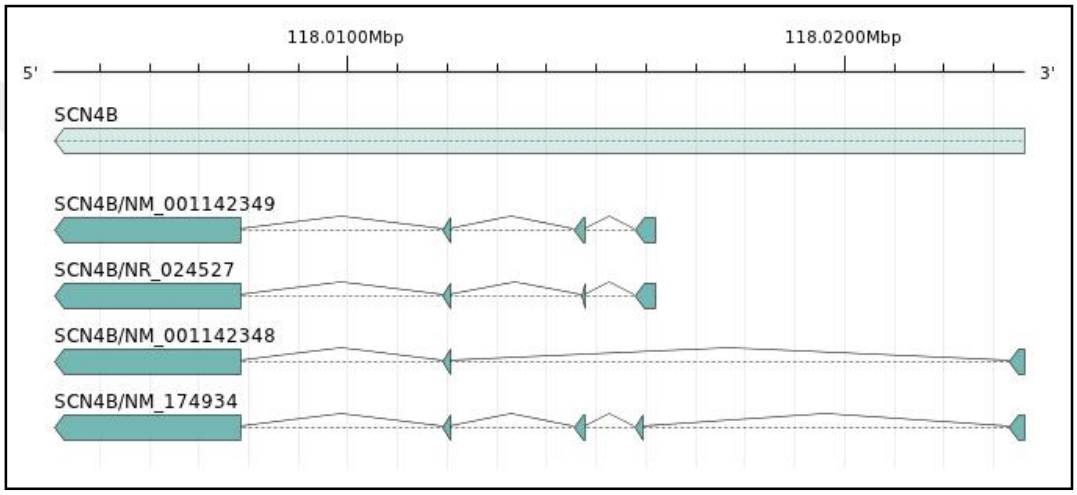
CAV3 geni mutasyonları literatürde UQT9, Progresif Limb-Girdle Müsküler Distrofi, Hipertrofik kardiyomiyopati, Tateyama Tip Distal Miyopati, Rippling Kas Hastalığı ile ilişkilendirilmektedir (OMIM#601253).

4.2.5.10. Uzun QT sendromu tip 10 (UQTS10)

Uzun QT sendromunun UQT10 formu, Na^+ kanalının β-alt ünitesini (NaVβ4) kodlayan ve 11q23 bölgesinde lokalize olan *SCN4B* gen mutasyonları sonucu oluşmaktadır. Medeiros ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 4 jenerasyonlu bir UQT

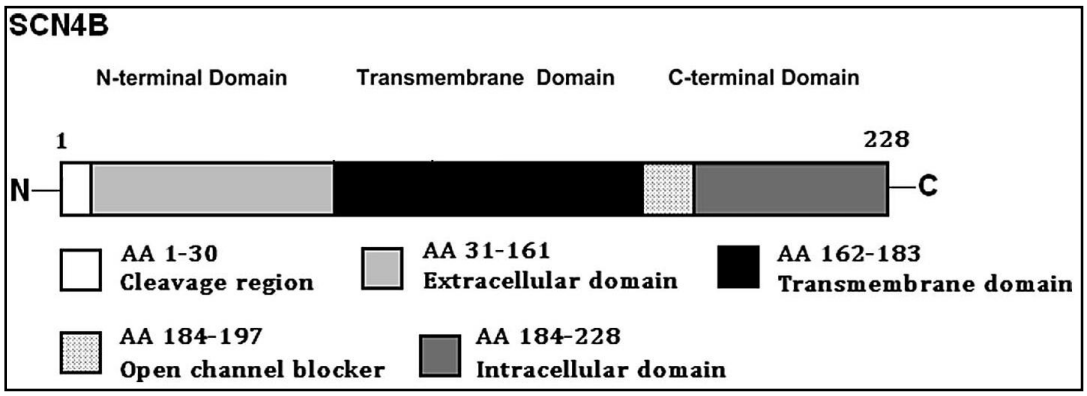
ailesinde, 9 bilinen uzun QT geni analizlerinde herhangi bir mutasyona rastlamamışlar; Na^+ kanalı beta alt üniteleri olan, *SCN1B, SCN2B, SCN3B* ve *SCN4B* genlerinde yaptıkları analiz sonucunda ise SCN4B geninde hasta bireyde heterozigot mutasyon saptayıp tüm aile bireylerinde eksik penetransla segregasyonunu göstermişlerdir (Medeiros-Domingo ve ark., 2007).

SCN4B geni 5 ekzonlu olup uzunluğu 19,5 kb'dır. Aynı zamanda, kromozom 11q23 bölgesine lokalize olup *SCN2B* geninin 12.5 kb aşağı kısmında yer alır (Yu ve ark., 2003) (Şekil 30).



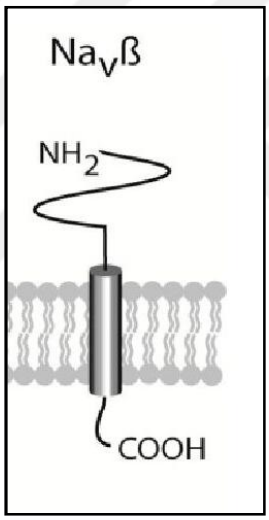
Şekil 30: *SCN4B* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/SCN4B/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

SCN4B proteini, N-terminal sinyal peptid, büyük bir ekstraselüler domain, tek bir transmembran alfa heliks ve kısa bir sitoplazmik C-terminal kısımdan oluşur (Şekil 31 ve 32). *SCN4B, SCN2B* ile %35 amino asit benzerliğine sahipken; *SCN1B* ile %20, *SCN3B* ile %22 benzerliğe sahiptir (Yu ve ark., 2003).



Şekil 31: Na kanalı β4 alt ünitesini kodlayan *SCN4B* geninin topolojisi. N: Amino-Terminal, C: Karboksi Terminal, AA: Amino asit (Li ve ark., 2013).

SCN4B mutasyonları OMIM'de Uzun QT sendromu 10 ve ailesel atriyal fibrilasyon tip 17 ile ilişkilendirilmiştir (OMIM#611819).



Şekil 32: Na kanalı β alt ünitesinin topolojisi. (http: //what-when-how.com/cardiac-arrhythmias-new-considerations/the-cardiac-ion-channels-cardiac-arrhythmias-part-1/. Erişim tarihi: 16.02.2016).

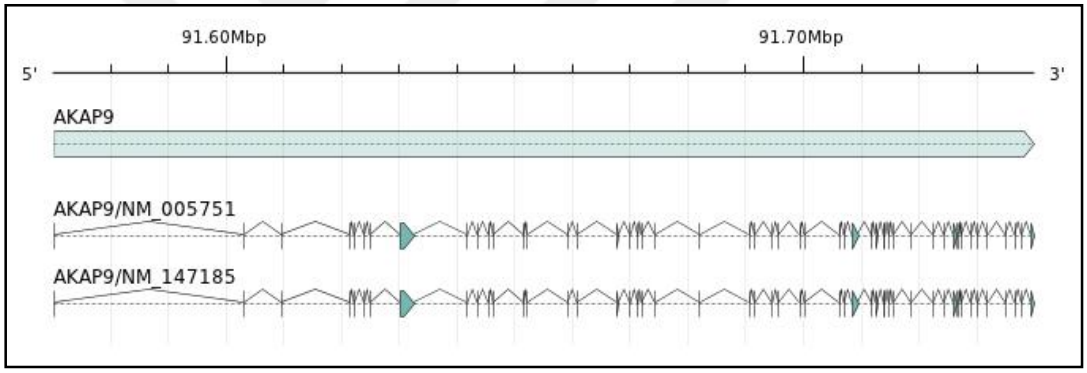
SCN4B'nin insan atriyumu ve ventriküllerindeki ifadesi kantitatif PZR ile gösterilmiştir (Olesen ve ark., 2011).

SCN4B, Na^+ kanalının açılıp kapanma kinetiklerini modüle eder ve belirli alfa sodyum kanallarının voltaj bağımlı aktivasyonunda negatif değişikliklere neden olurken voltaj bağımlı inaktivasyonu etkilemez (Yu ve ark., 2003).

4.2.5.11. Uzun QT sendromu tip 11 (UQTS11)

Hastalığın UQT11 formu *AKAP9* geni mutasyonlarına bağlı olarak meydana gelir (Chen ve ark, 2007). *AKAP9* geni, kinaz bağlanma protein 9 (yotiao) olarak adlandırılan bir protein kodlamaktadır. Protein içeriğindeki çift kıvrımlı bölgelerinin Çin'de kahvaltılarda sunulan kıvrımlı kızarmış hamura benzerliğinden ötürü "Yotiao" olarak isimlendirilmiştir. Aynı çalışmada, Yotiao'nun primer olarak N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerindeki hücre iskelet bağlantılarında bulunan NR1-bağlanma proteini olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca proteinin, iskelet kaslarında nöromüsküler bağlantı bölgelerinde de bulunduğunu göstermişlerdir (Lin ve ark., 1998).

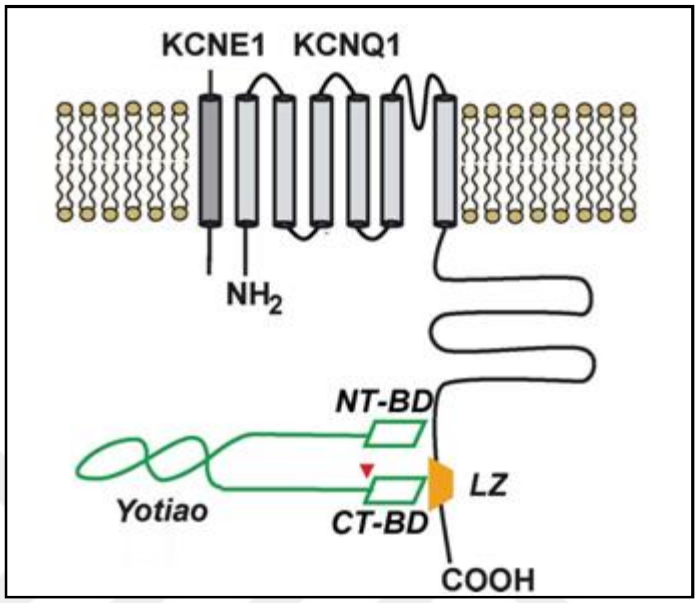
AKAP9 geni kromozom 7q21-q22 bölgesinde lokalize olup 51 ekzonludur ve 170 kb uzunluğundadır (Witczak ve ark., 1999).



Şekil 33: *AKAP9* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/AKAP9/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

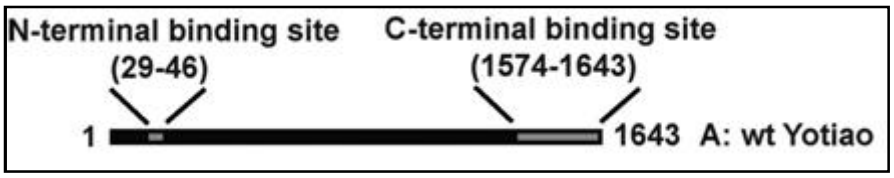
Yaklaşık 11.7 kb'lık açık okuma penceresi, 3908 amino asitlik ve 453 kD'luk bir protein kodlamaktadır. Dört farklı protein ürünü tanmlanmıştır (NP005742.4, NP671695.1, NP671700.1, NP671714.1). AKAP9, bir Kinaz Bağlanma (Anchor) Protein (AKAP) ailesine bağlı olup, cAMP bağımlı Protein Kinaz A (PKA) ve diğer protein kinazlar ve fosfatazların tip II regülatör alt ünitelerine bağlanabilen ve onların spesifik hücre içi kompartımanlarına tutunmalarını sağlayan iskele proteinleridir. AKAP9, sentrozomda ve Golgi aparatında bulunur. Farklı insan dokularında çeşitli splice varyantlarına rastlanmıştır. AKAP9 proteini, PKA

bağlanma domain, geniş bir çift kıvrımlı domain ve C-terminal bağlanma domaini içerir (http: //atlasgeneticsoncology.org/Genes/AKAP9ID42999ch7q21.html Erişim tarihi: 17.02.2016) (Şekil 34).



Şekil 34: i_{Ks}/Yatiao kompleksinin şematik diyagramı. Plazma membranında gri renkle I_{Ks} kanalının *KCNQ1* α- ve *KCNE1* β- alt üniteleri gösterilmektedir. Lösin fermuar motifi (LZ) *KCNQ1'*in C terminalinde bulunur ve Yotiao için bağlanma bölgesini oluşturur. AKAP Yotiao yeşil renkle gösterilmektedir. NT-BD: N-terminal bağlanma domaini, CT-BD: C-terminal bağlanma domaini, LZ: Lösin fermuar motifi (Chen ve ark., 2007).

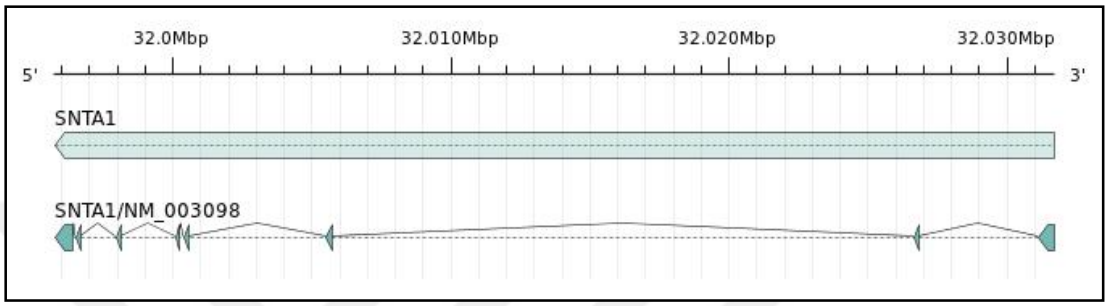
AKAP9 geninde nadir görülen mutasyonlar sonucu *AKAP9* geninin *KCNQ1* ile bağlanması engellenir (Şekil 35) ve *KCNQ1'*in PKA fosforilasyonu azalıp I_{Ks} kanalının cAMP'ye yanıtı oluşamaz ve aksiyon potansiyeli uzar (Chen ve ark., 2007).



Şekil 35: Yotiao üzerindeki *KCNQ1*-bağlanma domainlerinin şematize edilmesi. Yotiao proteini *KCNQ1* genine N-terminal kısmındaki 29-46. rezidüleri ve C-terminalindeki 1574-1643. rezidüleri ile bağlanır (Chen ve ark., 2007).

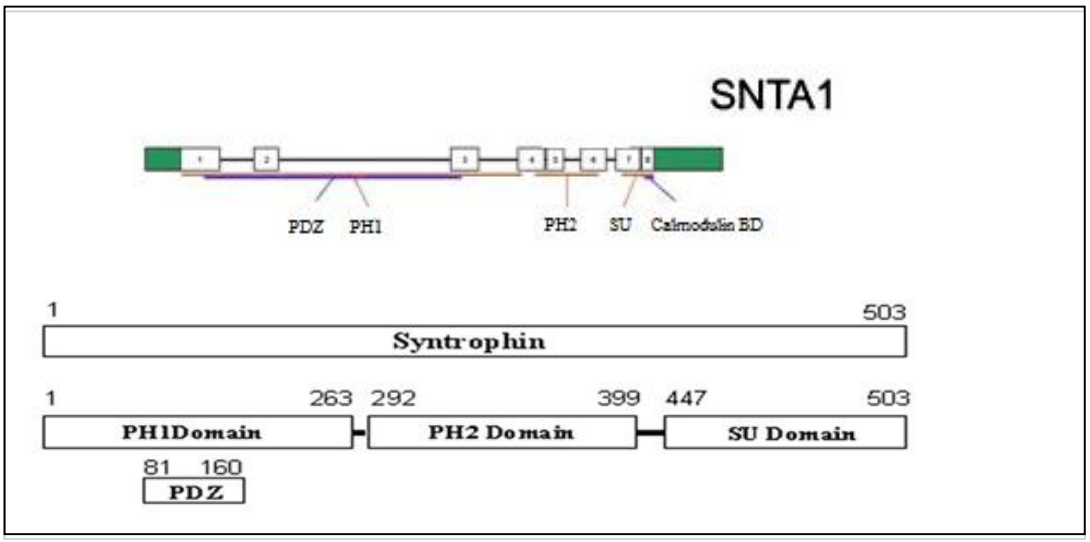
4.2.5.12. Uzun QT sendromu tip 12 (UQTS12)

Ueda ve arkadaşları 2008 senesinde kalıtsal UQT'ler ile İlgili olarak 20q11.21'de lokalize olan 8 ekzonlu ve 24 kb uzunluğundaki *SNTA1* geninde (Şekil 36) A390V mutasyonu saptamış ve hastalığın bu formuna UQT12 olarak adlandırmışlardır (Ueda K. ve ark., 2008).



Şekil 36: *SNTA1* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/SNTA1/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

SNTA1 geni, alfa-1-sintrofin olarak adlandırılan bir protein kodlar (Ahn ve ark., 1996). Sintrofinler, sitoplazmik periferal membranda distrofinle ilişkili protein kompleksinin komponentleri olan iskele (scaffold) proteinleridir. *SNTA1* geni, sintrofin gen ailesininin bir üyesidir ve kardiyak dokularda en yaygın şekilde bulunan bir sintrofin izoformunu kodlar. Sintrofin proteinin N-terminal PDZ domaini, kardiyak sodium kanalı Nav1.5'in por yapısını oluşturan alfa alt ünitesinin (*SCN5A*) C-terminali ile etkileşime girer (Gavillet ve ark., 2006). *SNTA1*, 4 domain içerir: plekstrin homoloji domaini 1 (PH1) plekstrin homoloji domaini 2 (PH2) PH1 içerisinde, $Na_v1.5$ ve $K_{ir}2.1$'in C-terminal domainleriyle etkileşen bir PDZ domaini ve sintrofini distrofine bağlayan bir sintrofin unique (SU) domaini içerir (Şekil 37). Bu protein aynı zamanda kalpte sürekli eksprese olan nöronal nitrik oksitsentaz (nNOS) ve plazma membranında Ca/Kalmodulin bağımlı ATPazın kardiyak izoformu olan PMCA4b ile etkileşime girmektedir (Williams ve ark., 2006; Oceandy ve ark., 2007; Willis ve ark., 2015). *SNTA1* varlığında, PMCA4b, nNOS tarafından üretilen Nitrik Oksitin (NO) güçlü bir inhibitörü gibi davranır. NO, ventriküler miyositlerde kalıcı I_{Na}'nın artışına neden olur (Ahern ve ark., 2000).

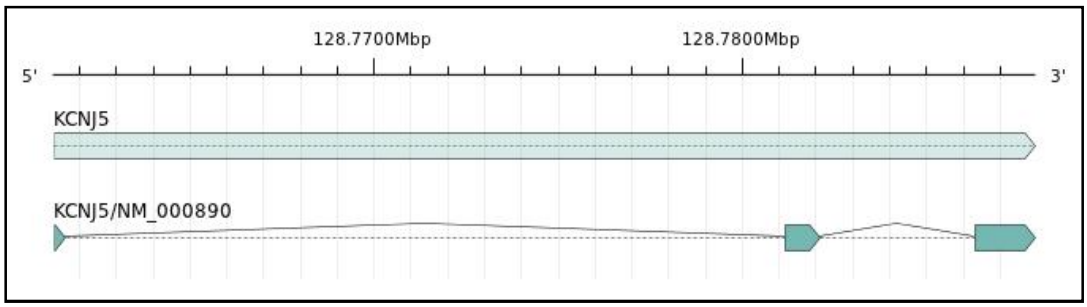


Şekil 37: α-1 sintrofin domainlerinin sematik diyagramı. Resimde üst kısımda genin 8 adet ekzonu ve domainlerin yerleşimi gösterilmektedir. Alt kısımda ise sintofin genindeki amino asit pozisyonlarına göre domainlerin başlangıç ve bitiş noktaları gösterilmektedir. 399–447. amino asitler, PMCA4b ile etkileşimi sağlarlar (Wlliams ve ark., 2006) (Hedley ve ark., 2009).

Mutasyon, UQT3'te olduğu gibi geç I_{Na}'da belirgin bir artışa neden olmaktadır (Bennett ve ark, 1995). Mutasyonun kardiyak sodyum kanalının fonksiyonu ve regülasyonunda nNOS kompleksi üzerinden etki gösterdiği tespit edilmiştir. Fonksiyon kazanımı tipte olan mutasyon sonucu *SNTA1* geninin PMCA4b ile bağlanması engellenmekte, buna bağlı olarak nNOS inhibisyonu kalkarak *SCN5A*'nın nitrozilasyonu artmakta ve böylece geç I_{Na} akımı artmaktadır (Cronk ve ark., 2007; Ueda ve ark., 2008).

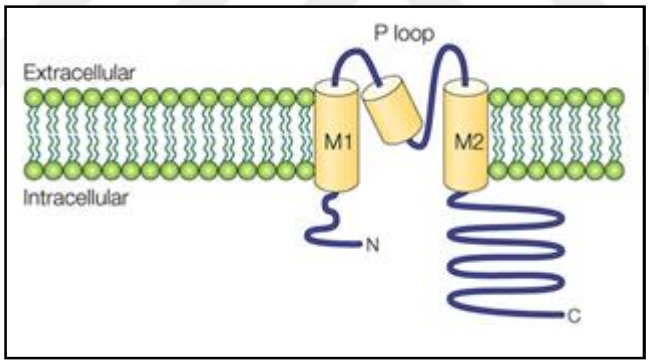
4.2.5.13. Uzun QT sendromu tip 13 (UQTS13)

2010 senesinde 4 kuşaklı bir Çinli ailede yapılan çalışmada 11q23.3-q23.4 bölgesine bağlantı sağlanmış ve aday gen olan *KCNJ5* (*GIRK4*) geninde yapılan dizi analizi sonucunda mutasyon saptanmıştır (Yang ve ark., 2010). *KCNJ5* geni, G proteinle açılıp kapanan iyon kanallarının bir tipi olan, G proteinle aktive içeri doğrultucu potasyum kanalı 4 olarak adlandırılan bir protein sentezlemektedir (Kubo ve ark., 2005). Gen 2 ekzonlu olup 419 aa.'lik bir protein kodlamaktadır (http: //www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Exons?db=core;g=ENSG00000120457;r=11: 128891356-128921035;t=ENST00000529694. Erişim tarihi: 17.02.2016).



Şekil 38: *KCNJ5* geni şematik diyagramı Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/KCNJ5/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

KCNJ5 gibi G protein duyarlı içeri doğrultucu potasyum kanalları, sitoplazmik N-terminal ve C-terminal bolgeleri ile G proteinlerin beta ve gamma alt üniteleri ile direkt olarak etkileşime girerler. KCNJ proteinleri, potasyum iyon seçici filtre bölgesi olan P bölgesini çevreleyen 2 transmembran domaini içerir (He ve ark., 2002) (Şekil 39).



Şekil 39: G proteinle aktive içeri doğrultucu potasyum kanalı 4 (GIRK) topolojisi. N-Terminal bölgesi, 2 transmembran domain (M1 ve M2) P loop ve C-terminal bölgesi (Flynn ve ark., 2001).

KCNJ5 ile Girk1'in (KCNJ3) beraber ekpresyonu sonucu, G protein-kapılı içe doğrultucu potasyum akımında belirgin bir artış olmaktadır; bu özelliği ile asetilkoline (ACh) bağlı kalp hızında yavaşlamaya neden olan atriyal potasyum kanalı I_{KACh}'ya benzemektedir (Ashford ve ark., 1994).

KCNJ5 geninden üretilen potasyum kanallarının, aldosteron hormonunun üretimini düzenlenmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir. Her böbreğin üst kısmında yer alan küçük, hormon üreten bezler olan böbrek üstü bezlerinde kanallar

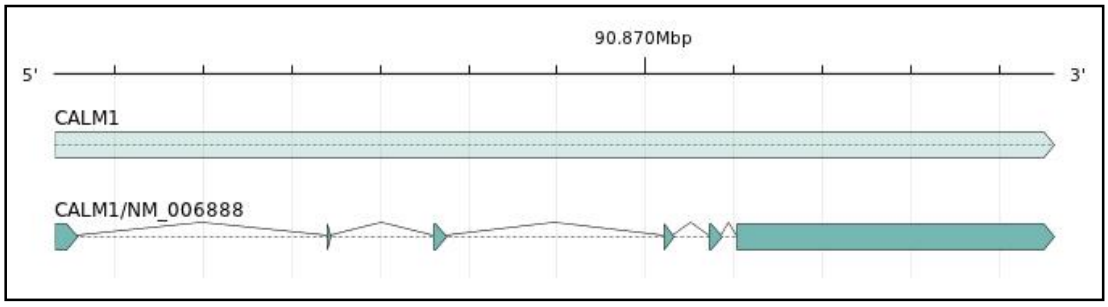
hücre içine iyonların akışını kontrol eder. İyon akışı hücre zarı, boyunca bir elektrik yükü oluşturur. Bu durum, aldosteron üretimini düzenleyen bazı biyokimyasal yolakların tetiklenmesine yol açar. Aldosteron, vücutta uygun tuz ve sıvı seviyelerini koruyarak tansiyonun kontrol altında tutulmasını sağlar (Fernandez-Rosa ve ark. 2015; Kitamoto ve ark., 2015).

KCNJ5 geni mutasyonları literatürde uzun QT sendromu tip 13 ve ailesel hiperaldosteronizm tip III ile ilişkilendirilmiştir (OMIM#600734).

4.2.5.14 Uzun QT sendromu tip 14 (UQTS14)

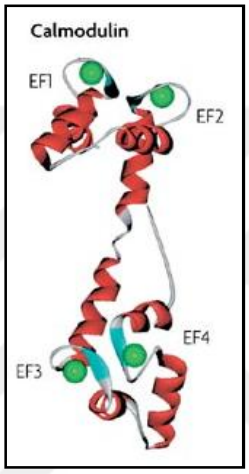
Belirgin derecede uzun QT uzaması ve hayatı tehdit eden ventriküler aritmiye sahip 3 çocukta yapılan araştırmada *CALM1* geninde heterozigot de novo mutasyonlar tanımlanmış ve hastalığın UQT14 formuyla ilişkilendirilmiştir (Crotti ve ark., 2013).

CALM1 geni kromozom 14q24-q31 bölgesine lokalizedir (Berchtold ve ark., 1993). *CALM1* geni 6 ekzonludur yaklaşık 10 kb uzunluğundadır (Şekil 40). Transkripsiyon başlama bölgelerine ait bir küme ATG translasyon-başlangıç kodonunun 200 bç yukarısında tanımlanmıştır ve 5’ bölgede ve intron 1’de bir takım varsayımsal regülatör elementler bulunur. Genin 5’ UTR kısmında, kısa bir CAG üçlü nükleotid tekrarı tanımlanmıştır (Rhyner ve ark., 1994) .



Şekil 40: *CALM1* geni şematik diyagramı. Genin kromozomal lokasyonu, ifade olan transkriptleri ve ekzonları şekilde gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/*CALM1*/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

CALM1 geni Kalmodulin 1 olarak adlandırılan bir protein kodlar. Kalmodulin 1, şimdiye kadar yaklaşık 20 üyesi bulunan kalsiyum modüle (kalmodulin) protein ailesinin bir üyesidir. Özellikle sitozolde, sitozolün membrana bakan tarafında fazla miktarda bulunurlar ve kalsiyuma yüksek eğilimleri vardır. Kalmodulin 149 aa içerir ve 4 kalsiyum bağlanma EF motifi içerir (Şekil 41). Kalmodulin büyümede, hücre döngüsünde olduğu kadar sinyal iletiminde, nörotransmitter sentezinde ve salınmasında görev alır (http: //www.omim.org/entry/114180, Erişim tarihi: 18.02.2016).



Şekil 41: Kamodulin'in 4 adet Ca2+ yüklü kristal yapısı. Kalmoduline bağlı Ca^{+2}'ler yeşil renkle gösterilmiştir (Robert, 2007).

Kalmodulin tüm ökaryotik hücrelerde ifade olan kalsiyum bağlayan haberci proteindir. Kalmodulin, kalsiyum iyonunu bağlayarak kalsiyum sinyallerini ileten ve çeşitli hedef proteinler ile etkileşimini değiştiren çok fonksiyonlu ara madde haberci proteinidir (Stevens ve ark., 1983; Chin ve ark., 2000).

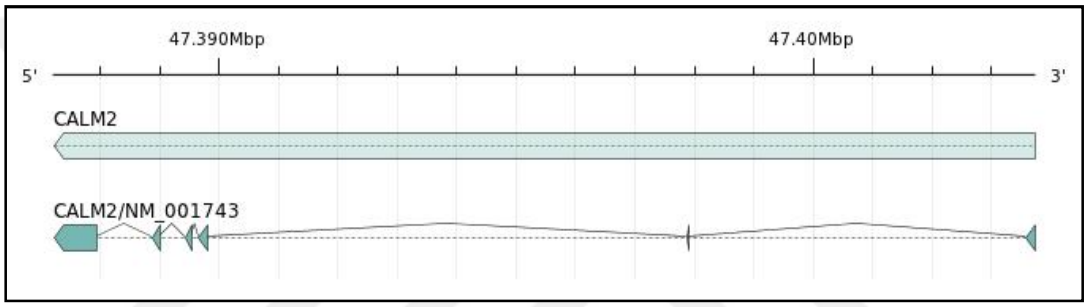
CALM1 mutasyonları OMIM'de UQTS14 ve katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi (KPVT) ile ilişkilendirilmiştir (OMIM#114180). Makita ve arkadaşları KPVT ile ilişkili mutasyonların, UQTS'de görüldüğü kadar kalsiyum afinitesini bozmadığını kaydettiler (Makita ve ark., 2014).

Yapılan foksiyonel çalışmalarla, mutant kalmodulinde yabanıl tipe oranla kalsiyum eğiliminin düştüğü gösterilmiştir (Nyegaard ve ark,. 2012; Crotti ve ark., 2013).

4.2.5.15 Uzun QT sendromu tip 15 (UQTS15)

Crotti ve arkadaşları, QTc uzaması ve çoklu epizodlu ventriküler fibrilasyonlu ispanyol kökenli bir kızda de novo heterozigot bir *CALM2* mutasyonu tanımladılar ve *CALM2* genini uzun QT 15 formuyla ilişkilendirdiler (Crotti ve ark., 2013).

CALM2 geni 6 ekzonludur ve yaklaşık 16 kb uzunluğundadır (Toutenhoofd ve ark., 1998) (Şekil 42). Gen kromozom 2p21.3-p21.1 bölgesinde lokalizedir (McPherson ve ark., 1991). *CALM2* geni beyin, kalp, plasenta, akciğer, karaciğer, iskelet kaslarında yüksek oranda ifade olurken pankreasta düşük ifadeye rastlanmıştır (Toutenhoofd ve ark., 1998).



Şekil 42: *CALM2* geni ekzonları. Genin 6 ekzonu yeşil ok kutucuklarla gösterilmektedir (http: //www.bioinfo.mochsl.org.br/miriad/gene/CALM2/, Erişim Tarihi: 19.02.2016).

Makita ve arkadaşları 2014 yılında 5 UQTS sendromlu hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, *CALM2* geninde 5 farklı de novo yanlış anlamlı mutasyona rastladılar. Fonksiyon çalışmaları sonucu, mutant tipte yabanıl tipe oranla kalsiyum bağlanma eğiliminde düşüş gözlendi (Makita ve ark., 2014).

4.2.6. UQT için genotip-fenotip korelasyonu

4.2.6.1. Hastalığın kalıtım kalıbı ve genotipe özgü moleküler patoloji

Uzun QT sendromunun otozomal dominant formu Romano-Ward sendromu olarak bilinir. *KCNQ1* (UQT1), *KCNH2* (UQT2), *SCN5A* (UQT3), *ANK2 (UQT4), KCNE1* (UQT5), *KCNE2* (UQT6), *CAV3* (UQT9), *SCN4B* (UQT10), *AKAP9*

(UQT11), *SNTA* (UQT12), *KCNJ5* (UQT13), *CALM1* (UQT14) ve *CALM2* (UQT15)'de meydana gelen heterozigot mutasyonlar hastalığın otozomal dominant formu ile ilişkilendirilmektedir (http: //www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1129/ Erişim tarihi: 24.01.2016). *KCNQ1* ya da *KCNE1*'de meydana gelen homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyonlar ise UQTS'nin resesif formu olarak bilinen ve daha nadir görülen Jervell ve Lange-Nielsen syndromu (JLNS) ile ilişkilendirilmektedir. UQT1, UQT2 ve UQT3 genleri, hastalığın %75'inden sorumluyken; diğer genler sadece %5 oranda hastalığın nedenini açıklamaktadır. Geri kalan %20 UQTS hastasında sorumlu olan genler henüz tanımlanmamıştır (Schwartz ve ark., 2013a). UQTS ile İlgili tanımlanmış mutasyonların %35'ini, I_{Ks} üreten K^+ kanalı α alt ünitesini kodlayan *KCNQ1* genindeki fonksiyon kaybı mutasyonları oluşturur (UQT1 fenotipi). UQTS2'de IKr akımını etkileyen *KCNH2* fonksiyon kaybı mutasyonları, UQTS hastalarının %30'unda görülür ve hastalığın en yaygın ikinci formudur. Hastalığın üçüncü yaygın formu olan UQT3 ise, içeri depolarize olan I_{Na}'yı etkilenen heterozigot *SCN5A* fonksiyon kazanımı mutasyonları sonucu meydana gelir ve UQTS hastalarının %10'unda görülür (Baskar ve Aziz, 2015).

4.2.6.2. Hastalığın multisistem tutulumu

QT aralığının uzamasına ilave olarak, multi-sistem tutulumu, uzamış QTc ile ilişkili koşulların çok az bir kısmını oluşturur. JNLS'de, uzamış QT aralığının yanı sıra konjenital bilateral sensörinöral işitme kaybı da görülür. Bu, hastalığın daha ağır bir formunu oluşturur ve kardiyak olaylar için yüksek bir risk söz konusudur. Aşağıdaki üç çoklu sistem koşulları uzamış QTc ile ilişkilidir; ancak kesin olarak UQTS olarak sınıflandırılamayıp "Atipik UQTS" olarak değerlendirilirler (Schwartz ve ark., 2013a; Tester ve ark., 2014).

Bir de novo heterozigot *CACNA1C* mutasyonu sonucu oluşan Timothy Sendromu, AKÖ için büyük risk teşkil eden belirgin QTc uzaması yanı sıra sindaktili, konjenital kalp hastalığı, otizm ve diğer dismorfik özelliklerle karakterize olan bir hastalıktır (Splawski ve ark., 2004). *KCNJ2* geni heterozigot mutasyon sonucu meydana gelen Andersen-Tawil sendromu, QTc uzaması yanısıra, paraliz,

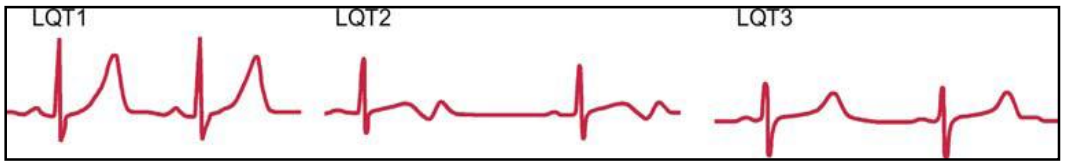
düşük yerleşimli kulaklar, mikrognati ve klinodaktili ile beraber seyreder ve AKÖ riski düşüktür (Tristani-Firouzi ve ark., 2002). *ANK2* geni heterozigot mutasyon sonucu oluşan Ankirin-B Sendromu da çoklu kardiyak iyon kanallarındaki bozulmaya bağlı olarak uzun QTc yanısıra çeşitli derecelerde sinüs nod disfonksiyonu, atriyal fibrilasyon ve katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi ile ilişkilendirilmiştir (Mohler ve ark., 2004).

4.2.6.3. Genotipe özgül T-dalga morfolojisi

Ventriküler miyokardiyal aksiyon potansiyeli, miyokardiyum katmanlarında dağınık olarak bulunan etkilenmiş iyon kanallarına göre değişkenlik gösterir. QT aralığı süresinin genotipe bağlı olarak değiştiğine dair bir bulgu yoktur, fakat çoklu ST segmenti ve T dalga morfolojisi belirli bir genotipe özgü davranış sergiler (Zareba ve ark., 2006).

Az sayıdaki örnek nedeniyle, bu ilişki en yaygın genotipler olan UQT1, UQT2 ve UQT3 ile sınırlandırılmıştır. UQT1'de geniş tabanlı bir T-dalgası, UQT2'de düşük genlikte T dalgası, UQT3'te ise geç pikli T-dalgası görüldüğü bildirilmiştir (Moss ve ark., 1995). Bu bağlantı in-vitro olarak ta belirli iyon kanallarındaki etkilenme modelleri kullanılarak gösterilmiştir (Antzelevitch ve ark., 2003).

T-dalga morfolojilerine ait ileri tarifler, 284 UQT taşıyıcısı üzerindeki çalışmayla genişletilmiş ve 4 adet UQT1, 4 adet UQT2 ve 2 adet UQT3'e ait 10 tipik kalıp tasvir edilmiştir. Bu çalışmada, UQT1 taşıyıcılarının, I_{Ks} kanallarının etkilenmesiyle aksiyon potansiyel uzamasının hep görüldüğü normal ya da geniş tabanlı bir T-dalga modeline sahip oldukları gösterildi. UQT2 taşıyıcıları, büyük olasılıkla epikardiyum ya da endokardiyuma kıyasla miyokardiyum hücrelerinde aksiyon potansiyeli süresindeki yüksek artış nedeniyle artan transmural dağılım sonucunda, bir bifid-T dalgası kalıbına sahip oldukları bildirildi. UQT3 hastalarında ise, sodyum kanallarındaki açılmanın ve bu nedenle aksiyon potansiyelinin 2. fazının gecikmesine bağlı olarak geç bir T-dalgası mevcuttur (Zhang ve ark., 2000) (Şekil 43).



Şekil 43. UQT hastalarında rastlanan genotipe özgül T-dalga morfolojisi. UQT1 hastalarında tipik olarak geniş bir T-dalgası, UQT2 hastalarında bifid-T dalgası ve UQT3 hastalarında ise geç pikli bir T-dalgası görülür (Baskar ve Aziz, 2015).

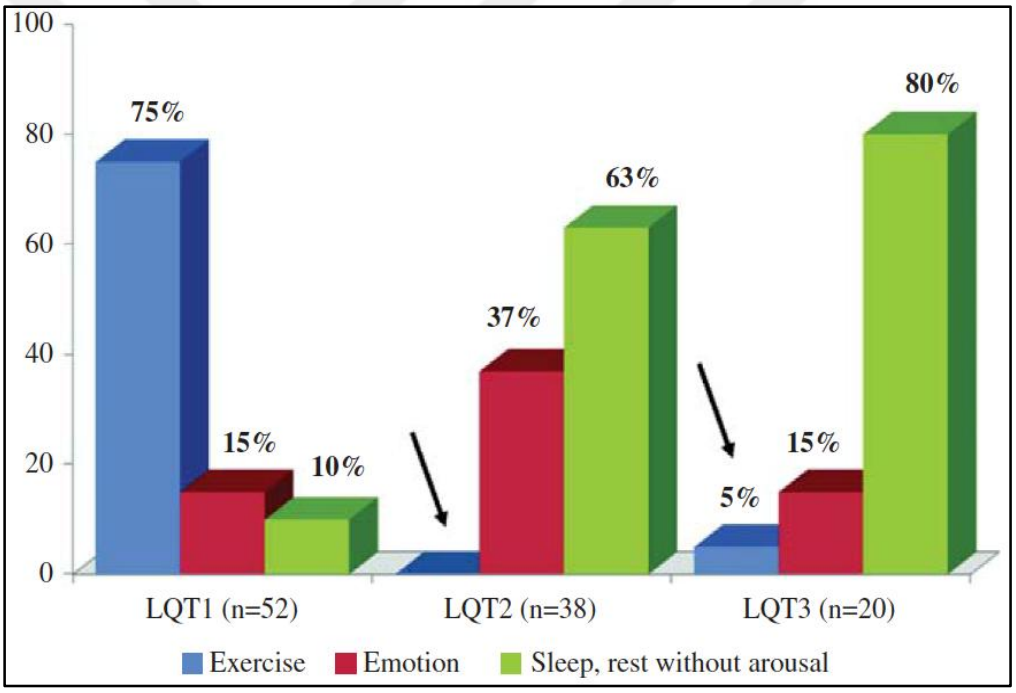
4.2.6.4. Genotip ve ekzersiz testi

UQT hastalığı eksik penetrans gösterir, bazı taşıyıcılar düşük penetrans ile normal bir dinlenme QT aralığına sahipken TdP riskleri ve etkilenmiş çocuk doğurma olasılıkları vardır (Priori ve ark., 1999). Klinik bulguları olmayan ve dinlenme EKG'si normal çıkan bu gizli taşıyıcılar, genetik test yokluğunda gözden kaçabilir. Eğer QT aralığı normal ya da sınırdaysa, ekzersiz stres testi (EST) sonrasında 4. dakikadaki geç kazanım boyunca QT aralığındaki uzamanın tespiti UQTS'ler için hassas bir test olarak bilinmektedir. Ekzersiz testinde genotipe özgü cevap gösterilmiştir; UQT1 hastalarının UQT2 ile kıyaslandığında kazanım fazında (1 dakika) daha belirgin uzamış bir QT aralığına sahip oldukları gösterilmiştir (Sy ve ark., 2011). Bunun, dinlenme fazındaki parasempatik yanıt başlangıçlı ve sekonder olarak egzersiz aracılı sempatik yanıtın süresine bağlı olduğu düşünülmektedir. Çocuklarda 7. dakikadaki geç kazanım fazının UQT'nin tahmininde en iyi zaman aralığı olduğu önerilmiştir ve kazanılan $\Delta QTc_{(7min-1min)}$ UQT1 için = 1,5±28,1 ms Bulunurken; UQT2 için = 43,9±31,8 ms belirlenmiştir ($P<0.0001$). $QTc_{(7min-1min)}$ >30 ms UQT2'yi UQT1'den ayırır. UQT2 hastaları belirgin şekilde daha uzun ΔQTc'ye sahiptir (Aziz ve ark., 2011).

4.2.6.5. Kardiyak olaylar için genotipe özgül tetikleyiciler

Fiziksel egzersiz gibi koşulların neden olduğu sempatik aktivasyon, I_{Ks} aktivasyonunu tetikleyerek yüksek kalp hızında kısa ventriküler repolarizasyona yol açar ve b1-adrenerjik stimülasyona bağlı olarak ortaya çıkan depolarizasyonu engeller. Dolayısıyla UQT1 hastaları, azalmış I_{Ks} ile egzersiz sırasında uzamış

ventriküler repolarizasyonu geliştirmeye eğilimliyken UQT2 ve UQT3 hastaları ise sağlam I_{Ks} varlığı ile bu olaya karşı korunurlar. Yüksek kalp hızında QT aralığındaki bu aksama, TdP atağıyla sonlanabilecek geç depolarizasyon için yüksek risk doğurur. Schwartz ve arkadaşlarının 2001 yılında 670 asemptomatik hastayı kapsayan çalışmalarında, UQT1 hastalarının ölümcül olan veya olmayan kardiyak semptomlarının çoğunluğunun egzersiz veya stress (özellikle yüzme) ile tetiklendiğini gösterdiler (Schwartz ve ark., 2001) (Şekil 44). Ayrıca, UQT2 hastaları ani işitme uyaranlarına karşı son derece duyarlıdırlar. Buna karşılık, UQT3 hastaları, uyku sırasında kardiyak olaylar için daha eğilimlidirler. Bu durum uyku sırasında oluşan bradiaritmiler tarafından TDP'nin tetiklemesi ile açıklanmaktadır (Schwartz ve ark., 2001).



Şekil 44: UQT hastalarında kardiyak olayların genotipe özgül tetikleyicileri Grafikte 110 UQT hastasında hayatı tehdit eden olaylar (Kardiyak arrest ya da AKÖ) için genotip ve tetikleyicileri gösterilmektedir. Oklar I_{Ks} akımını etkileyen mutasyon taşımayan hastalarda sempatik aktivasyon sırasında bu olayların nadir varlığına işaret etmektedir (Baskar ve Aziz, 2015).

Bilinmeyen bir nedenle, UQT taşıyıcısı kadınlar doğum sonrası dönemde kardiyak olaylar için yüksek risk altındadırlar. Bu durum büyük olasılıkla, hormonel değişiklikler, uyku bozukluğu ve bebek ağlaması gibi ani işitsel tetikleyicileri içeren birçok faktöre bağlı olarak gerçekleşir (Khositseth ve ark., 2004).

4.2.6.6. Genotip ve risk sınıfları

Yapılan çalışmalarda kardiyak olay yaşı uzun QT sendromunun tipleri arasında farklı bulunmuş olup, ortalama kardiyak olay yaşı UQTS-1 için 9, UQTS-2 için 12, UQTS-3 için ise 16 olarak belirlenmiştir. Kardiyak olay gelişme oranları ise UQTS-1 için %63, UQTS-2 için %46, UQTS-3 için ise %18 olarak bildirilmiştir (Zareba ve ark., 1998). Erkeklerde kardiyak olay riski, özellikle UQTS-1 ve UQTS-2 tiplerinde, daha kısa QT süresi nedeni ile kadınlara oranla daha azdır (Lehmann ve ark., 1997). Ancak özellikle UQTS-1'de puberteye kadar olan dönem içerisinde kardiyak olay riski erkeklerde kadınlara oranla daha yüksektir (Locati ve ark., 1998).

Aşağıda ilk 3 UQT genotipine özgü fenotipik özellikler gösterilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5: Konjenital UQTS'de ilk 3 genotipe özgü klinik (Bektaşoğlu ve ark., 2009).

	UQT1	UQT2	UQT3
İnsidans	**Sık**	**Sık**	**Nadir**
Başlangıç	**Çocuk**	**Çocuk**	**Adolesan**
Adrenerjik tetikleyiciler	**++++**	**++**	**+ (Yavaş kalp hızı)**
Adrenerjik tetikleyiciler	**QT kısalmaz**	**QT kısalmaz (%50)**	**QT belirgin kısalma**

KCNQ1 geninde homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyonu olan otozomal resesif JLNS hastalarının %80'i 40 yaşından önce AKÖ ve kardiyak arrest için son derece yüksek risk altındadırlar (Schwartz ve ark., 2006). Birden fazla UQT geninde ≥2 mutasyona sahip UQTS hastalarının, tek mutasyon taşıyıcılarına göre daha uzun QT aralığı ve ciddi kardiyak olaylar için artan riske sahip oldukları gösterilmiştir (Mullally ve ark., 2013).

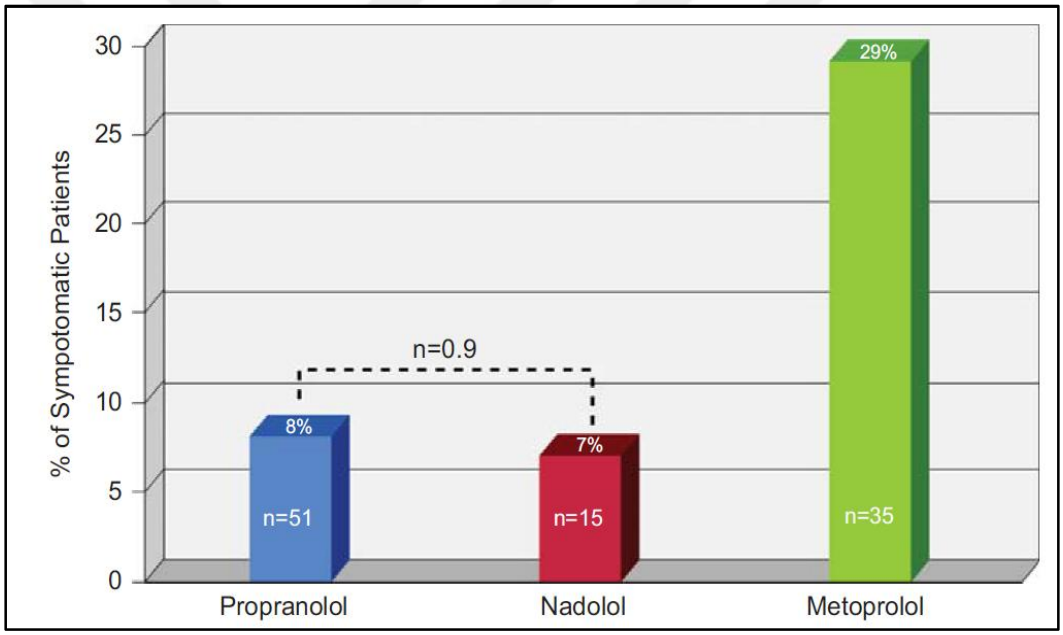
Etkilenen genin yanı sıra gendeki mutasyonun konumu da önemlidir. *KCNQ1* geninde özellikle C loop bölgesinde meydana gelen mutasyonların ciddi kardiyolojik olaylar için yüksek risk taşıdıkları bildirilmiştir. Yüksek riskin, egzersiz gibi β1-adrenerjik bir uyaran sırasında protein kinaz A aracılı I_{Ks}'nin aktivasyonunun kaybıyla oluştuğu düşünülmektedir (Barsheshet ve ark., 2012).

4.2.6.7. Genotipe özgü tedavi

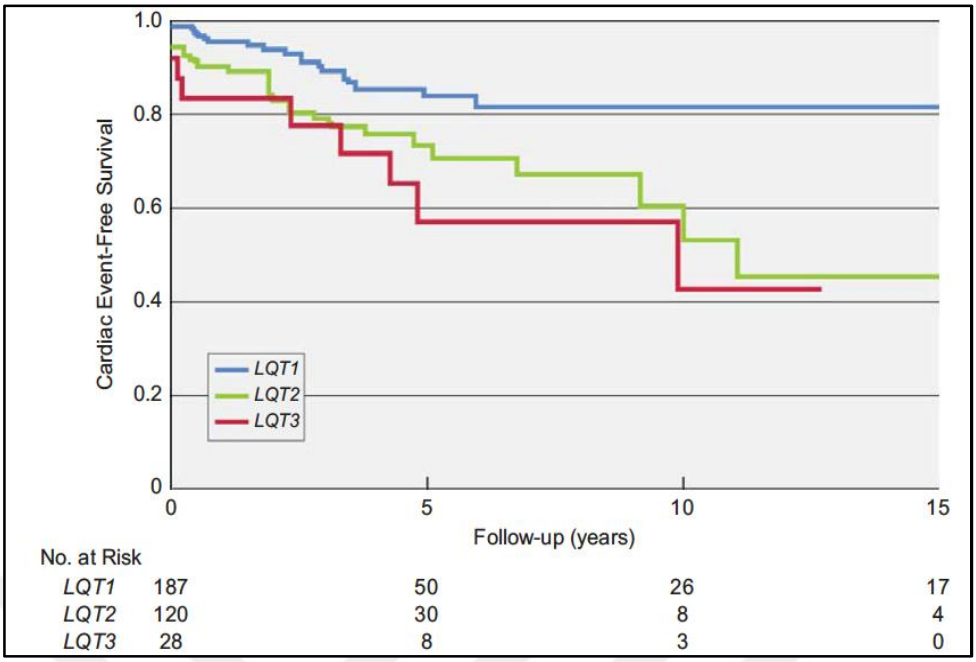
Egzersiz ile ilişkili kardiyak olaylar için yüksek risk nedeniyle, UQT1 hastalarının özellikle yüzme gibi rekabetçi sporlardan kaçınmaları tavsiye edilirken; bazı merkezler ise yeterli tedavi ve danışmanlık altında hastalara daha hafif bir strateji uygularlar (Schwartz ve ark., 2013b; Johnson ve Ackerman, 2013). İşitsel uyaranların, AKÖ ile ilişkisi nedeniyle, UQT2 hastalarının özellikle uykudan uyanma sırasında yüksek sesli ortamlardan uzak durmaları gerekir. Bunun için, yatak odasından çalar saatler, telefonların çıkarılması ve ebeveynler tarafından UQT2 hastalarının daha nazik uyarılması gerekmektedir. UQT2'li postpartum kadınların doğumdan sonraki ilk 3-4 ay için özellikle yenidoğanı gece beslemede yeterli desteği almaları gerekir. UQT2'li hastalar düşük potasyum seviyelerine karşı hassastırlar ve potasyum düzeylerinin yeterli seviyede muhafaza edilmesi gerekir (Schwartz ve ark., 2005).

UQTS için tedavinin temelini, ß-bloker tedavisi oluşturur (Şekil 45); propranolol ve nadolol tedavisi sonrasında, kardiyak olayların tekrarlama sıklığı oldukça düşer (Chockalingam ve ark., 2012). ß-bloker tedavisi tüm UQT genotipleri için önerilmesine rağmen, UQT2 hastalarda yeterli b-blokajına rağmen, UQT1 hastalarıyla kıyaslandığı zaman kardiyak olayların %6-7 oranda arttığı tespit edilmiştir (Priori ve ark., 2004) (Şekil 46). Beta bloker tedavisi sırasında, yüksek risk altındaki (QTc>600 ms) UQT3 hastalarında kardiyolojik olaylar %3 sıklıkla meydana gelir (Schwartz ve ark., 2012). Bir sodyum kanal blokeri olan mexiletine tedavisi altında UQT3 hastalarında QT aralığının kısaldığı gösterilmiştir. UQT3 hastalarında mexiletine etkisi ilk doz sonrasında EKG monitorizasyonu ile test edilerek, bu tedaviye verilen mutasyon spesifik cevap, PR aralığının uzama riski, QRS genişlemesi ve bir Brugada modelinin gelişmesi gibi parametreler incelenmelidir (Ruan ve ark., 2007). Fakat mexiletine çoğunlukla izole olarak kullanılmaz ve beta bloker tedavisine ilave olarak kullanılır. Özgül bir geç sodyum kanal blokeri olan Ranolazine de UQT3 hastalığının tedavisinde umut verici bulgular elde edilmiştir (Moss ve ark., 2008). Funasako ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise intra-venöz olarak enjekte edilen mexiletilene infüzyon testinin, UQT1 ve UQT2'ye kıyasla, UQT3 hastalarında QT aralığını kısalttığı gösterilmiştir (Funasako

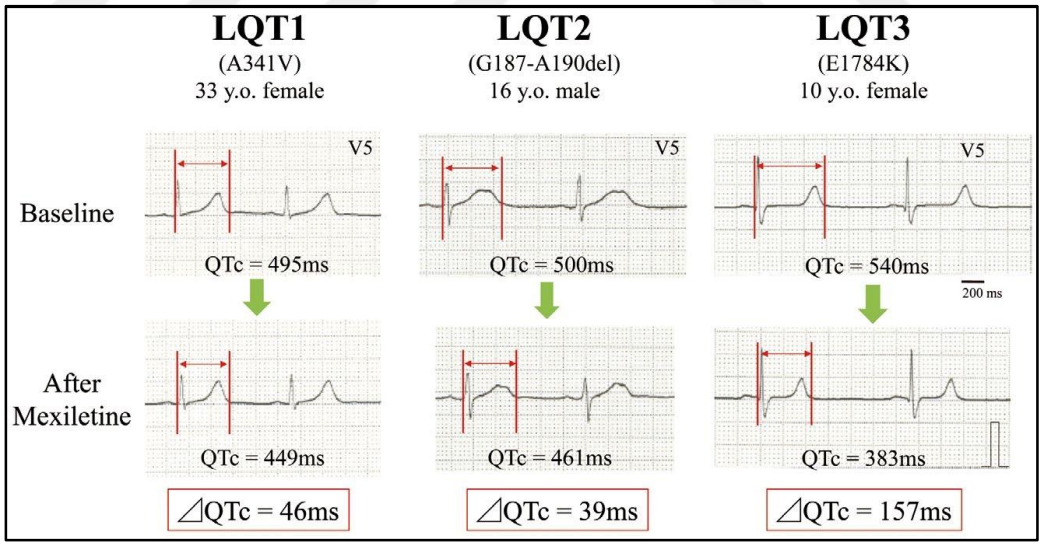
ve ark., 2016) (Şekil 47). JLNS ve Timothy sendromlu hastalar beta bloker tedavisine rağmen kardiyak olaylar için yüksek risk altındadırlar; bundan dolayı bu hastalara profilaktik implante edilebilir kardioverter-defibrilatör (ICD) ve sol kardiyak sempatik denervasyonu (LCSD) önerilir (Schwartz ve ark., 2013a). QTc süresi, implante edilen yaş ve terapiye rağmen kardiyak olayları dikkate alan M-FACT olarak bilinen bir puanlama sistemi, ICD implante edilecek UQT hastalarının belirlenmesi amacıyla geliştirilmiştir (Schwartz ve ark., 2010). LCSD, kalpte nöroepinefrinin temel kaynağını bloke eder ve UQTS hastalarının tedavisinde önemli bir role sahiptir. LCSD, maksimum beta-blokajına rağmen semptomatik ya da AKÖ riski yüksek ve tekrarlayan ICD atakları olan ve beta bloker tedavisi fayda etmeyen hastalara önerilir (Schwartz ve ark., 2014).



Şekil 45: UQT hastalarında çeşitli tipte ß-bloker kullanımına bağlı olarak kardiyak olayların oluşum yüzdesi (Baskar ve Aziz, 2015).



Şekil 46: B-Blokerlerin kullanımı ile UQT hastalarında kardiyak olaysız sağ kalımın Kaplan-Meier analizi Genotipe göre ß-bloker kullanımı sonrası kardiyak olaysız sağ kalımın kümülatif analizi. Kardiyak olaylar, senkop, kardiyak arrest ve ani kalp ölümünü içerir (Baskar ve Aziz, 2015).



Şekil 47: UQT1, UQT2 ve UQT3 hastalarında mexiletine infüzyon testi öncesi ve sonrasındaki EKG görüntüsü. Mexiletilene infüzyon testi sonrası, hastaların tamamında düzeltilmiş QT (QTc) aralığı kısalmasına rağmen, UQT3 hastalarındaki kısalma (157 ms) UQT1 (46 ms) ve UQT2 (39 ms) ile kıyaslandığında daha fazladır (Funasako ve ark., 2016).

Hastaya özgül uyarılmış pluripotent kök hücrelerden (IPSC'ler) farklılaştırılmış kardiyomiyositler, son yıllarda uzun QT sendromunu içine alan kalıtsal kardiyak aritmilerin modellemesinde kullanılmaktadırlar (Itzhaki ve ark., 2011). Uzun QT sendromunda gene ve mutasyona özgü ilaç seçimine dayalı tedavi stratejileri geliştirilmeye çalışılmaktadır (Kass ve Moss, 2006). Bazı UQT hastalarında meydana gelen farklı genlerdeki mutasyon birlikteliği, klinik fenotipi ağırlaştırıyor olabilir ve farmakolojik terapilere benzersiz bir yanıt verebilirler (Westenskow ve ark., 2004). Ayrıca, aynı UQT mutasyonuna sahip hastalarda dahi, diğer genetik modifiye edici mutasyonlara bağlı olarak klinik oldukça değişken olabilir. Hastaya özgül IPSC'ler, bu karmaşık genetik bilgiler ışığında hastaya özgü iyon kanal bozukluklarının tedavisinde, fonksiyon kanal aktivitesinin tekrar kazanımında etkili bir tedavi yaklaşımı olabilir (Terrenoire ve ark., 2013).

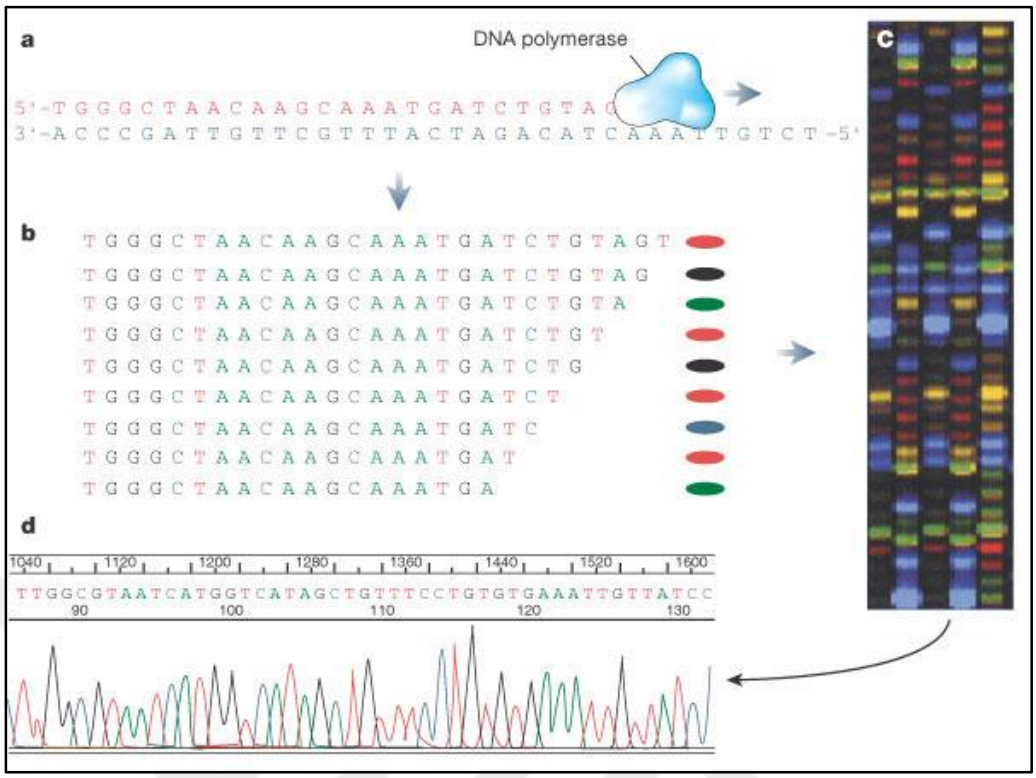
4.3. Yeni Nesil Sekanslama Teknolojileri

Ekzon, bir genin işlevsel DNA dizisi olup, olgun mRNA'da RNA işlenmesi sırasında intronlar uzaklaştırıldıktan sonra geriye kalan ve transkribe olan dizidir. Ekzom ise tüm genomda yerleşim gösteren ekzon dizilerinin tamamıdır. İnsan genomunun sadece %1,5'lik kısmı (30 MB) kodlayan ekzon bölgelerini içerir. DNA'da yaklaşık 180 000 ekzon bölgesi tanımlanmıştır (Ng ve ark, 2009). Ekzom, genomun çok küçük bir kısmını içermesine rağmen, genetik hastalıklarla ilişkili olan mutasyonların %85'i genomun ekzon bölgelerinde saptanmıştır (yanlış anlamlı, stop kodon, çerçeve kaymasına neden olan küçük delesyon ve insersiyonlar, sessiz mutasyonlar, splice bölge mutasyonları, vb.) (Choi, 2009). Ekzom sekanslama yöntemi, Mendelyen ya da tek gen hastalıklarının genetik temellerinin tayin edilmesinde kullanılan en etkin metodlardan birisidir (Bamshad, 2011). Tüm genom sekanslamaya göre 6 kat daha düşük maliyet ve yaklaşık 15 kat daha az veri elde edilerek hastalıkla İlgili mutasyonların büyük çoğunluğu tayin edilebilir. (Bieseckerve ark, 2011). Kanser, diyabet, UQT, obezite, Alzheimer Hastalığı gibi heterojen hastalıklarla İlgili patojenik mutasyonların ve aday genlerin tespit edilmesinde altın bir standart olarak kabul edilir.

Yeni nesil sekanslama teknolojileri DNA dizi analizi temeline dayanır.

DNA dizi analizi, bir DNA parçasında bulunan A, C, G, T nükleotid sıralarının belirlenmesi olarak tanımlanmaktadır. DNA parçalarına ait bu nükleotid sıralarının belirlenmesi; DNA bölgesinin hangi proteini kodlayabileceğine ilişkin bilgilerin elde edilmesinde, genomik DNA dizisi ile tamamlayıcı DNA'ya ait dizi bilgilerinin karşılaştırılarak ekzon ve intronların ortaya çıkarılmasında, DNA dizi analizi ile gen aktivitesini kontrol eden bölgelerin tanımlanmasında, spesifik DNA dizilerinin belirlenmesi ile evrimsel akrabalık ilişkilerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır.

DNA dizi analizi ile İlgili araştırmalar ilk olarak 1960'lı yıllarda başlamıştır. 1977 yılında Allan Maxam-Walter Gilbert ve Frederick Sanger tarafından geliştirilen iki farklı DNA dizi analizi yöntemi yaygın kullanım alanı bulmuştur (Maxam ve Gibert, 1977; Sanger ve ark., 1977). Enzimatik DNA sentezine dayanan ve günümüzde en yaygın kullanılan DNA dizi analizi tekniği olan Sanger yönteminde dizisi saptanacak olan DNA ipliği yeni sentezlenecek iplik için kalıp olarak kullanılır. Yöntemin temeli DNA polimerazın dNTP'lerin (deoksiribonükleozit trifosfat) yanı sıra, deoksiribozun 3' pozisyonunda OH grubu taşımayan ddNTP'leri de (dideoksiribonükleozit trifosfat) substrat olarak kullanabilmesine dayanır (Klug ve Cummings, 2000). Floresan temelli otomatik dizi analizi Smith ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Smith ve ark., 1986) (Şekil 48).

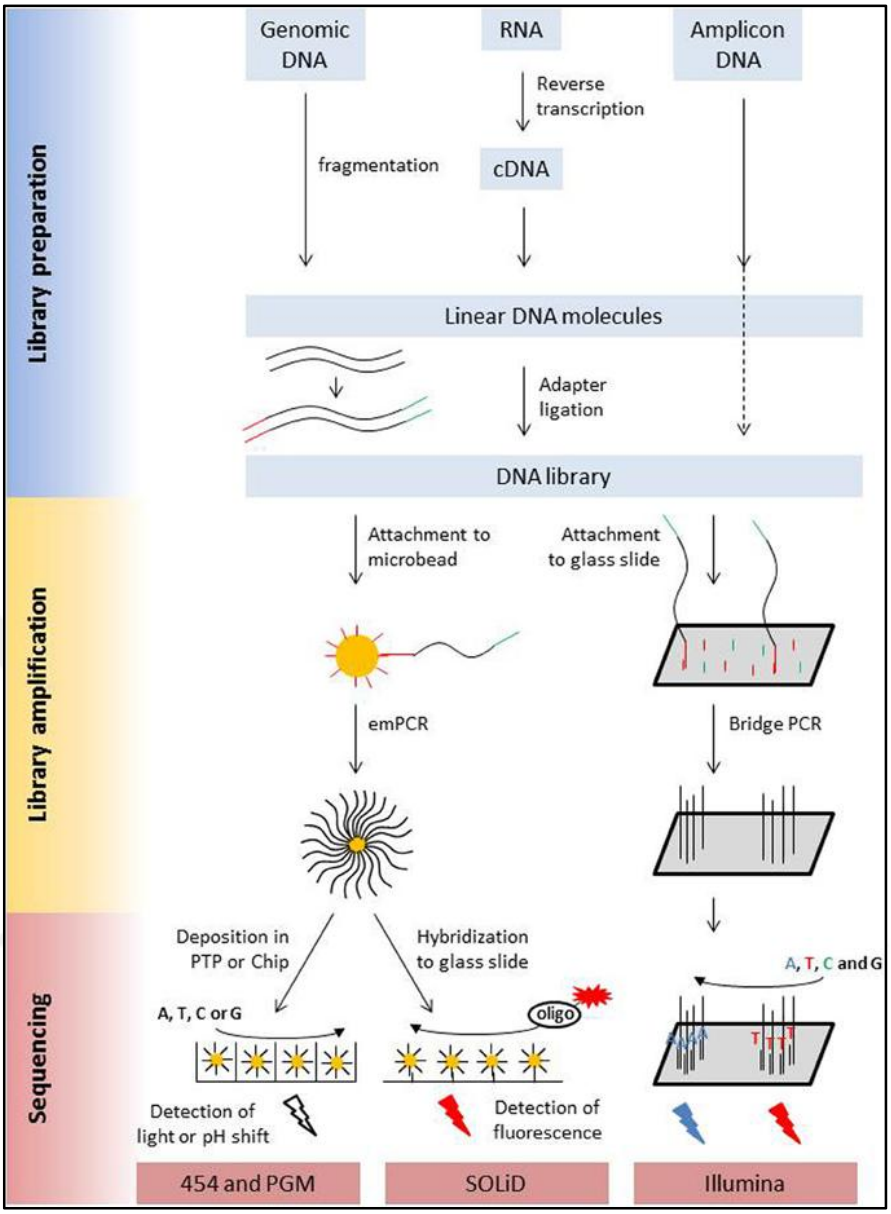


Şekil 48: Klasik Sanger DNA dizi analizi basamakları a) DNA polimeraz, tek iplikli DNA kalıbına (mavi) bağlanır ve DNA'ya komplementer bir iplikçik (kırmızı) sentezler. **b)** DNA polimeraz, rastgele olarak floresan işaretli bir ddNTP ile karşılaştığı zaman, sentez sona erer. Bu adımda, birbirinden tek nükleotid uzunluk farkıyla ayrılan milyonlarca yeni sentezlenmiş DNA iplikçiklerinin bir karışımı elde edilmiş olur. Her şerit, bir floresan etiketli ddNTP baz ile 3' ucunda etiketlenmiştir. **c)** DNA karışımı elektroforezle ayrılır. **d)** Elektroferogram sonucunda her bir DNA bandının renk ve sinyal yoğunluğu pikler halinde temsil edilir. Bu veriden, yeni sentezlenen DNA zincirinin tüm dizisi elde edilmiş olur (Chial, 2008).

2001 yılında insan genom projesinin tamamlanması genomik sonrası alanın başlangıcı olmuştur ve sistem biyolojisi yaklaşımı büyük önem kazanmıştır. Son yıllarda geliştirilen yeni nesil DNA dizileme teknolojisi, genetik/epigenetik düzenleyici ağların, kromatin yapısı, nükleer yapılanma ve genom varyasyonları (çeşitliliği) hakkında bilgi üretimini sağlayan önemli bir araç olmuştur (Metzker, 2009). Yeni nesil DNA dizileme sistemleriyle yüksek doğrulukla, ultra hızlı olarak, dizileme yapılabilmektedir. Bu yöntemle elde edilen bir genom dizisi araştırmacılara başka hiçbir deneysel yöntem ile elde edilemeyecek kadar zengin ve özgün bilgi sağlamaktadır (Marguiles ve ark., 2005).

Yeni nesil dizileme teknolojisi 2005 yılında ilk olarak 454 pirodizileme teknolojisinin kullanımı ile ticari olarak erişilebilir duruma gelmiştir. O zamandan beri birkaç farklı dizileme metodu geliştirilmiştir. 454 GS20 pirodizileme (Roche Applied Science) Solexa 1G (Illumina, Inc.) SOLID (Applied Biosystems) Heliscope (Helicos, Inc.) ve Ion Torrent olmak üzere yeni nesil dizi analiz teknolojilerine ticari olarak ulaşılabilmektedir. Bu yeni nesil dizileme tekniklerinin avantajı DNA fragmentlerinin klonlanmasına ihtiyaç duyulmadan amplifiye olmuş tek zincir DNA'dan dizi verilerinin belirlenmesidir.

Mevcut yeni nesil dizileme teknikleri benzer olarak üç temel aşamayı takip eder; 1- DNA'nın sonikasyon veya nebulizasyon aracılığıyla rastgele kesilmesi 2- Evrensel adaptörlerin kesilmiş DNA fragmentlerine bağlanması 3- İmmobilizasyon ve amplikon kümelerinin oluşturulması için adaptör bağlı fragmentlerin çoğaltılması (Shendure ve Ji, 2008) (Şekil 49). Bu yeni platformlar, 25 bazdan 500 baza kadar değişen kısa DNA dizileri üretir ve her koşulda birkaç yüz milyondan birkaç milyara kadar uzanan okuma yapabilirler.



Şekil 49: Sıkça kullanılan yeni nesil sekanslama platformlarının kütüphane hazırlığı ve dizileme aşamalarının şematize edilmesi. Farklı tipteki başlangıç moleküllerinin tamamı, adaptörlerle çevrili iki iplikçikli DNA molekülleri haline dönüştürülür. Adaptörler, platform özgül ve kütüphane moleküllerinin bağlanmasına yetecek yeterli yüzeye sahip boncuk ya da akış hücresinde (flow cell) sekanslamadan önce çoğaltılır. Klonal amplikonlar, bölmelenmiş cam slaytlar, çipler ya da pikotitre plaklar üzerinde ayrılır. Sekanslama işlemi, bilinen dizinin floresan işaretli oligonükleotidlerinin ligasyonu işlemi ile (SOLID) ya da sentezleme basamağı ile gerçekleşir. Illumina sekanslama sırasında, geri dönüşümlü dört farklı işaretli nükleotid, beklenen okuma uzunluğuna bağlı olarak, çoklu döngüler halinde akış hücresinin üzerinde sisteme verilir. 454 ve Ion PGM sekanslamada ise işaretsiz nükleotidler akış hücresi üzerinde sırayla sisteme verilir. Nükleotid bağlanması, bir eşleşmiş ışık reaksiyonu olan pirosekanslama (Roche 454) ya da her nükleotid ilavesiyle ortama salınan protonun tayini ile tespit edilir.

Yeni nesil DNA dizileme metotları genel olarak sentez aracılığıyla dizileme, ligasyon aracılığı ile dizileme ve tek molekül dizileme olmak üzere üç ana gruba ayrılır. Bu metodolojik farklılıklar okuma uzunluğu, verim, hata oranı gibi anahtar performasyonlarda farklılıklar yaratmaktadır. Bu durum yeni nesil dizileme metotlarının avantaj ve dezavantajlarının belirlenmesinde oldukça önemlidir (Tablo 6). Çünkü yeni nesil dizileme metotları okuma uzunluğu, hataların yaygınlığı, türü ve her koşulda oluşturulan okuma sayısı açısından farklılık gösterir (Egan ve ark., 2012).

Tablo 6: Ticari olarak kullanılan yeni nesil sekanslama platformlarının karşılaştırılması (Egan ve ark., 2012; Knief, 2014).

Dizileme platformu	Kütüphane Hazırlığı	Dizileme kimyası	Çalışma süresi	Okuma uzunluğu (bç)	Her çalışma için maksimum veri çıktısı
Sentezleyerek dizileme					
Roche/454 FLX+	Fragmentasyon, "Çift yön eşleşmiş" kütüphane/emPZR	Pirodizileme	10 saat	700	450-700 Mb
Illumina MiSeq	Fragmentasyon, "Çift yön eşleşmiş" kütüphane /katı fazda köprü PZR	Geri dönüşümlü sonlandırıcı	24 saat	2X150	4.5-5.1 GB
İon torrent PGM (318 CHIP)	Fragmentasyon/emPZR	H+ iyon duyarlı transistör	Birkaç saat	200-400	600MB-2 GB
Ligasyon aracılığıyla dizileme					
Life/AB SOLİD 5500 XL	Ligasyon aracılığıyla dizileme Fragmentasyon, "Çift yön eşleşmiş" kütüphane, emPZR	Parçalanabilir prob ligasyonu aracılığıyla dizileme	8 gün	2X60	260 GB
Polonator G.007	Sadece "Çift yön eşleşmiş" kütüphane / emPZR	Parçalanmayan prob ligasyonu aracılığıyla dizileme	80 saat	26	80 milyon
Tek molekül dizileme					
Helicos Bioscience HeliScope	Fragmentasyon, "Çift yön eşleşmiş" kütüphane / tek molekül	Geri dönüşümlü sonlandırıcılar	8 gün	25-55	1 milyar
Pacific BioSciences PacBio RS II	Sadece fragmentasyon, / tek molekül	Real time	Her hücrede 2-3 saat	8000	Hücre başına 400 MB

Yeni nesil sekanslama teknolojileri, bakteri ve viral genomların de novo sekanslanması, insan gen ifadesi varyasyonlarının genetik mekanizmalarının belirlenmesi için tüm genom ya da hedefe özgü genom bölgelerinin sekanslanması, RNA-seq ile hücre, doku ve organizmalarda transkriptomların karakterizasyonu ve

CHIP-Seq ile DNA-bağlanma proteinleri ve epigenetik belirleyicilerin genom boyu profillerinin oluşturulması gibi oldukça yaygın bir kullanım alanına sahiptir (Su ve ark., 2011).

Yeni nesil sekanslama teknolojileri ile aynı anda birden fazla örneğin çoklu gen bölgelerine ait dizisi,çok az bir DNA kullanılarak kısa sürede ve klasik sekanslamaya kıyasla daha uygun bir fiyata elde edilmiş olur. Hedef gen panelleri, özellikle heterojen ve çoklu gen kalıtımının etkisinde olan hastalıkların moleküler tanısında ve kanserde moleküler mekanizmaların belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Hazır halde sunulan ya da müşteri talebine göre dizayn edilen panelleri ile Iontorrent PGM, hedef gen analizlerinde sıklıkla tercih edilmektedir (Lin ve ark., 2014; Millat ve ark., 2014; Live ark., 2014; Simbolo ve ark, 2015).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Kullanılan Aletler

Otomatik Mikropipetler, Gilson (Fransa)

Isı Döngü Cihazı, GeneAmp PZR System 9700, Applied Biosystems (A.B.D)

Isı Bloğu, Techne DB-ZA (İngiltere)

Soğutmalı Makrosantrifüj, Heraeus, Function Line (Almanya)

Soğutmalı Minisantrifüj, Heraeus, Biofuge Fresco (Almanya)

Vorteks, Velp Scientifica (İtalya)

NanoPhotometer Pearl spektrofotometre, ImplenGmbH (Almanya)

Elektroforez Yürütme ve Görüntüleme Sistemi, ORTE (Türkiye)

Isıtıcılı Manyetik Tabla, Biosan TDB-120 (Türkiye)

Soğutucu blok, Biosan SC-2 (Türkiye)

Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı, Velp Scientifica (İtalya)

Hassas Terazi, Ohaus (İsviçre)

Çalkalayıcı, Thermolyne Maxi-MxIII Type 65800 (A.B.D)

Mikrodalga Fırın, Arçelik MD 565S (Türkiye)

PH-Metre, Innolab (Almanya)

Otoklav, All American (A.B.D)

18.2 MΩ'luk ultra saf su cihazı, millipore (A.B.D)

Otomatik dizi analizi cihazı, Genome lab GeXP genetic analysis system, Beckman Coulter (ABD)

Ion PGM, Life Technologies (A.B.D)

5.2. Kullanılan Sarf Malzemeler

Ependorf Tüp 1.5 mL, Axygen (A.B.D.)

Ependorf Tüp 2.0 mL, Axygen (A.B.D.)

Pipet Ucu, Filtreli-0,5-10 ul şeffaf, Axygen (A.B.D.)

Pipet Ucu, Filtreli-0,5-20 ul şeffaf, Axygen (A.B.D.)

Pipet Ucu, Filtreli-200 ul şeffaf, Axygen (A.B.D.)

Pipet Ucu, Filtreli-1000 ul şeffaf, Axygen (A.B.D.)

PZR Plak, 96 Kuyulu, Axygen (A.B.D.)

İnce Duvarlı Tüp Kapakları, 0,2 ml, Axygen (A.B.D.)

Maksimum Geri Kazanımlı İnce duvarlı PZR Tüpü, Axygen (A.B.D)

Mikrosantrifüj Tüpü, 0,5 ml, Axygen (A.B.D.)

Mikrosantrifüj Tüpü, 1,5 ml, Axygen (A.B.D.)

BAZ DNA Oligo, Sentegen (Türkiye)

GoTaq® Flexi DNA Polymerase, Promega (A.B.D)

dNTP Set, 25 µmol, Promega (A.B.D)

DNA Belirteç, 100bç, Promega (A.B.D)

Falkon Tüp 50 mL, TPP (İsviçre)

Falkon Tüp 15 mL, TPP (İsviçre)

Wizard® Genomik DNA Pürifikasyon Kiti, Promega (A.B.D)

ASAP EXO-SAP PZR Saflaştırma, Arcticzymes (Norveç)

Kapiller, Beckman Coulter (A.B.D)

GenomeLab DTCS-Quick Start Kit, Beckman Coulter (A.B.D)

CleanSEQ, Beckman Coulter (A.B.D)

Örnek Mikrotitre Plakası, Beckman Coulter (A.B.D)

Dizi Analizi Seperasyon Jeli-LPAI, Beckman Coulter (A.B.D)

Dizi Analizi Seperasyon Tamponu, Beckman Coulter (A.B.D)

SLS Tamponu, Beckman Coulter (A.B.D)

96S Super Manyetik Plaka, Alpaqua (A.B.D)

Manyetik boncuk Agencourt AMPure XP, Beckman Coulter (A.B.D)

Ion AmpliSeq™ Kütüphane Kiti 2.0, Thermo Fisher Scientific (A.B.D)

Ion Xpress™ Barcod Adaptörleri 1-16 Kit, Thermo Fisher Scientific (A.B.D)

Ion Kütüphane Denkleştirme™ Kiti, Thermo Fisher Scientific (A.B.D)

Ion PGM™ Kalıp OT2 200 Kiti, Thermo Fisher Scientific (A.B.D)

Ion PGM™ Denkleştirici Boncukları, Thermo Fisher Scientific (A.B.D)

Ion PGM™ Sekanslama 200 Kiti v2, Thermo Fisher Scientific (A.B.D)

Ion 318™ Çip Kiti v2, Thermo Fisher Scientific (A.B.D)

5.3. Kullanılan Kimyasallar

EtOH, Merck (Almanya)

İzopropanol, Merck (Almanya)

Agaroz, low EEO, Applichem (Almanya)

Borik Asit, Applichem (Almanya)

Trisma-baz, Sigma (A.B.D)

Dinatrium Salt Dihidrat, Applichem (Almanya)

Steril distile su, 1000 ml

Tibo Gold Nükleik asit jel boyası, Orte (Türkiye)

Orange G, Sigma (A.B.D)

Gliserol, Sigma (A.B.D)

Mineral yağ, Sigma (A.B.D)

5.4. Kullanılan Çözeltiler

Çalışmada aşağıdaki çözeltiler kullanılmıştır.

5.4.1. Periferik tam kandan DNA eldesi

%70 Etanol: 35 ml etanole 15 ml dH2O ilave edilerek 50 mL'ye tamamlanır.

5.4.2. ORTE görüntüleme sistemi ile PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

0,5 M EDTA (pH: 8,0):

186,1 gram EDTA, 800 ml dH2O içinde çözülür. Yaklaşık 50 ml NaOH ilavesi ile pH: 8,0'e ayarlandı. Hacim 1 lt'ye tamamlandı. Manyetik karıştırıcı ile tamamen çözünene kadar karıştırılır. Çözelti otoklavlanarak steril edildi ve oda ısısında saklandı.

50X Tris-Asetik asit-EDTA (TAE) tamponu:

242 g Tris baz + 57,1 ml %100'lük asetik asit + 100 ml 0,5 M EDTA (pH 8,0) 1 lt'lik şişede karıştırılır. Çözelti 1 lt'ye dH_2O ile tamamlandı.

0.5X TBE hazırlamak için 50X TBE stoğundan 10 ml alındı ve distile su ile

1000 ml'ye tamamlandı.

10x Orange G Yükleme Boyası:

50 ml’lik falkon tüpte 15 ml gliserol, 100 mg Orange G tozu ile karıştırılarak üzeri distile su ile final hacim olan 50 ml’ye tamamlandı ve tamamıyla çözünene kadar vortekslendi.

Yükleme tamponu:

1 µl Tibo Gold Nükleik asit jel boyası ile 2 µl orange G boyası karıştırılarak %2’lik agaroz jele yüklenecek örnek sayısından 1 fazla olacak şekilde karışım hazırlandı ve her bir 10 µl’lik örnek için 3 µl yükleme tamponu kullanıldı.

5.4.3. Yeni nesil sekanslama verilerinin DNA Dizi Analizi ile konfirmasyonu

10 mM dNTP:

Her biri 100 mM olan dATP, dGTP, dCTP ve dTTP solüsyonlarından 100’er µl ve steril dH_2O’dan 600 µl alınarak 1,5 ml’lik steril ependorf tüp içerisinde karıştırılarak hazırlandı.

%85’lik etanol:

50 ml’lik falkon tüpe 42,5 ml absolute etanol ilave edilerek üzeri 7,5 ml distile su ile 50 ml’ye tamamlandı.

5.5. Hasta Materyallerinin Toplanması

Tez çalışmasında, Türk Pediatrik Kardiyoloji Derneği aracılığıyla Acıbadem Hastanesi’ne yönlendirilmiş veya bireysel başvuru yapmış ve araştırmamızda gönüllü olmayı kabul eden toplam 92 konjenital UQT hastası çalışıldı. Standardize edilmiş UQT tanısal skorlama protokolüne uygun şekilde ve elektrokardiyografik özelliklerine göre detaylı klinik ve genetik ön değerlendirmeleri yapıldıktan sonra, izleyen hekim tarafından klinik bilgi formları (EK-Sayfa 246) dolduruldu ve tez

çalışmasına katılan her hasta ailesine Acıbadem Üniversitesi tarafından etik kurul onayı alınmış (ATADEK 2013-469) (EK-Sayfa 244) bilgilendirilmiş onam formu (EK-Sayfa 251) okunarak imzalatıldı. Bireyin kendisinden ya da 18 yaşın altındaki kişilerin ailelerinden bilgilendirilmiş onam alındıktan sonra deneyimli hemşireler tarafından aile bireylerine ait 10 cc EDTA'lı kan örnekleri alındı. Materyallerin, onam formu ve klinik bilgi formuyla birlikte merkezimize elden ya da kargo ile ulaştırılması sağlandı. Çalışma için 10 cc EDTA'lı kan alınarak yüksek kalitede genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi.

5.6. Periferik Tam Kandan DNA Eldesi

Çalışmada kan örneklerine ait yüksek kalitede genomik DNA izolasyonu Wizard® Genomik DNA Pürifikasyon Kiti (Promega) ile üretici firma yönergelerine göre yapıldı.

1. 3 ml EDTA'lı tüpte kan, 15 ml'lik falkon tüpe alındı ve üzerine 9 ml hücre lizis solüsyonu eklendi ve inversiyonla karışması sağlandı, 10 dakika oda ısısında inkübe edildi.
2. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süzüntü atıldı.
3. Dipte kalan pellet vortekslendi ve üzerine 3 ml Çekirdek lizis solüsyonu eklendi. Örnek yavaşça ters düz edildikten sonra üzerine 1 ml protein çöktürme solüsyonu eklendi ve 20 sn vortekslendi.
4. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süzüntü içerisinde 3 ml izopropanol bulunan 15 ml'lik başka bir falkon tüpe aktarıldı ve tüp yavaşça inversiyonla alt üst edildi.
5. Süzüntü, DNA'yı çöktürmek için 3000 rpm'de 1 dakika örnek santrifüj edildi.
6. DNA'ların üzerinde bulunan izopropanol atıldı.
7. Tüp içerisine 3 ml %70'lik etanol eklendi ve örnek tekrar 3000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
8. Tüp içerisinde bulunan %70'lik etanol uzaklaştırıldı ve dipte bulunan DNA örneğinin üzerine 250 µl DNA sulandırma solüsyonu eklendi.

9. DNA örneğinin solüsyon içerisinde çözünmesi için örnek 1 saat 65°C'de bekletildi.
10. Solüsyon içerisinde çözünen DNA örnekleri daha önceden etiketlenmiş eppendorf tüplere aktarılarak -20 °C'de saklandı.

5.7. DNA Miktar Tayini

Spektrofotometrik ölçüm, hazırlanan çözeltiden belirli spektrumlarda ışık geçirilmesi ve bu ışığın ne kadarının çözelti tarafından soğurulduğunun ölçülmesi esasına dayanır. Çözeltinin içerdiği madde miktarı ne kadar fazla ise o kadar fazla ışın çözelti tarafından soğurulur. Spektrofotometre, çözeltinin içinden geçebilen çözelti tarafından soğurulmayan, ışığın yoğunluğunu tespit ederek; çözelti içeriğinde aranan maddenin miktarı hakkında sayısal bilgi verir. DNA'nın temizliği için absorbans (260/280) ve absorbans (260/230) değerlerine bakılmaktadır. Çünkü DNA 260, protein 280 ve karbonhidratlar da 230 nm dalga boylarında pik (en yüksek değer) yapmaktadır. Temiz bir DNA'da absorbans (260 /280) oranı 1.80 ile 2.00 arasında; absorbans (260/230) oranı ise 2.00 den büyük; absorbans (320) ise 0'a yakın olmalıdır. 1.8'in altında elde edilen absorbans (260/280) değeri protein kontaminasyonunu, 2'nin üzerinde elde edilen absorbans (260/280) değeri de RNA kontaminasyonunu işaret etmektedir. PZR yönteminde ne kadar saf ve yüksek molekül ağırlıklı DNA izole edilebilirse bantların belirginliği ve üretilebilirliği o derece artmaktadır. Bu nedenle, ölçüm aralığının dışında çıkan örnekler için DNA izolasyonu tekrarlandı.

Elde edilen DNA'ların miktarı ve saflığı, Implen NanoPhotometer Pearl cihazı kullanılarak 260 ve 280 nanometre dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek belirlendi. Optik dansite (OD) çift iplikli DNA için 50 µg/ml'ye karşılık gelmektedir.

Çift iplikçikli DNA için miktar tayininde aşağıdaki formülden yararlanılmaktadır;

DNA (µg/ml) = 260 nm'deki OD (Absorbans değeri) x sulandırma oranı x 50.

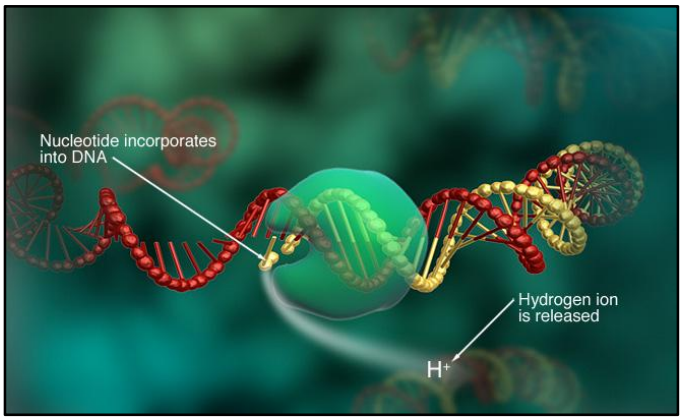
DNA ölçümü için aşağıdaki basamaklar izlendi:

1. Ölçüm yapacak kolon yuvasına yerleştirildi. Kolonun üstündeki lense pipet yardımıyla kör örnekten (DNA sulandırma solüsyonu) kapağın ölçüm aralığına uygun miktarda (10'luk kapak için 1,5 µl) damlatıldı.

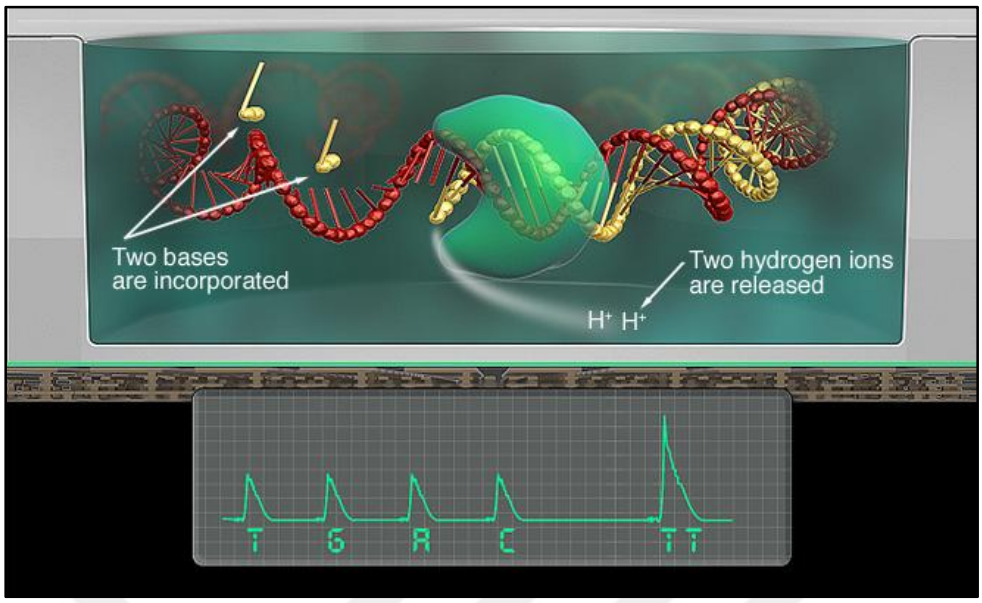
2. Lens, üzerindeki örnekle beraber kapak ile kapatılarak “OK” tuşuna basıldı. (Bu değerin sıfır olması gerekmektedir).
3. Ölçümden sonra kapak kaldırıldı, lens üzerindeki örnek kâğıt havlu ile silinip ölçüm yapılacak DNA’dan 1,5 µl lens üzerine damlatıldı ve saflık değerleri not edildi.
4. Ölçümden sonra kapak kaldırıldı, lens üzerindeki örnek kâğıt havlu ile silindi.
5. Sonraki ölçüm yapılacak örnekler için sırasıyla ayrı ayrı aynı işlemler tekrarlandı ve değerler not edildi. Beklenen değerlerin dışında kalan örneklerde DNA izolasyonu tekrarlandı.

5.8. Iontorrent PGM Cihazı Kullanılarak Yeni Nesil Sekanslama

2010 yılında tanıtılan Iontorrent sistemi; diğer Illümina, 454 Roche ve Solid yeni nesil sekanslama teknolojilerinden oldukça farklı, herhangi bir optik okuma veya floresan ışımanın yer almadığı bir sistemdir. İyon yarı iletken dizilemesine dayalı bu dizileme yöntemi, DNA'nın polimerizasyonu sırasında açığa çıkan hidrojen iyonlarının tespitine dayalıdır. Bir DNA zincirine polimeraz ile bir nükleotid eklendiği zaman, yan ürün olarak bir hidrojen iyonu açığa çıkar (Şekil 50). DNA kalıbına 2 aynı baz ard arda ilave olduğunda voltaj 2 katına çıkar ve veri çip tarafından kaydedilir (Şekil 51).

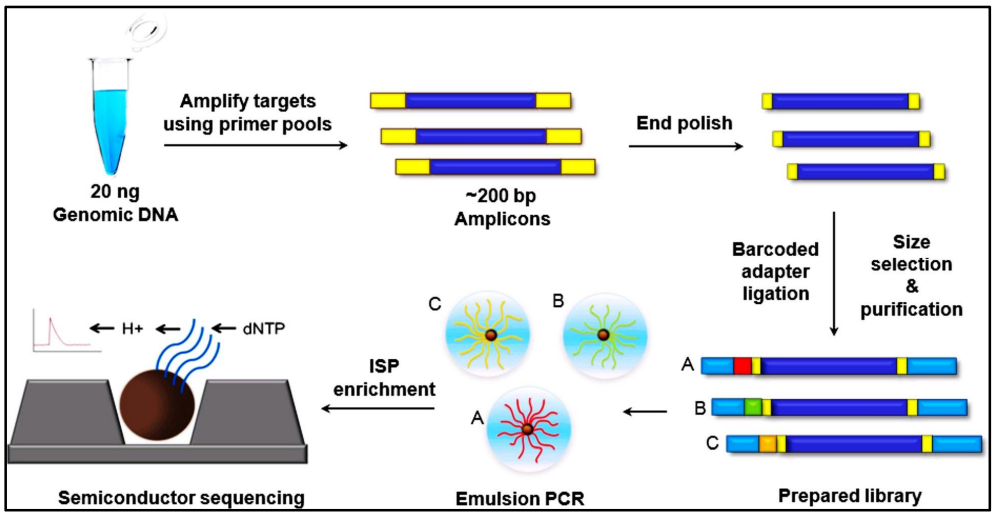


Şekil 50: Iontorrent kimyası. Hidrojen iyonu salınması (https: //www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/sequencing/next-generation-sequencing/ion-torrent-next-generation-sequencing-technology.html, Erişim Tarihi: 03.03.2016).



Şekil 51: Iontorrent sisteminde ardarda iki aynı nükleotidin ilavesi (https: //www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/sequencing/next-generation-sequencing/ion-torrent-next-generation-sequencing-technology.html, Erişim Tarihi: 03.03.2016).

Tez çalışmasında iontorrent PGM sekanslama platformu kullanarak hedef 68 gene özgü Ampliseq Kalıtsal Aritmi Paneli ile gerçekleştirdiğimiz tez çalışmasında UQT hastalık etkeni mutasyonlar araştırıldı.



Şekil 52: Yeni nesil dizileme akış diyagramı. 68 kalıtsal aritmi genine ait amplikonlar 20 ng genomik DNA kullanılarak 2 primer havuzu ile çoğaltıldı. Yaklaşık 200 bç'lik amplikonların uçları kırpıldı, barkod ve adaptörler bağlandı; saflaştırılarak kütüphane hazır hale getirildi. Yarı iletken dizileme öncesinde İyon Küre Partiküller (ISP'ler) oluşturmak üzere emülsiyon PZR gerçekleştirildi (Örnek şekil Li ve ark., 2014 yayınından alınmıştır).

5.8.1. Ion Ampliseq özel panel dizaynı

UQTS ile ilişkili olarak literatürde 15 OMIM geni bildirilmiş olmasına rağmen hastalarda hala %20-30 oranda genetik etkenin tayin edilememiş olması ve kardiyak iyon kanalları ve ilişkili protein bozukluklarının oldukça heterojen bir klinik göstermesi nedeniyle UQTS panelinin 15 gen ile sınırlandırılmayıp genişletilmesi öngörüldü. Ön literatür araştırması ile (Pubmed sorgusu, OMIM sorgusu) kardiyak ritm bozuklukları ve kardiyomiyopatilerle ilişkilendirilmiş hedef genler belirlendi. Yeni nesil sekanslama sistemi ile UQT hastaları için çalışılması planlanan 68 gene ait primer havuzları ion ampliseq designer programı kullanılarak tasarlandı. 68 gene ait 2 primer havuzu oluşturularak toplam 1877 amplikon belirlendi. Analiz edilecek toplam bölge uzunluğu 350,08 kb idi. Amplikon boyları 125-275 bç aralığında idi.

Analiz edilen 68 adet gen şu şekildedir: *AKAP9, ANK2, ANKRD1, BAG3, CACNA1C, CACNA1S, CACNA2D1, CACNB2, CALM1, CALM2, CASQ2, CAV3, CTNNA3, DES, DPP6, DSC2, DSG2 ,DSP, GJA5, GNAI2, GPD1L, HCN4, JUP, KCND3, KCNE1, KCNE2, KCNE3, KCNE5 , KCNH2, KCNJ2, KCNJ5, KCNJ8, KCNQ1, LDB3, LMNA, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL3, NKX2.5, NOS1AP, PKP2, PLN, PRKAG2, RANGRF, RBM20, RYR1, RYR2, SCN1B, SCN2B, SCN3B, SCN4A, SCN4B, SCN5A, SLMAP, SNTA1, TBX5, TCAP, TGFB3, TMEM43, TMPO, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TRDN, TRPM4, VCL.*

5.8.2. Ion Ampliseq özel panel ile kütüphanenin oluşturulması

PZR amplifikasyonu sonrası adaptörler ve bireyselleştirilmiş barkodlar her bir örnek için DNA fragmentlerine ligasyonla bağlanır. Her örnek, özgül bir barkod dizi ile işaretlenir, bu sayede tek bir koşumda aynı anda birden çok sayıda örneğin sekanslanması mümkün olmaktadır.

5.8.2.1 Hedef bölgelerin çoğaltılması

Hedef bölgelerin çoğaltılması, Ion AmpliSeq™ Kütüphane Kiti 2.0 (Thermo Fisher Scientific) içerisinde bulunan kimyasallar ile üretici firma yönergelerine göre yapıldı.

İzole edilen DNA'lar, konsantrasyonları ölçüldükten sonra kütüphane oluşturmak üzere her bir örnekten µl'de konsantrasyonu 4 ng olacak şekilde dilüsyon yapıldı.

- Her örnek için 2 farklı primer havuzu kullanıldı, 96-kuyucuklu PZR plakası örnek sayısına göre kesildi ve buz bloğunun üzerine yerleştirildi. Her örnekten 6 µl DNA (24 ng) her 2 primer havuzu için ayrı ayrı dağıtıldı.

1. Her 2 primer havuzu için ayrı ayrı ana karışımlar hazırlandı.
   Örnek sayısı = n ise ana karışım hazırlanırken hesaplanacak miktar (n+1) olacak şekilde kabul edildi. Ana karışımların içeriği;
   4 µl 5X AmpliSeq HİFİ Karışımı
   10 µl 2X iyon ampliseq primer havuzu
2. Her 2 primer havuzu için ayrı ayrı ana karışımlardan 14 µl örneklerin üzerine dağıtıldı ve 5 kez pipetaj yapıldı. Kuyucukların üzeri sıkıca yeni şerit kapaklar ile kapatıldı.
3. Plaka ısı döngü cihazına yerleştirilerek program başlatıldı.

Etap	Basamak	Sıcaklık	Zaman
Bekletme	Enzimi aktifleştirmek için	99 ^{o}C	2dk
Döngü (15 defa)	Denatürasyon	99 ^{o}C	15sn
	Bağlanma ve Uzama	60 ^{o}C	4dk
Bekletme	—	10 ^{o}C	Bekletme

5.8.2.2 Primer dizilerinin kısmi kesimi

Bu işlem, Ion AmpliSeq™ Kütüphane Kiti 2.0 (Thermo Fisher Scientific) içerisinde bulunan FuPa reaktifi ile üretici firma yönergelerine göre yapıldı. FuPa reaktifi amplikonları keser ve fosforiller, onları ligaz enzimi için substrat haline getirir. Bu basamak amplikonların adaptörlere bağlanması için gereklidir.

1. Plaka üzerindeki şerit kapaklar dikkatlice açıldı, aynı örneğe ait primer havuzu 1 ve 2'den 10'ar µl örnek ayrı bir kuyucukta pipetajla birleştirildi ve

örnek karışımına 2 µl FuPa Reaktifi eklenerek toplam hacim 22 µl olması sağlandı.

10 µl primer havuzu 1

10µl primer havuzu 2

2 µl FuPa reaktifi

2. Şerit kapaklar ile plaka kapatıldı ve kısa çevirme yapıldı.

3. Termal döngü cihazına yüklendi ve aşağıdaki programda inkübe edildi.

Sıcaklık	Zaman
50 ^{o}C	10dk
55 ^{o}C	10dk
60 ^{o}C	20dk
10 ^{o}C	1 saate kadar cihazda bekleyebilir.

5.8.2.3 Amplikonlara adaptörleri bağlama

Bu işlem, Ion AmpliSeq™ Kütüphane Kiti 2.0 (Thermo Fisher Scientific) içerisinde bulunan kimyasallar ile üretici firma yönergelerine göre yapıldı. Barkodlar dilüe edilerek kullanıldı. Her hasta örneği için ayrı bir barkod hazırlandı. Örneğin;

- 1 numaralı hasta için; Barkod 1
- 2 numaralı hasta için; Barkod 2

Dilüe barkod karışımının hazırlanması:

Dilüe edilen Barkod Adaptör Karışımı 4 reaksiyonluktur. Fazlası -20 ^{0}C'de saklanabilir.	
Reaktifler	Hacim
Ion P1 Adapter	2 µl
Ion XpressTM Barcode X*	2 µl
Nuclease-free Water	4 µl
Toplam	8 µl

*X= seçilen barkod

Bağlanma reaksiyonu

1. Dikkatli bir biçimde plaka kapakları açıldı ve primerleri kısmi olarak kesilmiş örneği içeren 22 µl'lik her kuyucuk üzerine aşağıdaki solüsyonlar eklendi.

Reaktifler	Hacim
Switch Solüsyonu	4 µl
Dilüe edilmiş barcod adaptör karışımı	2 µl
Toplam hacim	6 µl

2. Her bir kuyucuğa 2 µl DNA ligaz eklendi (toplam hacim 30 µl) ve 5 defa pipetaj yapıldı.

3. Plaka şerit kapaklar ile kapatılıp ve damlacıkları toplamak için kısa çevirme yapıldı.

4. Termal döngü cihazında aşağıdaki program uygulandı.

Sıcaklık	Zaman
22 ^{o}C	30 dk
72 ^{o}C	10 dk
10 ^{o}C	1saate kadar cihazda bekleyebilir.

5.8.2.4. Adaptör bağlı amplikonları saflaştırma

Saflaştırma işlemi, manyetik boncuk AMPure® XP reaktifi (Beckman Coulter) ile üretici firma yönergelerine göre yapıldı.

1. Plaka üzerindeki şerit kapaklar açıldı ve her bir kütüphane için 45 µl (1.5X örnek hacim) Agencourt® AMPure® XP Reaktifi eklendi ve 5 kez pipetaj yapıldı.
2. Karışım oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi.
3. Örnekler 96S Süper Manyetik Plaka'nın üzerine alındı ve solüsyon şeffaflaşana kadar 2 dk inkübe edildi. Dikkatli bir şekilde süzüntü pelletten ayrıldı ve uzaklaştırıldı.
4. Plaka mıknatıstan alındı, taze hazırlanmış 150 µl %70'lik etanol plakaya eklendi, yumuşak bir biçimde 5 kez pipetaj yapıldı, plaka mıknatısa geri konularak 2 dk inkübe edildi, süzüntü uzaklaştırıldı.
5. 4. basamak tekrar edildi. Mıknatısa alınan plaka 5 dk oda sıcaklığında boncukların kuruması için bekletildi. Kuyucuklarda etanol kalmamasına dikkat edildi.

Not: Kalan etanol damlaları kütüphanenin çoğalmasını inhibe edecektir. Zorunlu kalınırsa, havayla kurutmadan önceplaka kısa santrifüje tabi tutularak kalan etanol pelletten uzaklaştırılmalıdır.

Bu aşamadan sonra kütüphane denkleştirme işlemi ile normalize edilerek konsantrasyonlarının eşitlenmesi sağlandı.

5.8.2.5 Kütüphanenin normalizasyonu

Bu işlem, Ion Kütüphane Denkleştirici ™ Kiti içerisinde bulunan kimyasallar ile üretici firma yönergelerine göre yapıldı.

Ion Kütüphane Denkleştirici ™ Kiti, miktar ölçüm ihtiyacı dışında ~100 pM'de kütüphane konsantrasyonunu normalize etmek için bir yöntem sağlar. Bu yöntemde, Ion AmpliSeq™ kütüphanesi ilk olarak çoğaltılır sonra Denkleştirici ™ boncuklarıyla kütüphaneler yakalanır. Denkleştirilmiş kütüphaneler elüsyondan sonra birleştirilir.

Başlamadan önce Ion Kütüphane Denkleştirici ™ Kit'in tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi. Kullanmadan önce tüm solüsyonlar vortekslendi ve kısa çevirme yapıldı.

Kütüphaneyi Çoğaltma

1. Plaka manyetik tabladan alındı ve 50 µl "Platinum® PZR Super Mix High Fidelity" ve 2 µl "Denkleştirici™ Primerler" eklendi ve 5 defa pipetaj yapıldı. Plaka şerit kapaklar ile kapatıldı ve kısa çevirme yapıldı.

2. Plaka tekrar manyetik tabla üzerine yerleştirildi ve 2 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında süzüntülerden ~ 50 µl alınarak yeni plakaya aktarıldı.

3. Kuyucukların üzerine yeni şerit kapaklar sıkıca kapatıldı ve ısı döngü cihazına yerleştirildi.

Isı döngü cihazı koşulları:

Evre	Sıcaklık	Zaman
Bekletme	98 °C	2 dk
7 Döngü	98 °C	15sn
	64 °C	1 dk
Bekletme	10 °C	1saate kadar cihazda bekleyebilir

Denkleştirici™ Boncukları Yıkama

1. Denkleştirici™ Boncukları oda sıcaklığına getirildi ve homojen hale gelene kadar vortekslenip kısa çevirme yapıldı.

2. Örnek sayısı (n+1) kabul edilerek 2ml'lik tüpte aşağıdaki karışım hazırlandı.

   3 µl Denkleştirici™ Boncuklar
   6 µl Denkleştirici™ Yıkama Tamponu

3. Tüp 3dk veya solüsyon tamamen temizlenene kadar manyetik tabla üzerine alındı.

4. Süzüntü dikkatli bir biçimde alındı ve pelletten uzaklaştırıldı.

5. Tüp manyetik tabladan alındı, pellet üzerine (n+1) X6 µl/reaksiyon Denkleştirici™ yıkama tamponu eklendi ve pipetaj yapılarak tekrar süspanse edildi.

Kütüphaneyi çoğaltmak için Denkleştirici™ Yakalayıcısı Ekleme

1. Termal döngüden sonra plaka üzerindeki şerit kapaklar kaldırıldı ve her bir kütüphane çoğaltma reaksiyonu için örnekler üzerine 10 µl Denkleştirici™ Yakalayıcısı eklendi ve 5 kez pipetaj yapıldı. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi.

Denkleştirici™ Boncukları Ekleme ve Yıkama

1. Vorteks veya pipetaj yardımı ile yıkanmış Denkleştirici™ boncukları karıştırıldı.

2. Yakalayıcı ilave edilmiş her bir örnek üzerine 6 µl yıkanmış boncuklar eklendi.

3. Pipet 40 µl'ye ayarlandı ve pipetle en az 5 defa pipetaj yapıldı.

4. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi.

5. Plaka manyetik tabla üzerine alınıp 2 dk veya solüsyon tamamen şeffaflaşana kadar inkübe edildi.

6. Pelletten süzüntü dikkatli bir biçimde uzaklaştırıldı ve manyetik tabla dışına alınarak her bir reaksiyon için 150 µl Denkleştirici™ yıkama tamponu eklendi ve pipetajla pelletin dağılması sağlandı. Daha sonra plaka manyetik tablanın üzerine konularak 2 dk inkübe edildi.

7. Plaka manyetik tablanın üzerindeyken dikkatlice süpernatant pelletten uzaklaştırıldı, her bir reaksiyona 150 µl Denkleştirici™ yıkama tamponu eklendi vepipetajla pelletin dağılması sağlandı. Daha sonra plaka manyetik tablanın üzerine konularak 2 dk inkübe edildi.

8. Plaka hala manyetik tabla üzerindeyken süzüntünün tamamı uzaklaştırıldı.

Denkleştirilmiş Kütüphanenin Elüsyonu

1. Manyetik tabladan alınan plakaya her bir pellet için 100 µl Denkleştirici™ elüsyon tamponu eklendi ve 5 defa pipetaj yapıldı. Plaka şerit kapaklar ile kapatıldı ve kısa çevirme yapıldı.

2. Kütüphane 32°C'de 5dk termal döngü cihazında inkübe edilerek ayrıştırıldı (elüsyon).

3. Plaka manyetik tabla üzerine alındı ve 5 dk veya solüsyon tamamen temiz olana kadar oda sıcaklığında inkübe edildi.

4. Artık süzüntü denkleştirilmiş kütüphaneyi içermekteydi.

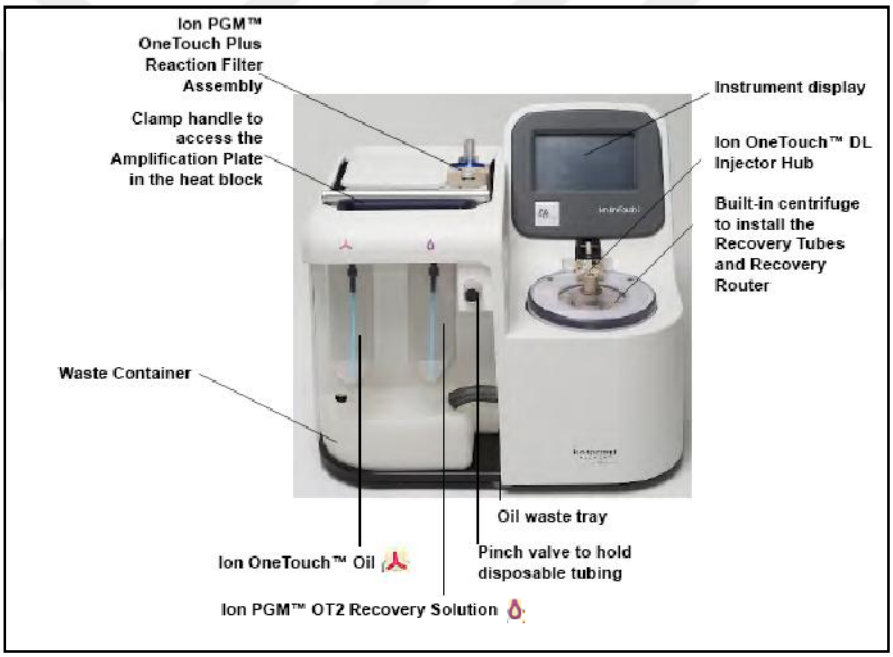
5. Her bir eşitlenmiş kütüphanenin son konsantrasyonu ~100 pM olarak kabul edildi.

Not: Normalize edilmiş kütüphaneler 4-8°C'de 1 ay kadar saklanabilir. Daha uzun süreli saklamalar için -20°C kullanılmalıdır.

5.8.3. Kalıp hazırlama

Kalıp hazırlama, Ion PGM™ Kalıp QT2 200 Kit içerisinde bulunan reaktifler ile üretici firma yönergelerine göre yapıldı. Konsantrasyonları eşitlenmiş olan kütüphanelere emülsiyon bazlı PZR işlemi uygulandı. Her bir amplikona bir boncuk bağlanması ve yağ küreciği içerisinde klonal olarak milyonlarca kopya yapması sağlandı.

1. Önce cihaz açılarak gerekli ekipmanlar (Amplifikasyon plakası ve iğnesi, geri kazanım tüpleri ve geri kazanım oluğu, Ion One Touch Yağı, Ion PGM QT2 geri kazanım solüsyonu) şekilde gösterilen İlgili yerlere yerleştirildi (Şekil 53).



Şekil 53: Ion One Touch 2 Cihazında aparat ve solüsyonların yerleşimi (Ion PGM™ Kalıp OT2 200 Kit User Guide-Revision A.0)

2. Konsantrasyonları eşitlenmiş kütüphaneler dilüe edildi. 100 pM'lık stok kütüphaneden çipe yüklenecek örneklerden 10'ar µl alınarak 0,2 ml'lik bir eppendorf tüpte birleştirildi. Stok karışımdan 4 µl alınarak üzerine 21 µl nükleazdan yoksun dH_2O ilave edildi. Dilüe edilen kütüphane buz üzerinde bekletildi.

3. Reaksiyona girecek amplifikasyon solüsyonu aşağıdaki sıraya ve miktarlara göre bir tüpe eklendi. Reaktifler eklenmeden önce iyice karıştırıldı.

Sıra	Reaktif	Hacim
1	Nükleazsız dH_2O	25 µl
2	Ion PGM™ Kalıp QT2 200 Reaktif Karışımı	500 µl
3	Ion PGM™ Kalıp QT2 200 PZR Reaktif B	300 µl
4	Ion PGM™ Kalıp QT2 200 Enzim Karışımı	50 µl
5	Dilüe kütüphane	25 µl
	Toplam	1000 µl

4. Amplifikasyon solüsyonu hazırlandıktan sonra 5 sn vortekslendi.
5. Hazırlanan karışımın üzerine iyice vortekslenmiş Ion PGM Kalıp OT2 200 Ion Sphere Particles'dan 100 µl konularak karışım 5 sn vortekslendi.
6. Karışım çok yavaş bir şekilde reaksiyon filtresine aktarıldı. Üzerine 1500 µl reaksiyon yağı eklendi.
7. Reaksiyon Filtresi OT2 cihazına yerleştirilerek uygun Ion PGM™ Kalıp QT2 200 protokolü seçildi ve emülsiyon PZR reaksiyonu başlatıldı.
8. Koşum yaklaşık olarak 5 saat 15 dk sürdü, koşum sonrası bekleme süresi en fazla 16 saatti ve tüpler 10 dk final spin yapılarak alındı.
9. Her kalıp hazırlığı sonrası filtre, geri kazanım oluğu ve tüpler çıkarıldıktan sonra iğne ucu boş 15 ml lik tüpe yerleştirilerek ve reaksiyon filtresi yerine tek kullanımlık temizleme adaptörü yerleştirilerek yıkama başlatıldı.

5.8.4. Kalıp-positive ISP'lerin "Zenginleştirme" işlemi ile eldesi

Zenginleştirme işlemi, "Ion PGM Zenginleştirme Boncukları"ve Ion PGM™ Kalıp OT2 200 Kiti içerisinde bulunan reaktifler ile üretici firma yönergelerine göre yapıldı.

1. Melt-off solüsyonu aşağıdaki şekilde hazırlandı.

Sıra	Bileşen	Hacim
1	Tween® Solüsyonu	280 µl
2	1 M NaOH	40 µl
—	Toplam	320 µl

2. Dynabeads® MyOne™ Streptavidin C1 Boncuk'lar yıkanarak tekrar eldesi:

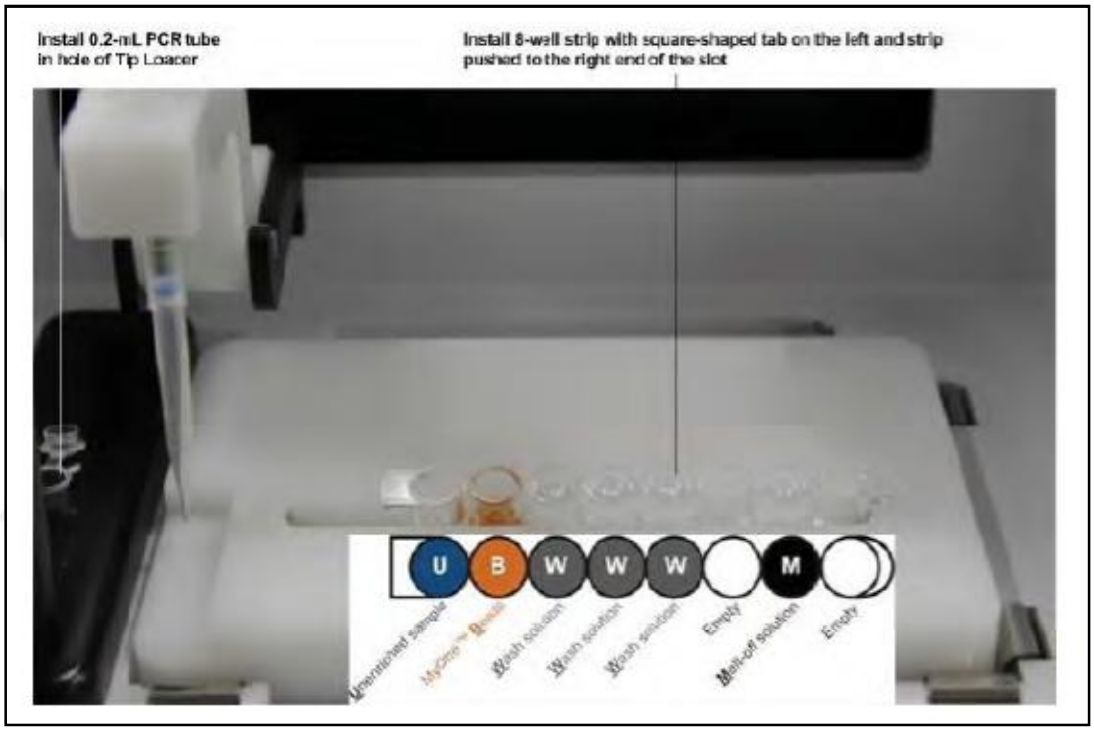
- Dynabeads® MyOne™Streptavidin C1 Boncuk'lar oda sıcaklığına getirildikten sonra vortekslenip homojen dağılımı sağlandı.
- 13 µl boncuk 1,5 ml'lik eppendorf tüpün içine aktarıldı ve manyetik tablaya yerleştirildi. Solüsyon şeffaflaşana kadar beklendi ve süzüntü uzaklaştırıldı.
- Boncuk pelletin üzerine 130 µl MyOne™ Boncuk Yıkama Solüsyonu eklendi ve vortekslendi, boncuk solüsyonu elde edildi.

3. OT2 sistemindeki çalışma bittikten sonra geri kazanım tüplerdeki supernatant dipteki pellete dokunmadan 50 µl kalacak şekilde uzaklaştırıldı. İyice pipetaj yapılarak kalıp pozitif ISP'ler total 100 µl olacak şekilde birleştirildi. 8 kuyucuklu plakada her bir kuyucuğa aşağıda belirtilen reaktifler ilave edildi (Şekil 54).

Kuyucuk numarası	Kuyucuğa aktarılacak reaktif
Kuyucuk 1	Kalıp-positive ISP örneğinin tamamı [100 µl prosedür]
Kuyucuk 2	130 µl MyOne™ Boncuk Yıkama Solüsyonu içerisinde çözdürülen Dynabeads®MyOne™ Streptavidin C1 boncuklar
Kuyucuk 3	300 µl Ion OneTouch™ Yıkama Solüsyonu
Kuyucuk 4	300 µl Ion OneTouch™ Yıkama Solüsyonu
Kuyucuk 5	300 µl Ion OneTouch™ Yıkama Solüsyonu

Kuyucuk 6	Boş
Kuyucuk 7	300 µl taze hazırlanmış Melt-off solüsyonu
Kuyucuk 8	Boş

‘Zenginleştirme reaksiyonu’ sonrasında elde edilen ürün çipe yüklenecek örnektir. Kullanılacak hacim çip kapasitesine göre belirlenir.



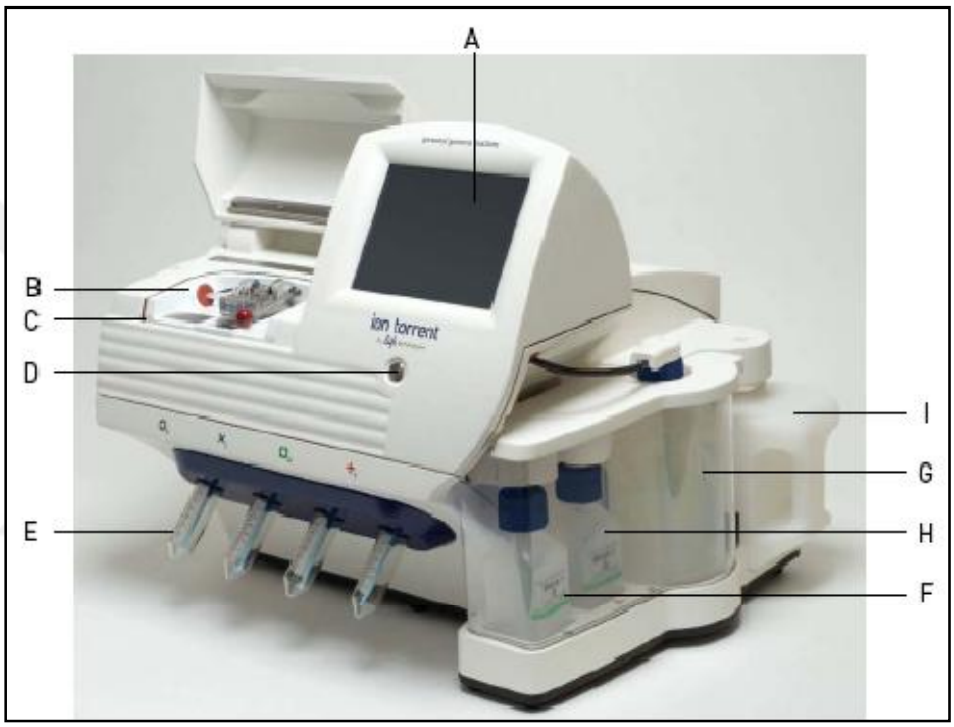
Şekil 54: Ion OneTouch™ ES cihazında kuyucuk tablası (Ion PGM™ Kalıp OT2 200 Kit User Guide-Revision A.0)

5.8.5. Ion PGM cihazı ile sekanslama

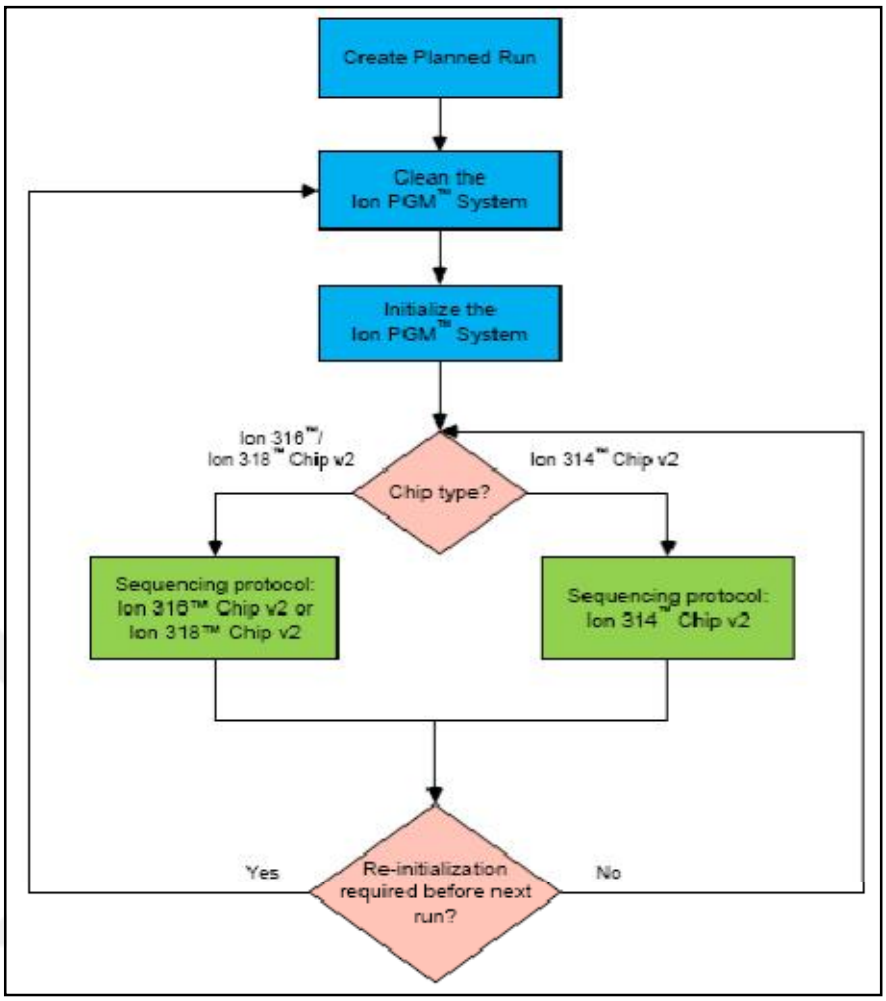
Dizileme aşamasında kalıp DNA dizisindeki her bir baz eşleşmesinde şeker-fosfat bağı koparak ortama bir H^+ iyonu salınır. Bu da pH’nın düşerek cihazda okuma sinyali almasını sağlar. Bazlar ortama tek tek salınır ve her eşleşmede bu sinyal değişimi algılanır. Eşleşmeyen baz olması durumunda hiçbir pH değişimi dolayısıyla sinyal değişimi olmaz. Hazırlanan örnekler bir çipe yüklenir ve cihaz

okumaları bu çipteki ürün üzerinden yapar. Ion PGM cihazı ve bileşenleri Şekil 55'te gösterilmektedir, sekanslama protokol iş akışı ise Şekil 56'te şematize edilmiştir.

Ion PGM cihazı ile sekanslama, Ion PGM™ Sekanslama 200 Kiti v2, Thermo Fisher Scientific içerisinde bulunan reaktifler ile üretici firma yönergelerine göre yapıldı.



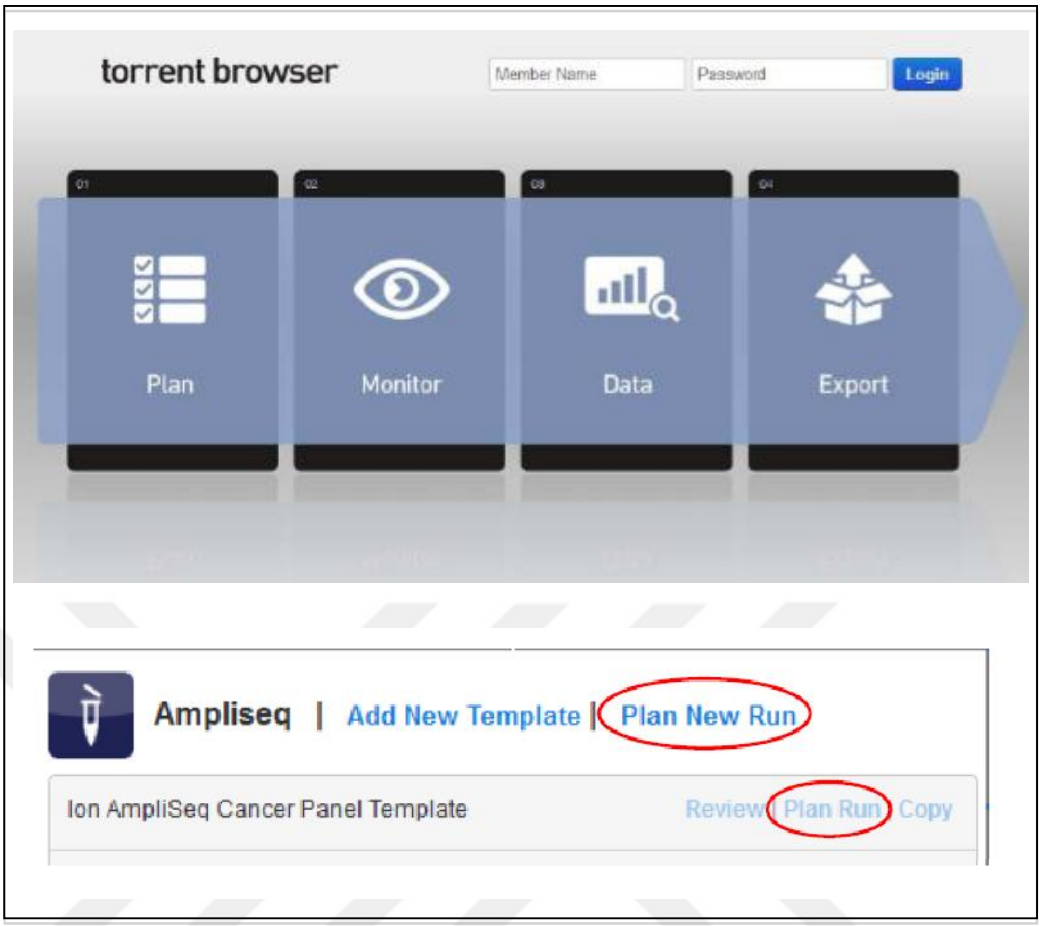
Şekil 55: Reaktifleri ve yıkama şişeleri ile Ion PGM sistemi (A-Dokunmatik ekran, B-Çip kelepçesi, C-Topraklama plakası, D-Güç düğmesi, E-Reaktif şişeleri, F-Yıkama 1 şişesi (W1 pozisyonu) G-Yıkama 2 şişesi (W2 pozisyonu) H-Yıkama 3 şişesi (W3 pozisyonu) I-Atık şişesi(Ion PGM™ Sequencing 200 Kit v2 User Guide, version 3.0)



Şekil 56: Ion PGM sekanslama iş akışı. Koşum planı oluşturulur, Ion PGM sistemi yıkanır, Ion PGM sistemi başlatılır, çip tipine gore sekanslama protokolü seçilir, tekrardan başlatma gerekiyorsa Ion PGM sistemi yıkamalarına geri dönülür, eğer tekrardan başlatma gerekmiyorsa çip tipi seçilerek sekanslama gerçekleştirilir (Ion PGM™ Sequencing 200 Kit v2 User Guide, version 3.0)

5.8.5.1. Çalışma planının oluşturulması

Çalışma planı Ion Torrent Sunucusu üzerinde hazırlandı. Plan için çalışmada kullanılan kitler, çip türü, çipe yüklenecek örnekler ve barkodları, analiz edilecek hedef gen bölgeleri, analiz için gereken ek programlar teker teker sistem üzerindeki yönergeler takip edilerek seçildi ve koşum planı oluşturuldu (Şekil 57).



Şekil 57: Ion torrent sunucusunda koşum planı oluşturulması (Ion PGM™ Sequencing 200 Kit v2 User Guide, version 3.0).

5.8.5.2. Ion PGM cihazının temizliği

Cihazın kanallarının tıkanmasını engellemek amacıyla çalışma başlamadan önce rutin olarak klorid ve su yıkaması yapıldı.

Ön hazırlık: W1, W2, W3 pozisyonlarına pipetler takıldı, toplama kapları dNTP pipetlerinin altına konulur ve kullanılmış bir çipin haznede durduğundan emin olundu.

5.8.5.2.1. Klorid yıkama

Klorid yıkaması haftada bir kez gerçekleştirilir. Aynı hafta içerisinde gerçekleştirilen sonraki koşumlar için tekrar klorid yıkamaya gerek yoktur. Su yıkama yapılması yeterli olur.

1. Yıkama şişeleri üçer kez 18,2 MΩ su ile yıkandı.
2. 1L'lik mezür içine doldurulan 18,2 MΩ su içerisine 1 adet 'Ion PGM Yıkama Tableti' atıldı ve içine 1 ml 1M NaOH eklendi.
3. Hazırlanan solüsyon 0,45 µm'lik filtrelerden geçirilerek 250 ml hizasına kadar klorid yıkama şişesine dolduruldu ve şişe W1 pozisyonuna takılarak kapağı sıkıca kapatıldı.
4. Cihazda W2 ve W3 pozisyonlarına diğer 2 yıkama şişesi takılarak kapakları gevşek bir şekilde bırakıldı.
5. Cihazda klorid yıkama seçeneği seçilerek yıkama başlatıldı.

5.8.5.2.2. Su Yıkama

Su yıkama her pH hazırlama öncesi yapılır.

1. Yıkama şişeleri üçer kez 18,2 MΩ su ile yıkandı.
2. 250 ml'lik su yıkama şişesine 250 ml 18,2 MΩ su dolduruldu ve şişe W1 pozisyonuna takılarak kapağı sıkıca kapatıldı.
3. W2 ve W3 pozisyonlarına şişeler takılarak kapakları gevşek bir şekilde kapatıldı.
4. Cihazda 18,2 MΩ yıkama seçeneği seçilerek yıkama başlatıldı.

5.8.5.3 Ion PGM cihazının pH'sının otomatik olarak ayarlanması

Bu aşamada cihaz hazırlanan solüsyonları kullanarak pH sını kendi ayarlar ve sekanslama işlemine cihazı hazır hale getirir.

1. Yıkama 1, Yıkama 2 ve Yıkama 3 şişeleri 18,2 MΩ su ile 3'er kez yıkandı.
2. W1, W2 ve W3 pozisyonuna yeni pipetler takıldı.
3. Çip haznesinde kullanılmış bir çipin takılı olduğundan emin olundu.

4. Yıkama 2 şişesi hazırlandı (Yıkama 2 şişesi nitrojen gazı ile 5 dk muamele edildikten sonra şişenin üst kısmındaki çizgisiye kadar 18,2 MΩ su ile dolduruldu. Suyun üzerine Ion PGM Sequencing 200 v2 W2 solüsyonunun tamamı eklendi. W2 solüsyonu ışık ile tepkime gösterdiği için bu aşamadan sonra başlatılma aşaması bitene kadar ışık kapalı çalışıldı. Karışımın üzerine 70 µl 100mM NaOH eklendi ve şişe yavaşça aşağı yukarı çevrilerek karışımın tamamen karışması sağlandı.
5. Yıkama 2 şişesindeki karışım iyice karıştıktan sonra şişe cihazda W2 pozisyonuna takıldı ve kapak iyice sıkıştırıldı.
6. Yıkama 1 şişesi hazırlandı (Yıkama 1 şişesine 350 µl 100 mM NaOH konuldu).
7. Yıkama 1 şişesi cihazın W1 pozisyonuna takılarak kapağı iyice sıkıştırıldı.
8. Yıkama 3 şişesi hazırlandı (Yıkama 3 şişesine 50 ml 'Ion PGM Sequencing 200 v2 1X W3' solüsyonu ilave edildi).
9. Yıkama 3 şişesi cihazın W3 pozisyonuna takılarak kapağı iyice sıkıştırıldı.
10. Cihazda 'başlatma' seçeneği seçildi ve Ion PGM Sequencing 200 v2 W2 şişesinin barkodu cihaza okutuldu.
11. Barkod eşleştikten sonra başlatma işlemi gerçekleşti.
12. *Cihaz pH'sı 7.49-7.60 civarına ulaşana kadar pH ayarlaması otomatik olarak devam etti.
13. Cihaz uygun pH'ya gelince dokunmatik ekrandaki yönergeler izlendi. Toplama kapları uzaklaştırıldı ve ön kısımdaki pipetler atılarak yenileriyle değiştirildi.
14. -20 ^{o}C'den çıkarılarak iyice çözülmesi sağlanan dNTP'ler (dATP, dTTP, dGTP ve dCTP) üzerleri etiketlenen 4 adet dNTP reaktif şişesine 20'şer µl dağıtıldı ve şişeler cihazda uygun alanlara sıkıca yerleştirildi.
15. Cihaz ekranındaki yönlendirmeler izlenerek başlatma işlemine devam edildi.

*Bu aşamada cihaz her bir reaktif şişesini 40 ml yıkama 2 karışımı ile doldurur.

5.8.5.4. Çipin yüklenmesi ve dizileme

Ion PGM cihazında okunacak örneğin kapasitesine ve alınmak istenen okuma oranlarına göre seçilebilecek 3 çeşit çip vardır. 314 chip v2 ortalama 80 milyon

okuma kapasitesinde, 316 chip v2 ortalama 600 milyon okuma kapasitesinde ve 318 chip v2 1 milyar 200 milyon okuma kapasitesindedir. Bu oranlar çalışmanın kalitesine ve çipe yüklenmesine göre değişir.

Çalışmamızda İlgili aşamada Ion 318 chip Kit v2 kullanılarak üretici firma yönergelerine göre çip yüklemesi gerçekleştirildi.

Ön hazırlık;

- Santrifüj 15500 g ve 2 dk olacak şekilde ayarlandı.
- Isı döngü cihazı aşağıdaki gibi programlandı.

  95 ^{o}C 2 dk

  37 ^{o}C 2 dk

1. ‘Kontrol İyon Küre Partiküller’ iyice vortekslendi.
2. Zenginleştirilmiş kalıbın üzerine ‘Kontrol İyon Küre Partiküller’tan 5 µl eklendi (‘Kontrol İyon Küre Partiküller’ cihazın doğru okuma yapıp yapmadığını gösteren solüsyondur) iyice pipetaj yapıldıktan sonra 15500 g’de 2 dk santrifüj edildi.
3. Süzüntü, pellete dikkat edilerek (pellet gözle görülmediği için merkez kaç kuvveti göz önünde bulundurularak pelletin olduğu yer belirlenir) tüpte 15 µl kalacak şekilde uzaklaştırıldı.
4. Tüpe 12 µl Kit içerisinde bulunan sekanslama primeri eklendi ve iyice pipetaj yapılarak pelletin çözülmesi sağlandı.
5. Tüp ısı döngü cihazı’na yerleştirilerek program başlatıldı.
6. Çip kontrolü yapılana kadar ISP’ler oda ısısında bekletildi.
7. Çip kontrolü aşamasında çipe eldivenle dokunmak çipte bulunan problara zarar verdiği için eldiven çıkarılarak cihaz üzerinde bulunan bölmede el topraklandı.
8. Cihaz üzerinde ‘Run’ (Koşum) seçeneği seçildi ve cihazın yönlendirmesiyle yeni çip hazneye yerleştirildi.
9. Yeni çipin barkodu cihaza okutuldu ve barkodların eşleştiğinden emin olunarak ‘chip check’ (çip kontrol) işlemi gerçekleştirildi.

10. Isı döngü cihazı programı bittikten sonra ISP üzerine 3 µl ‘Sekanslama Polimerazı’ eklendi ve 5 dk oda ısısında inkübe edildi.
11. Çip kontrol sonrası çip hazneden çıkarıldı ve 45° lik açı ile tutularak içerisindeki sıvı pipet yardımıyla yavaşça uzaklaştırıldı.
12. Çip santrifüj adaptör çemberine ters bir şekilde çip kulakçığı içeriyi gösterecek şekilde yerleştirilerek 5 sn MiniFuge’de santrifüj edildi ve içerisindeki bütün sıvının uzaklaştığından emin olundu.
13. Çip santrifüj adaptör çemberi ile beraber masanın üzerine konuldu ve inkübasyonu bitmiş pozitif ISP’lerin tamamı çipe çok yavaşça yüklendi.
14. Çip, çip kulakçığı içeriyi gösterecek şekilde MiniFuge’a yerleştirildi ve 30 sn santrifüj edildi.
15. Çip santrifüj adaptör çemberi ile beraber 45°’lik açı ile tutuldu ve bikaç defa çok yavaşça baloncuk oluşması önlenerek pipetaj yapıldı.
16. Çip, çip kulakçığı dışarıyı gösterecek şekilde MiniFuge’a yerleştirildi ve 30 sn santrifüj edildi.
17. 15. basamak tekrarlandı ve bu sefer çip kulakçığı içeriyi gösterecek şekilde MiniFuge’a yerleştirildi ve 30 sn santrifüj edildi.
18. Santrifüj sonrası çip içerisindeki sıvı tamamen uzaklaştırıldı.
19. Çip içerisinde pipetajla sıvının uzaklaştırılmasının yeterli olmadığı durumlarda, çip kulakçığı dışarıyı gösterecek şekilde 5 sn santrifüj edildi.
20. Bütün sıvının uzaklaştığından emin olunduktan sonra çip, çip haznesine yerleştirildi.
21. Cihazda ‘ilerle’ seçeneğine basıldı ve daha önceden planlanmış koşum seçilerek sekanslama başlatıldı.

Cihazın çalışması bittiğinde Ion Torrent sunucusu ve online data analizi programları ile veri analizleri gerçekleştirilir.

Ion Torrent sunucusu üzerinde koşum özeti (toplam okuma sayısı, analiz edilen toplam baz sayısı, yüklenen ISP yüzdesi ve yoğunluğu, kullanılabilir okuma yüzdesi, zenginleştirme yüzdesi, klonalite yüzdesi, minimum maksimum ve ortalama okuma uzunluğu, ≥Q20 kalitesindeki okuma sayısı, okumaların homo sapiens referans dizi ile eşleşme yüzdesi, sekansın doğruluğu vb.) görüntülenebilir. Ayrıca indirilen çeşitli

plugin (‘coverage analysis’ve ‘variant caller’) sonuçları alt alta sıralanır ve detaylı analize olanak verirler. Sunucu üzerinde listelenen varyasyonlara tıklandığı zaman IGV programı üzerinden de bölge detayları kolaylıkla incelenebilmektedir.

5.8.6. Ion PGM verilerinin analizi

Ion Torrent PGM’den elde edilen 68 hedef gene ait sekans verilerine ait ham veriler (fastq, bam, bai, vcf ve tsv dosyaları) Torrent sunucusu üzerinden otomatik olarak ion reporter’a (5.0 versiyonu) aktarıldı ve ion reporter üzerinde işlenerek analiz edilebilen formata dönüştürüldü.

Analiz için öncelikle Ion reporter üzerinde ‘iş akış taslağı’aşağıdaki basamaklar izlenerek oluşturuldu:

1. Ion reporter üzerinde ‘iş akış taslağı yarat’ seçildi.
2. DNA ‘single (tek)’ seçilip ‘ilerle’ ye basıldı.
3. Ilk hedef genlere özgü primerlerin tasarım dosyasında bulunan IAD63639_182_Designed.bed belgesi, ‘build GRCh37/hg19’ referans diziye göre hedef bölge olarak seçilip ‘ilerle’ye basıldı.
4. Açılan sayfada analiz için kullanılan ek veritabanları listesi ve versiyonları seçilerek ilerle’ye basıldı (Tablo 7).
5. Açılan sayfada filtreleme seçilmedi ‘filtresiz’ işaretlendi ve ‘ilerle’ye basıldı.

Tablo 7: Ion reporter'da veri analizlerinde kullanılan veritabanları ve versiyonları

Name	Version
5000Exomes	1
COSMIC	67
Canonical RefSeq Transcripts	v63
ClinVar	1
DGV	20130723
DrugBank	1
Gene Ontology	1.218
Named Variants	1
OMIM	03022014
Pfam	26
PhyloP Scores	1
RefGene Functional Canonical Transcripts Scores	4
RefSeq GeneModel	63
dbSNP	138

6. Bir sonraki sayfada referans değer olarak 'No Baseline, don't call CNVs' seçilip 2 defa ilerlendi.
7. Açılan sayfada 'varsayılan final rapor kalıbı' seçildi ve ilerlendi.

8. Açılan sayfadaki analiz parametrelerine ait ek bilgiler varsayılan değerler seçildi ve ilerlendi.
9. Açılan sayfada iş akış taslağına isim verilerek kaydedildi.

Ion reporter'da analiz için izlenen basamaklar ise aşağıdaki gibidir:

1. Ana sayfada sağ üst kısımda bulunan 'Analizi başlat, Manuel' sekmesi tıklandı.
2. Açılan sayfada oluşturulan ve isim verilen iş akış taslağı işaretlenerek ilerlendi.
3. Açılan sayfada 'Torrent Analysis Suite Software'inden otomatik olarak ion reportere aktarılmış ve çalışması biten koşumlara ait örnek listesinden, analiz edilmek istenen örnekler seçildi ve 2 defa ilerlendi.
4. Açılan sayfada 'analizi başlat' düğmesine basıldı ve final analiz formatı elde edildi.

Artık Ion reporter üzerinde birtakım filtreler seçilerek analiz edilen örnekler üzerine tıklandığı zaman varyantlara ait açıklamalar, değişikliklerin genomdaki lokasyonları, referans diziden farklılıkları, değişikliğin tipi (yanlış anlamlı, anlamsız, insersiyon, delesyon vb.) ve yeri (ekzonik, intronik, UTR vb.) popülasyonlardaki minör allel frekansları, 'alel coverage' sayıları ve literatür bilgileri detaylarıyla görüntülendi.

Ion reporter üzerinde her bir hastaya ait işlenmiş veriler aynı sayfada bulunan 'download' seçeneği ile ayrıca zip dosyasında bilgisayarda belirlenen hedefe kaydedildi. Zipli dosyanın içerisinde QC klasörü, varyantlar klasörü, iş akış taslağı ayarlarına ait klasör ve alt sekmeleri bulunmaktaydı.

Varyantlar klasöründeki hastaya ait tsv. uzantılı dosya exel programı ile açılarak varyantların sıralı ve detaylı bilgileri listelendi.

5.9. Yeni Nesil Sekanslama Verilerinin Klasik Sanger Sekanslama ile Doğrulanması

DNA örneğindeki nükleotidlerin tam dizisinin belirlendiği bir yöntemdir. Bu amaç için günümüzde uygulanan yöntem dideoksi metodudur. Prosedür PZR'nin işleyişine benzerdir. DNA tek zincir haline getirilir. Reaksiyona girecek olan karışımda bol miktarda dört çeşit normal nükleotid (dATP, dGTP, dCTP, dATP) bulunur. Karışımda aynı zamanda diziyi rastgele sonlandırmak için farklı renkte floresan kimyasallarla işaretlenmiş dideoksinükleotidler vardır (ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP). DNA polimeraz enzimi ise sentezde zincirin uzaması aşamasında gereklidir. Zincir uzaması esnasında normal nükleotidler sırayla eklenir; fakat DNA polimeraz normal deoksinükleotid yerine dideoksinükleotid (renkli olarak gösterilen) eklediği zaman zincirin uzaması sonlanır. Bu eklenme rastgele olduğu için değişik uzunluklarda milyonlarca fragment oluşur. Bu fragmentler aynı zamanda sonlandıkları noktada kendilerine özgü floresan boya da taşımaktadırlar. Reaksiyon sonrasında elektrokinetik enjeksiyon sistemiyle çalışan cihazlarda fragmentler, kısadan uzuna doğru ayrılırlar. Bu ayrım kapiller denilen ince borucukların içerisinde o kadar hassas yapılır ki, birer nukleotid uzunluk farkıyla birbirlerini izlerler. Sonlandırıldıkları noktada dideoksinükleotid taşıdıkları için her bir fragment dört çeşit dideoksinükleotidten birine ait floresan boyada bulundurmaktadır. Kapillerde bulunan küçük cam pencerenin önünden geçerken cihazın lazer sistemi flouresan boyaları uyararak her birinin kendine özgü dalga boyunda ışıma yapmasını sağlar. Yine cihaza entegre bir kamera sistemiyle bu ışımalar kaydedilir, sıraya konup değişik bilgisayar değerlendirmeleri ve filtrasyon işlemlerinden geçirildikten sonra DNA dizi bilgisi (sekans) olarak bize ulaşır.

5.9.1. PZR ve DNA dizi analizinde kullanılan primerlerin dizayn edilmesi

Çalışmada PZR ve DNA dizi analizi esnasında kullanılan primerler primer3 input programı ile dizayn edilmiş ve 18-25 bç'lik ileri ve geri primerleri; Sentegen, Türkiye firmasından temin edilmiştir.

5.9.2. DNA dizi analizi ile konfirme edilecek bölgelerin PZR ile çoğaltılması

Polimeraz zincir reaksiyonu, herhangi bir organizmadan izole edilmiş genomik DNA'daki özgül bölgelerin uygun primerler yardımıyla çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlayan, basit ve çok başarılı in-vitro DNA sentezi yöntemidir.

PZR tekniğinin prensibi tekrarlanan 3 basamağa dayanır:

1. Amplifiye edilecek DNA'nın yüksek sıcaklıkta denatürasyonu
2. Primerlerin (ortalama 20 nükleotit uzunluğundaki sentetik DNA fragmentleri) kalıp DNA üzerinde bulunan, kendilerine eşlenik (komplementer) bölgeler ile özgül hibridizasyonuna olanak verecek sıcaklıkta birleşme (annealing) reaksiyonu
3. Taq DNA polimeraz enzimin en yüksek aktivite gösterdiği sıcaklık olan 72ºC'de DNA'nın polimerizasyonu; tamamlayıcı zincir sentezi

Reaksiyonun özgüllüğü çok iyi tanımlanmış oligonükleotitlerin seçilmesiyle sağlanır. Bunlar amplifiye edilecek DNA'ya bağlanacak olan, bağlanma bölgesine eşlenik yapıda, kısa tek zincirli sentetik DNA molekülleridir.

PZR tekniğinde ısıya dayanıklı bir bakteri olan *Thermus aquaticus*'tan izole edilen "Taq Polimeraz" enzimi kullanılır. Taq polimeraz enzimi 85.000 Da molekül ağırlığında olup 72ºC'de polimerizasyon aktivitesi gösterir ve 94ºC'de inkübe edildikten sonra dahi aktivitesini kaybetmez.

Polimeraz enzimleri aktivite için serbest magnezyum iyonlarına ihtiyaç duyarlar. Başarılı bir amplifikasyon için optimum magnezyum derişiminin bilinmesi gerekir. Her dNTP'den 0,2 mM kullanıldığındaki magnezyum derişimi 1,5-4 mM arasındadır.

Başlangıçtaki DNA molekül sayısı, PZR'ın kaç döngü uygulanacağını belirler. Reaksiyona 1-100 kopya DNA molekülü ile başlanıyorsa; 30-45 döngü, 1000-100000 DNA molekülü ile başlanıyorsa; 20-30 döngü yeterlidir. Döngü sayısı "n" olarak kabul edilirse "2^n", çoğaltılmış DNA materyali miktarını verir.

Tez çalışmasında, yeni nesil sekanslama sonrası tayin edilen patojenik ya da klinik etkisi bilinmeyen muhtemel patojenik, tartışmalı patojenik, muhtemel zararsız ve literatüre bildirilmemiş varyantlara ait DNA içerisinde yer alan özgün bölgeler, uygun primer çiftleri (ileri ve geri) kullanılarak Taq Polimeraz enzimi ile çoğaltıldı ve hasta materyali yanısıra diğer aile bireylerinde taşıyıcılık durumları araştırıldı.

1. -20ºC'de saklanan Taq polimeraz kit solüsyonları çözüldükten sonra, Taq polimeraz hariç reaktifler uygun miktarlarda birleştirilerek reaksiyon karışımı hazırlandı ve +2ºC /+8 ºC'deki soğutucu blokta bekletildi.

2. Ayrı bir kabinde PZR tüpleri buz bloğu üzerine yerleştirildi ve içlerine hasta örneklerine ait DNA'lardan toplam reaksiyon başına 0,1-0,5 µg konsantrasyonda dağıtıldı.

3. Reaksiyon karışımına -20ºC'de saklanan Taq polimeraz eklendi ve DNA kabinindeki hasta DNA'larının üzerine karışım dağıtıldıktan sonra tüpler ısı döngü cihazına uygun program seçilerek yerleştirildi.

Reaksiyon karışımı	**1x**	
dH_2O	30,35	µl
5 x Renksiz GoTaq Flexi tamponu	10	µl
200 mM dNTP karışımı	1	µl
$MgCl_2$ (1.5 mM)	3	µl
İleri primer (20 pmol)	0,2	µl
Geri primer (20 pmol)	0,2	µl
Go Taq DNA polimeraz (1.25 ünite)	0,25	µl
Kalıp DNA (Genomik) (0.1-0.5µg)	5	µl
Toplam Hacim	50	µl

*CG Rich bölgeler için ayrıca reaksiyon karışımına %5'lik DMSO eklendi (50 µl'lik total hacimde reaksiyon karışımı için 2,5 µl DMSO).

4.Isı döngü cihazı cihazındaki PZR koşulları kullanılan Go Taq polimeraz için üretici firma tarafından belirtilen şekilde ve kullanılan primerlerin Tm derecelerine göre ayarlandı.

Uygulanan PZR ısı döngü cihazı koşulları aşağıdaki gibidir:

Derece / basamak	Süre	Döngü
94 ºC/ denatürasyon *CG zengin bölgelerde denatürasyon 95 derecede uygulandı.	5 dk	1
94 ºC / denatürasyon *CG zengin bölgelerde denatürasyon 95 derecede uygulandı.	30 sn	35
55-63 ºC / bağlanma * Primer Tm'lerine göre belirlendi	0.5-1 dk	
72 ºC / uzama	50 sn	
72 ºC / final uzama	5 dk	1
4 ºC	sonsuz	1

5. Polimeraz zincir reaksiyonu uygulamalarında kontaminasyonun takibi için ek olarak negatif kontrol de çalışmaya eklendi. Negatif kontrolde kalıp DNA yerine distile su kullanıldı.

5.9.3. ORTE Görüntüleme sistemi ile PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

Nükleik asit parçacıklarının tanımlanması, saflaştırılması ve ayrılması için en yaygın ve pratik olarak kullanılan yöntem agaroz jel elektroforezidir. Agaroz jeldeki örnekler genellikle yatay pozisyonda, sabit güç ve yöndeki elektriksel alanda yürütülmektedir.

Agaroz, deniz yosunlarından elde edilen, dallanmamış zincir polimerlerdir. DNA'nın molekül büyüklüğü ve agaroz konsantrasyonu jelde DNA'nın hareket hızını etkiler. Büyük moleküller jelde daha yavaş hareket ederken agaroz konsantrasyonu arttıkça da ayrışma gücü artar.

1. Agaroz jel elektroforezi için öncelikle temiz ve kuru jel kabının kenarları jel döküldüğü zaman akmaması için otoklav bandı ile sarıldı. Bu kap yatay durumda düzgün bir zemin üzerine yerleştirildi. DNA'nın yürütüleceği kuyucukların oluşmasını sağlamak için tarak yerleştirildi.
2. Erlenmayer içine 100 ml'lik agaroz jel için 2 gram agaroz (%2'lik) tartılarak ilave edildi ve üzerine 100 ml 0,5X TAE tamponu eklendi. Tampon içindeki agaroz jel eriyene kadar mikrodalga fırında maksimum sıcaklıkta kaynatıldı. Çözeltinin yeteri kadar soğuması sağlandı ve daha önce hazırlanan jel kabına tek seferde dikkatlice yayıldı.
3. Jel oda sıcaklığında yaklaşık olarak 30 dk kadar bekletilerek polimerleşmesi sağlandı. Süre sonunda tarak ve otoklav bantları çıkartılarak jel elektroforez tankına yerleştirildi.
4. Amplifikasyon ürünlerinden 10 µl DNA örneği, 3 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi, PZR ürün boylarının kontrolü için en baştaki kuyucuğa 100 bç'lik DNA belirteci yüklendi ve 100 volt elektrik akımı verildi. ORTE görüntüleme sisteminde yaklaşık yarım saatlik bir yürütmeden sonra elektroforez işlemi durduruldu.

5.9.4. Amplifiye edilen PZR ürünlerinin pürifiye edilmesi

Dizi analizi reaksiyonu öncesi PZR karışımındaki primer, dNTP gibi kimyasalların ortamdan uzaklaştırılması için pürifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

Amplifiye edilen PZR ürünleri 'ASAP EXO-SAP PZR Saflaştırma, Arcticzymes' kit protokolü yönergeleri takip edilerek pürifiye edildi. Bunun için kit içerisinde bulunan iki hidrolitik enzim olan recombinant shrimp alkalin fosfataz (rSAP) ve ekzonükleaz 1 enzimlerinden 1'er µl ilave edilerek toplamda 2µl olan enzim karışımı; 5 µl PZR ürünü ile birleştirilerek 37 ^{o}C 'de 5 dk ve 80 ^{o}C 10 dk muamele edildi.

5.9.5. Pürifiye edilen PZR ürünleri için tek yön sekans reaksiyonunun hazırlanması

Pürifiye PZR ürünleri dizi analizi için "Dye Terminator Cycle Sequencing (DTCS) Quick Start Kit, Beckman Coulter" yönergeleri takip edilerek tek yön sekans reaksiyonu hazırlandı.

Çalışma solüsyonu, toplam 10µl reaksiyon için, bir örnek için aşağıdaki miktarlar kullanılarak (çalışılacak toplam test sayısından bir fazlası için olacak şekilde) hazırlandı:

GenomeLab DTCS - Quick Start Kit	4 µl
Ileri veya geri primer (PZR yapılan primerler ile) (10 pmol)	1 µl
H_2O	4 µl
Saflaştırılmış amplikon	1 µl

Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra ısı döngü cihazında kit protokolünde belirtilen PZR programı kullanılarak sekans reaksiyonu gerçekleştirildi.

Isı döngü cihazı PZR programı:

Derece	Süre	Döngü
96 ºC / denatürasyon	20 sn	1
50 ºC	20 sn	30
60 ºC	2 dakika	
4 ºC	Sonsuz	1

5.9.6. Sekans reaksiyonu ürünlerinin saflaştırılması

Sekans reaksiyonu hazırlanan PZR ürünleri, 'SPRI CleanSeq Manyetik Boncuklar, Beckman Coulter' kullanılarak Kit protokolü yönergeleri izlenerek etanol çöktürmesi ile tekrar pürifiye edildi.

1. SPRI CleanSeq Manyetik Boncuklar, homojen olana kadar iyice çalkalandı.
2. 10 µl SPRI CleanSeq Manyetik Boncuklar ve 42 µl %85'lik ethanol her bir örneğe ilave edildi. Solüsyon homojen hale gelene kadar birkaç kez karıştırıldı.
3. Karışım 96S Super Manyetik Plaka içine konuldu ve 3 dk bekletilerek manyetik boncukların plaka çeperine yapışması sağlandı.
4. Örnekleri manyetik table içinden ayırmadan süzüntü uzaklaştırıldı.
5. Örnekler üzerine 100 µl %85'lik etanol ilave edildi ve 30 sn beklendikten sonra etanolün tamamı örnekler manyetik tabla içindeyken uzaklaştırıldı.
6. Örnekler birkaç dakika oda ısısında hava ile teması sağlanarak kurutuldu.
7. Örnekler manyetik tabladan alındı ve üzerine 40 µl elüsyon tamponu ilave edildi. Solüsyon homojen hale gelene kadar birkaç defa pipetaj yapıldı.
8. Boncukların aşağıda toplanması için örnekler manyetik tablanın üzerinde (içine konmadan) 3 dk bekletildi.
9. Örnekler üzerine, buharlaşmanın engellenmesi için 1'er damla mineral yağ damlatıldı ve koşuma hazır hale getirildi.

5.9.7. Saflaştırılan örneklerin "Genome Lab GEXP, Beckman Coulter" cihazına yüklenmesi

1. Bilgisayarda "GenomeLab Sistem Kurulum" programı açıldı. Buradan "Kurulum" modülüne girilerek "yeni plaka oluştur" modülünden örnek isimleri plakada yüklenilen yere uygun olarak yazıldı ve plaka kaydedildi.
2. Cihazı örnek yüklemesine hazırlamak amacıyla, jel miktarı kontrol edildi, yeterli miktarda jel olmadığı konumda "koşum" modülünden "enjekte et" modülüne girilerek cihaza yeni bir jel yüklendi.

3. Örnekler yüklenmek için hazırlanırken aynı zamanda başka bir plakaya örnek plakasıyla aynı kuyucuklara karşılık gelecek şekilde “seperasyon tamponu” yüklendi.
4. Pürifiye edilen ve üzerine mineral yağ damlatılmış örnekleri cihaza yüklemek için önce koşum modülünden “plakalara erişim” modülü seçildi ve hazırlanmış her iki plaka cihaza yüklendi.
5. Ekranın üst kısmındaki ‘örnek plakaların koşumu’ modülü aktif hale geldiğinde koşum başlatıldı.
6. Sekanslama protokolü tamamlandığında programın ana ekranından ‘sekanslama’ modülü, açılan sayfadan ise ‘grup analiz’ modülü seçildi.
7. Çıkan ekrandan tamamlanmış olan sekanslar seçildi ve ‘tamam’ modülüne basıldı.
8. Sekansların analizi tamamlandıktan sonra ‘sekanslama’ modülü kapatıldı ve ‘veri yönetimi’ modülü açıldı.
9. Bu modülden analizi tamamlanmış sekanslar seçildi ve bilgisayarda istenilen klasöre aktarıldı.

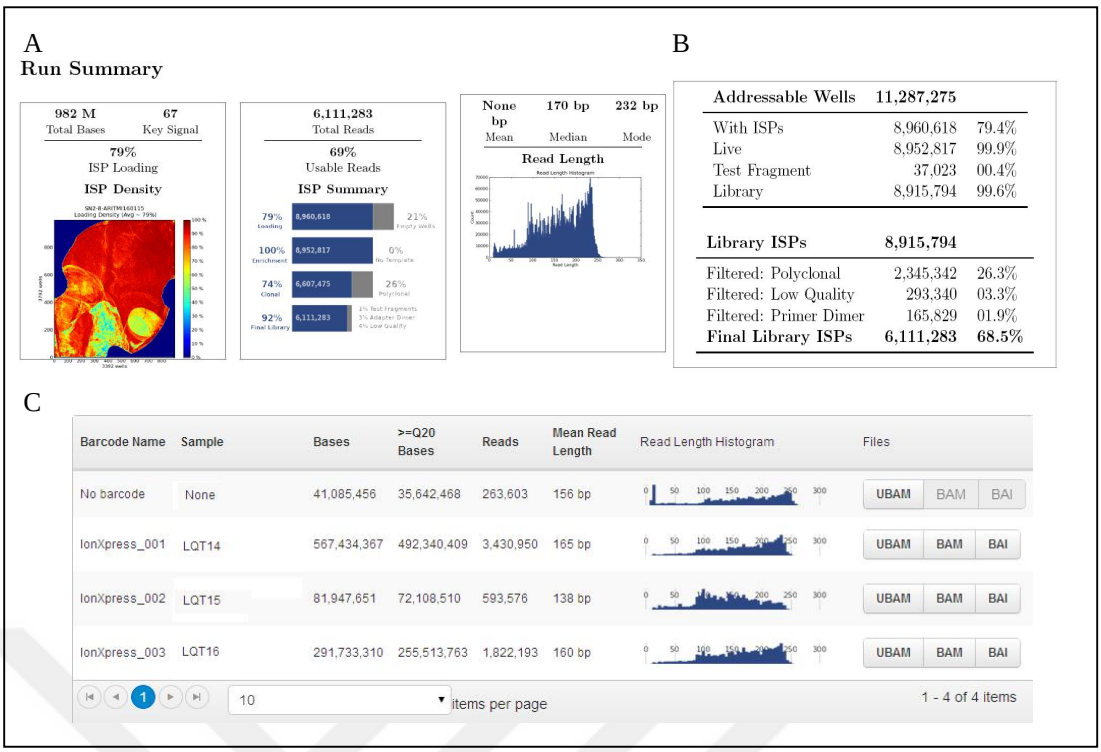
5.9.8. Sonuçların DNASTAR yazılımı ile analizleri

DNA dizi analizi cihazından alınan scf uzantılı analiz sonuçları, DNASTAR programında referans diziyle karşılaştırılarak referans diziden farklılıklar değerlendirildi.

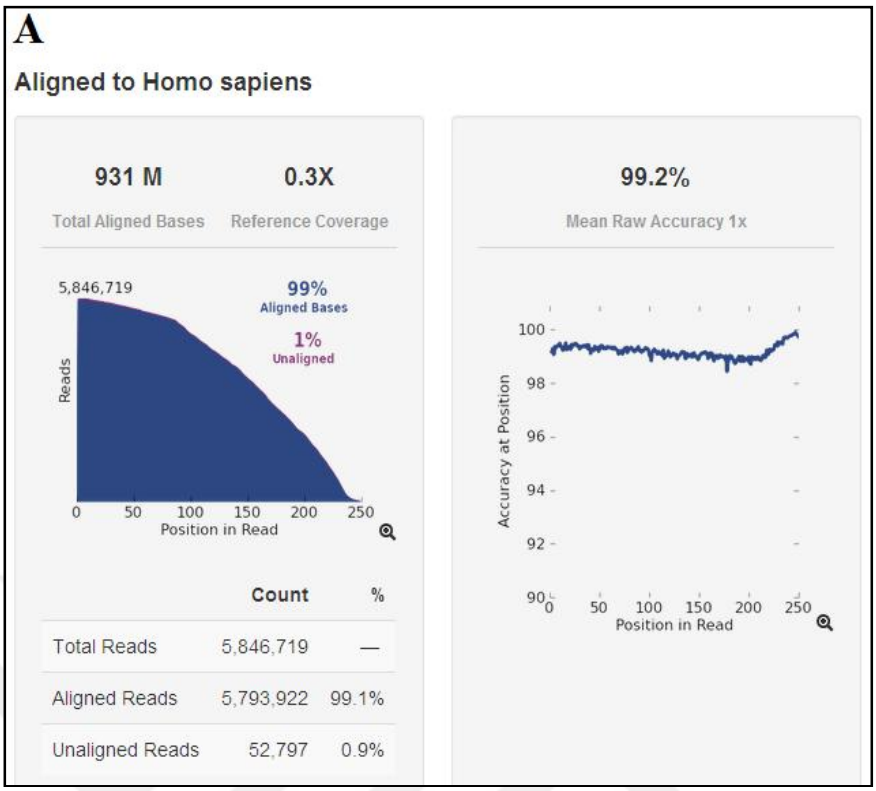
6. BULGULAR

6.1. Ion Torrent Sunucusu'nda Gerçekleşen Yeni Nesil Sekanslama Koşum Özeti

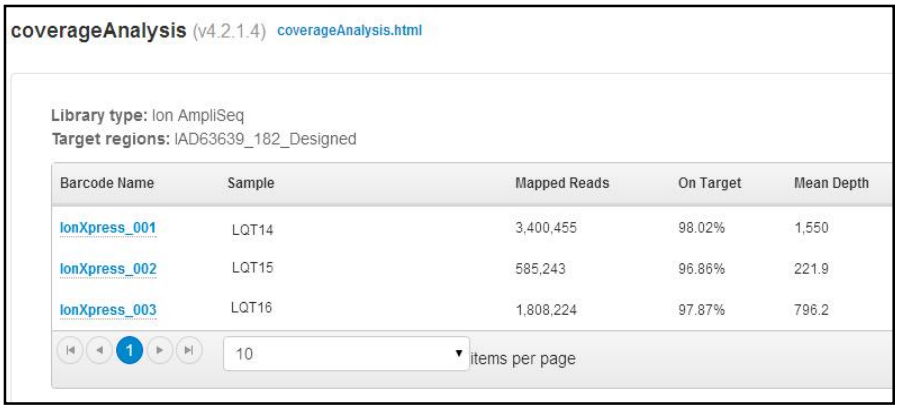
318 chip v2, toplam 11 milyon kuyucuk olup toplam 4-5,5 milyon okuma ve 200 bç'lik 600 MB-1 GB'lık çıktı alınabilir. Her koşumda elde edilen çıktı yüklenen hasta sayısı ve çalışmanın kalitesine gore değişkenlik göstermektedir. Ion PGM cihazında Ion 318 v2 çip kullanılarak tek bir koşumda yüklenen 3 hastaya ait koşum özeti şekillerde gösterilmiştir. Çalışılan toplam 92 UQT hastası için yaklaşık 40 başarılı koşum gerçekleştirilmiştir. Başarılı koşumdan kastedilen, çipe yüklenen ISP yüklemesinin %50'nin üzerinde olması, her hasta için en az %90-95 hedef gen bölgesini sekanslayabilmek, en az %98-99 oranda homo sapiens genomu ile eşleşme yakalayabilmek, ISP kalitesinin yüksek olması (Poliklonalitenin yani her bir ISP'ye 1'in üzerinde kalıp bağlanma oranının ≤%30 olması, primer dimer ve düşük kaliteli kısa okuma elde edilen verilerin olabildiğince azlığı) referans genomla yüksek oranda eşleşme, ortalama okuma uzunluğunun 100 bç'in üzerinde olması, ortalama okuma derinliğinin yüksek olması ve çalışma doğruluğunun yüksek olmasıdır (Şekil 58 ve 59).



Şekil 58: Tez çalışmasında çalışılan başarılı bir koşum özeti. A- 318 chip v2 kullanılarak gerçekleştirilen başarılı bir koşumda ISP yükleme %79 oranda gerçekleşmiştir. Şekildeki kırmızı alanlar yüklemenin çok yoğun olarak gerçekleştiği alanlardır. Mavi alanlar boş kısımlar, açık yeşil ve sarı kısımlar ise yüklemenin daha düşük gerçekleştiği kısımlardır. Çalışmada 318 chip V2 için toplam 982 MB'lık bir çıktı eldesi olmuştur. Çipte kullabılabilir 6 111 283 okuma gerçekleşmiştir. Kullanılan okumaların %69'u kullanılabilir niteliktedir. Zenginleştirme işlemi %100 gerçekleşmiştir. Elde edilen okumaların %74'ü klonaldır (Yani ISP'lerin %74'üne tek bir kalıp DNA bağlanmıştır). Toplam 8 960 618 okumanın %1'i test fragmanı, %3'ü adaptor dimeri, %4'ü düşük kaliteli okuma olup final kütüphanenin %92'si kullanılabilir okumadır (Toplam kullanılabilir 6 111 283 okuma). Çalışmada ortalama okuma uzunluğu 170 bç'dir. **B-** Okumalara ait daha detaylı bilgileri içermektedir. 8 960 618 okumanın 37 023 tanesi test fragmanıdır. Kalan 8.915.794 okumanın 2 345 342 tanesi poliklonal olup 293 340 tanesi düşük kalitede ve 165.829 tanesi primer dimerlidir. Poliklonal, düşük kalitede ve primer dimer verileri filtrelenmiş ve atılmıştır. Geriye 6 111 283 kullanılabilir okuma kalmıştır (~%69). **C-** Her bir hasta farklı bir barkodla işaretlenmiştir (İonXpress_001-003). Test fragmanına ve her hastaya ait toplam okunan baz sayısı, Q20 kalitesindeki baz sayısı, okuma sayısı ve amplikonların ortalama okuma uzunluğu ve histogramı, verilere ait UBAM, BAM ve BAI dosya uzantıları şekilde gösterilmiştir.

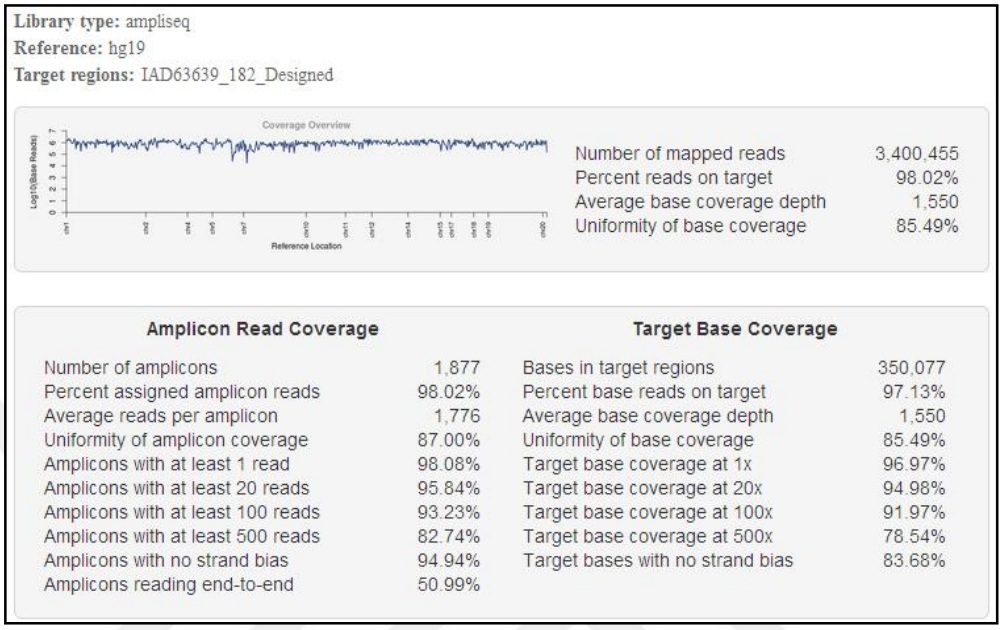


Şekil 59: Koşumun referans dizi ile benzerliği ve doğruluğu. Referans dizi ile eşleşen toplam çıktı 931 Mb'dır. Okumaların %99'u referans genom olan homo sapiens ile eşleşmiştir (5846719 okuma) okumaların referans genom ile eşleşmeyen kısmı sadece %0,9'dur (52797 okuma). Her bir referans pozisyonunu içeren ortalama okuma sayısı 0,3X'dir (Toplam eşleşen baz sayısının referans dizideki baz sayısına bölümüyle hesaplanmıştır). Koşum %99,2 doğrulukla gerçekleşmiştir.



Şekil 60: Başarılı bir koşuma ait analiz kapsamı özeti. Farklı barkodlarla işaretli hastalara ait haritalanan okuma sayısı, hedefe eşleşen yüzde ve ortalama okuma derinliği 3 hasta için gösterilmektedir. Örneğin, IonXpress_001 barkodu ile işaretli hastaya ait haritalanan okuma sayısı 3 400 455 olup 68 hedef gen bölgesinin %98,02'si başarıyla okunmuş ve ortalama okuma derinliği 1550 tekrardır (Her hedef kalıp DNA'yı ortalama 1550 tekrarlı okumuştur).

Ion Torrent Sunucusu üzerinde Kapsam Analiz görüntüsü üzerinde hasta barkod numarasına tıklandığı zaman açılan raporda görünen hastaya ait detaylı koşum kapsam özeti ise aşağıdaki gibidir (Şekil 61).



Library type: ampliseq
Reference: hg19
Target regions: IAD63639_182_Designed

Number of mapped reads	3,400,455
Percent reads on target	98.02%
Average base coverage depth	1,550
Uniformity of base coverage	85.49%

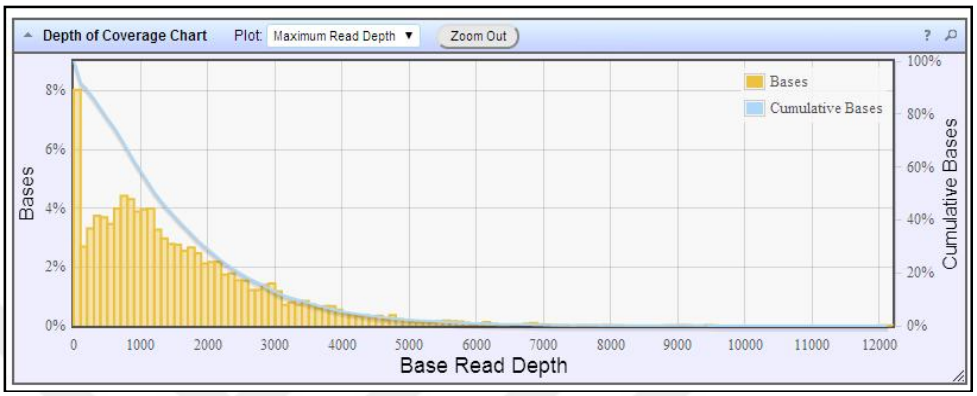
Amplicon Read Coverage		Target Base Coverage	
Number of amplicons	1,877	Bases in target regions	350,077
Percent assigned amplicon reads	98.02%	Percent base reads on target	97.13%
Average reads per amplicon	1,776	Average base coverage depth	1,550
Uniformity of amplicon coverage	87.00%	Uniformity of base coverage	85.49%
Amplicons with at least 1 read	98.08%	Target base coverage at 1x	96.97%
Amplicons with at least 20 reads	95.84%	Target base coverage at 20x	94.98%
Amplicons with at least 100 reads	93.23%	Target base coverage at 100x	91.97%
Amplicons with at least 500 reads	82.74%	Target base coverage at 500x	78.54%
Amplicons with no strand bias	94.94%	Target bases with no strand bias	83.68%
Amplicons reading end-to-end	50.99%		

Şekil 61: Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporu
Raporun en üst kısmında kullanılan kütüphane tipi (Ampliseq) referans genom (Hg19) ve 68 gene ait hedef bölge dosyası (IAD63639_182_Designed) belirtilmiştir.

Şekil 61'e göre hastaya ait haritalanan 3 400 455 okumanın %98,02'si hedef bölgede olup bunu 1550 tekrarlı okumuş ve baz kapsamının tam benzerliği %85.49'dur (Ortalama baz kapsam derinliği en az 0,2X olan tüm hedef bölgelerdeki baz yüzdesi). Amplikon Okuma Kapsamlarına ait detaylar şu şekildedir: 68 gene ait toplam hedef bölgelere ait 1887 amplikon değerlendirilmiş, hedeflenen bölgenin %98,02'si başarıyla okunabilmiştir. Her amplikon ortalama 1776 defa okunmuştur. Amplikon kapsam tam benzerliği %87'dir. Amplikonların %98,08'i en az 1 defa okunmuş, %95,84'ü en az 20 defa, %93,23'ü en az 100 defa, %82,74'ü en az 500 defa okunmuştur. İplikçik sapması olmayan okuma yüzdesi %94,94'dür. Amplikonların %50,99'u uçtan uca okunmuştur. Hedef baz kapsamı ise şu şekildedir: Hedef bölgelerdeki toplam baz sayısı 350 077'dir. Hedefteki baz okuma yüzdesi %97,13'dür. Ortalama baz kapsam derinliği 1550'dir. Baz kapsam eşbenzerliği %85,49'dur. Referans diziyle en az 1x okuma ile eşleşen toplam hedef

baz yüzdesi %96,97'dir. Referans diziyle 20x okuma, 100X okuma ve 500X okuma ile eşleşen hedef baz yüzdeleri ise sırasıyla %94,98, %91,97 ve %78,54'dür. İleri ve geri iplikçik okumalarında sapma olmayan toplam baz yüzdesi ise %83,68'dir.

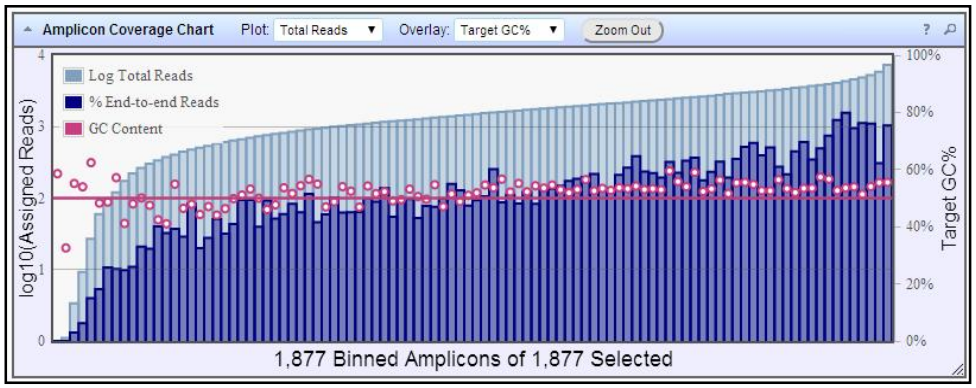
Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporundaki baz okuma derinlik grafiği ise Şekil 62'de gösterilmektedir.



Şekil 62: Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporundaki baz okuma derinlik grafiği

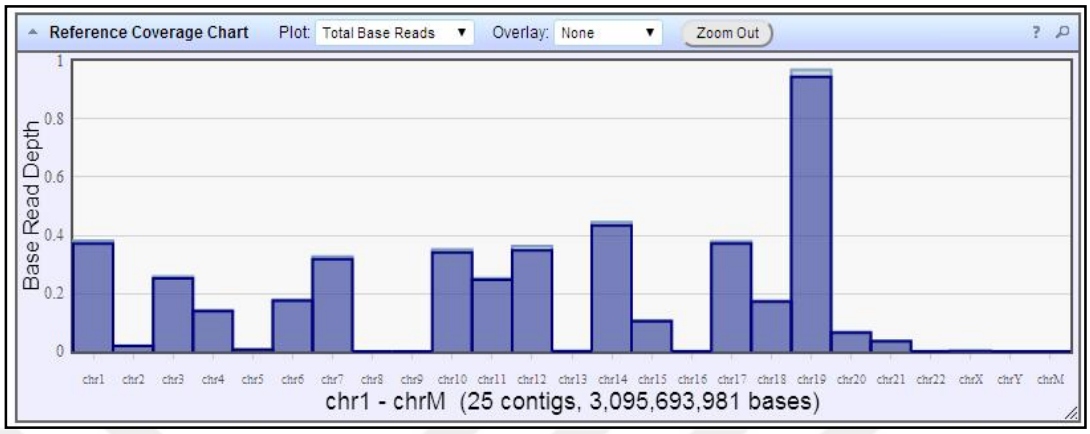
Grafikte soldaki Y ekseni (% okuma) belirli bir okuma derinliğindeki okuma yüzdesini göstermektedir. Sağdaki Y ekseni (yüzde kümülatif okumalar) ise belirli bir okuma derinliğindeki okuma sayılarının kümülatif hesabını göstermektedir.

Amplikon kapsam grafiği ise aşağıda gösterilmiştir (Şekil 63).



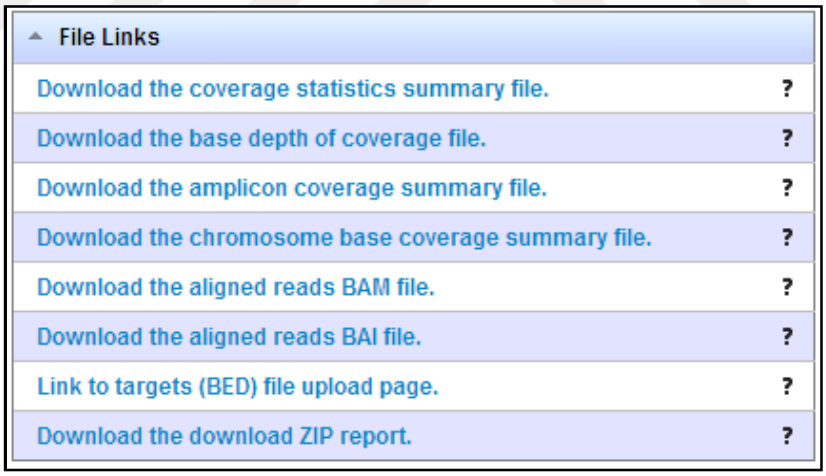
Şekil 63: Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporundaki amplikon kapsam grafiği. Grafikte koşum sonucu elde edilen 1877 amplikona ait toplam okumaların logaritmik değeri, uçtan uca okumaların %'si ve okumaların % GC içeriği gösterilmektedir.

Şekil 64'te başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait baz okuma derinliklerine göre referans kapsam grafiği gösterilmiştir (Şekil 64).



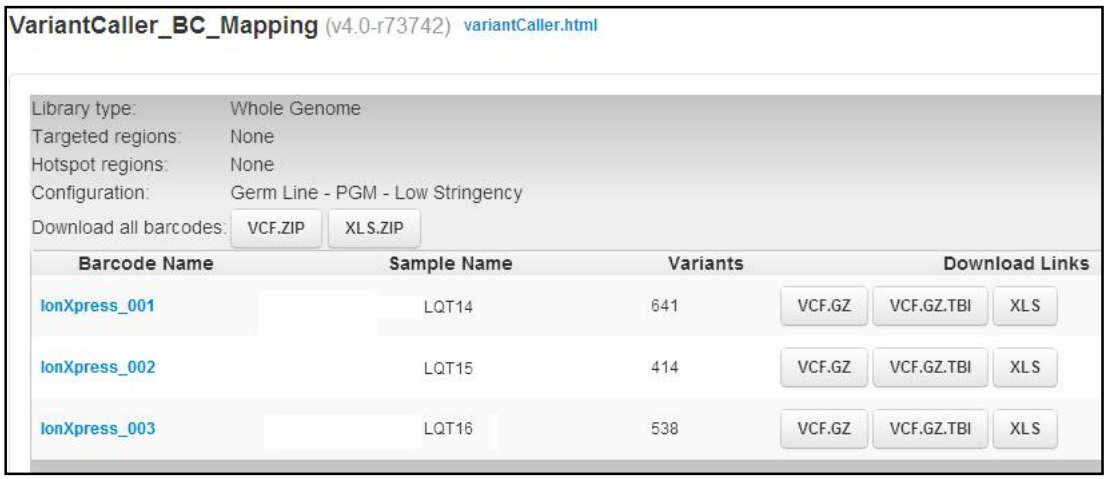
Şekil 64: Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporundaki referans kapsam grafiği. Grafikte hedef 68 genin lokalize olduğu kromozom bölgelerine ait baz okuma derinlikleri gösterilmektedir.

Koşum sonunda tüm istatistiksel veriler ve analiz dosyaları Ion torrent sunucusu üzerinden indirilebilmiştir (Şekil 65).



Şekil 65: Başarılı bir koşumda tek bir hastaya ait analiz kapsamı raporunun en altındaki indirilebilir dökümanlar

Ion Torent sunucusu üzerinde 'VariantCaller_BC_Mapping plug-in'indeçalışılan örneklerin barkod numaraları, her örnek için saptanan toplam varyant sayısı görüntülenebilmiştir (Şekil 66).



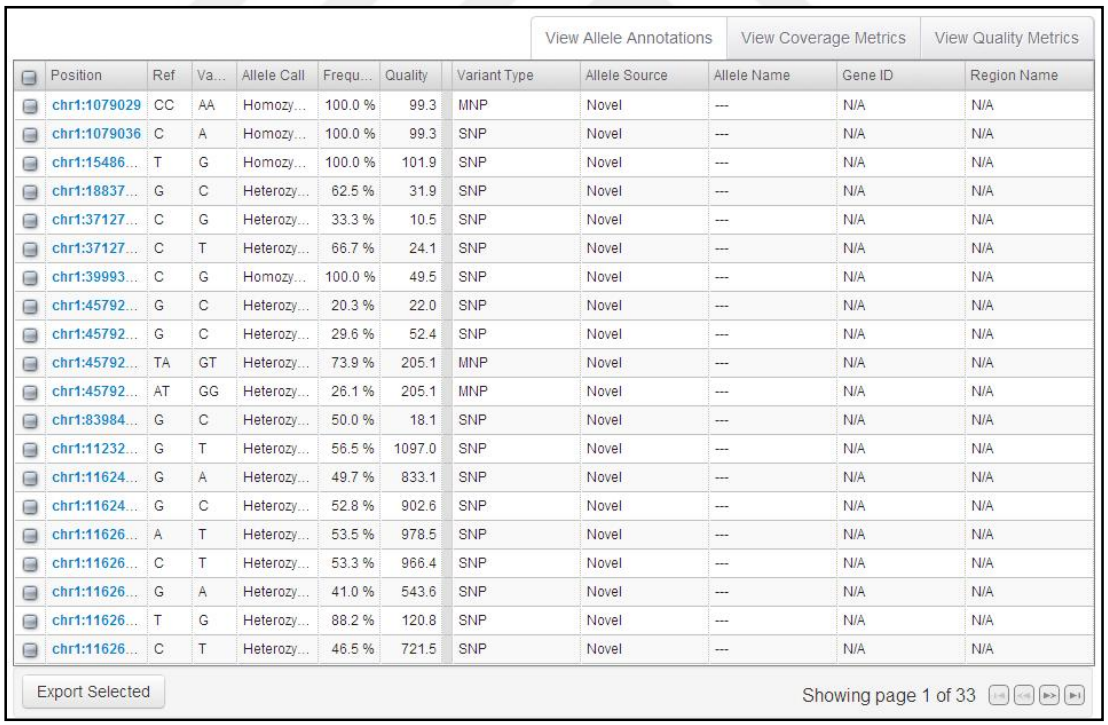
VariantCaller_BC_Mapping (v4.0-r73742) variantCaller.html

Library type: Whole Genome
Targeted regions: None
Hotspot regions: None
Configuration: Germ Line - PGM - Low Stringency
Download all barcodes: VCF.ZIP XLS.ZIP

Barcode Name	Sample Name	Variants	Download Links		
IonXpress_001	LQT14	641	VCF.GZ	VCF.GZ.TBI	XLS
IonXpress_002	LQT15	414	VCF.GZ	VCF.GZ.TBI	XLS
IonXpress_003	LQT16	538	VCF.GZ	VCF.GZ.TBI	XLS

Şekil 66: Başarılı bir koşumda 'VariantCaller_BC_Mapping plug-in'ine (eklentisine) ait Ion Torrent sunucusu görüntüsü. İlgili eklenti içerisinde çalışılan örneklere ait belirlenen toplam varyant sayısı ve barkod numaraları görüntülenebilmiştir. Varyantlara ait VCF ve exel dosyaları indirilebilmektedir.

Şekil 66'daki tek bir hastanın barkod numarasına tıklandığı zaman hastaya ait çalışma sonucunda belirlenen varyasyonlar liste halinde sıralanmıştır (Şekil 67).



View Allele Annotations | View Coverage Metrics | View Quality Metrics

Position	Ref	Va...	Allele Call	Frequ...	Quality	Variant Type	Allele Source	Allele Name	Gene ID	Region Name
chr1:1079029	CC	AA	Homozy...	100.0 %	99.3	MNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:1079036	C	A	Homozy...	100.0 %	99.3	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:15486...	T	G	Homozy...	100.0 %	101.9	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:18837...	G	C	Heterozy...	62.5 %	31.9	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:37127...	C	G	Heterozy...	33.3 %	10.5	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:37127...	C	T	Heterozy...	66.7 %	24.1	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:39993...	C	G	Homozy...	100.0 %	49.5	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:45792...	G	C	Heterozy...	20.3 %	22.0	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:45792...	G	C	Heterozy...	29.6 %	52.4	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:45792...	TA	GT	Heterozy...	73.9 %	205.1	MNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:45792...	AT	GG	Heterozy...	26.1 %	205.1	MNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:83984...	G	C	Heterozy...	50.0 %	18.1	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:11232...	G	T	Heterozy...	56.5 %	1097.0	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:11624...	G	A	Heterozy...	49.7 %	833.1	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:11624...	G	C	Heterozy...	52.8 %	902.6	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:11626...	A	T	Heterozy...	53.5 %	978.5	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:11626...	C	T	Heterozy...	53.3 %	966.4	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:11626...	G	A	Heterozy...	41.0 %	543.6	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:11626...	T	G	Heterozy...	88.2 %	120.8	SNP	Novel	---	N/A	N/A
chr1:11626...	C	T	Heterozy...	46.5 %	721.5	SNP	Novel	---	N/A	N/A

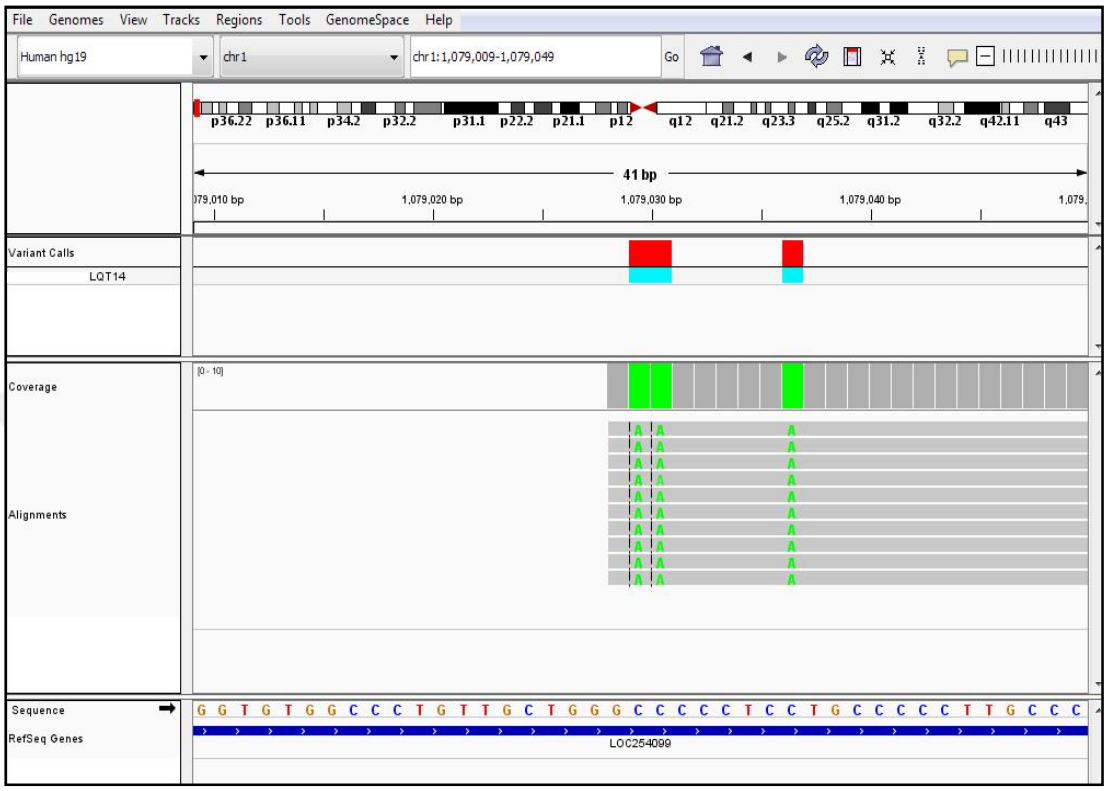
Export Selected

Showing page 1 of 33

Şekil 67: Başarılı bir koşumda 'VariantCaller_BC_Mapping plug-in'inde (eklentisinde) varyantların listelenmesi

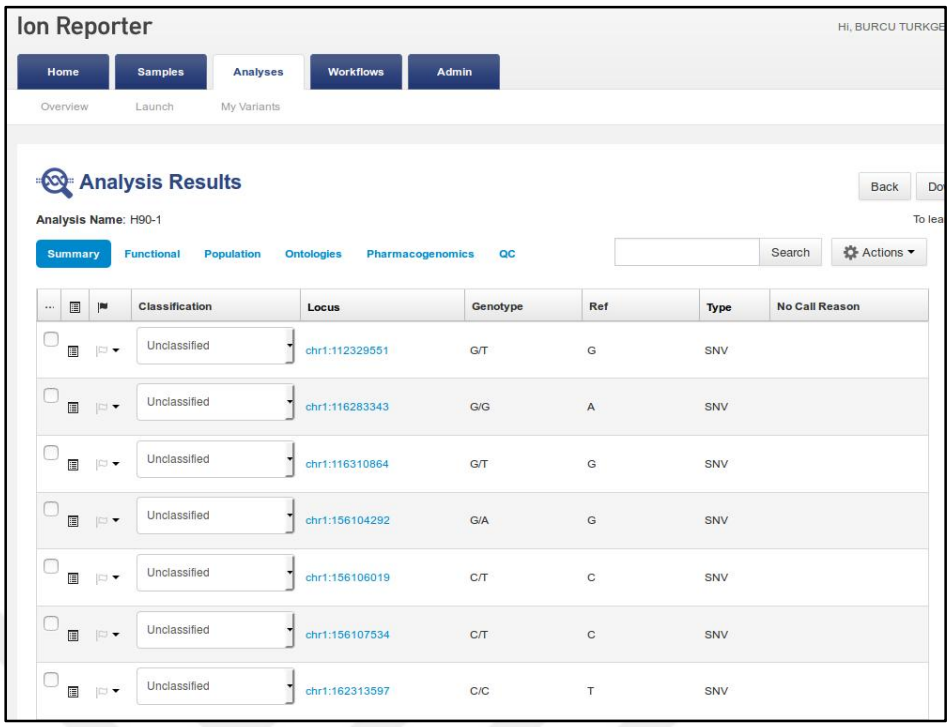
'VariantCaller_BC_Mapping plug-in'inde (eklentisinde) Şekil 67'de hastaya ait varyant listesinde genomdaki pozisyonuna tıklandığı zaman sayfa IGV'ye otomatik

olarak yönlendirilmiş ve varyasyon bölgesini daha detaylı incelemek mümkün olabilmiştir (Şekil 68).



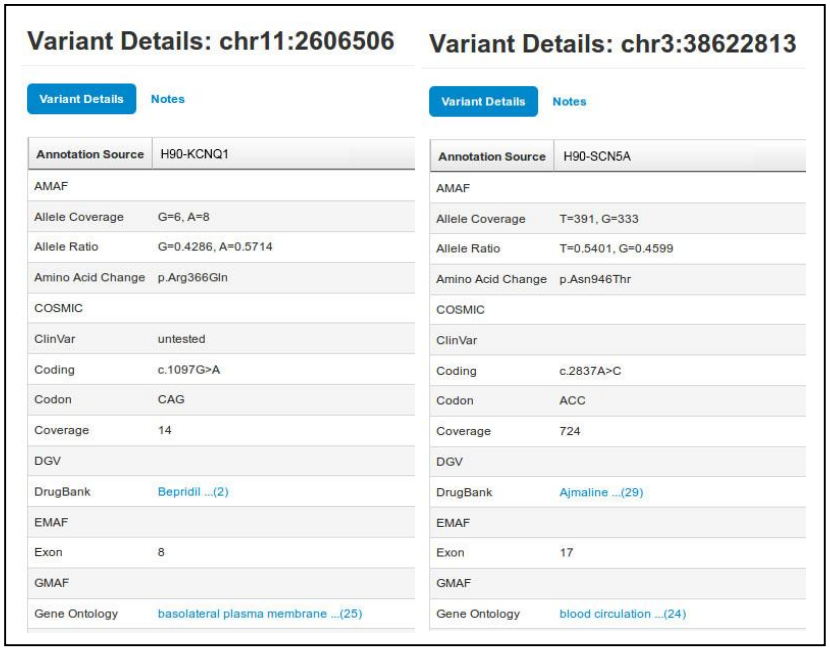
Şekil 68: Başarılı bir koşumda Ion Torrent sunucusunda tespit edilen bir varyanta ait IGV görüntüsü

Koşum sonunda tüm analiz dosyaları sistem üzerinden elle komut verilerek ya da otomatik olarak tüm verilerin işlendiği ve final varyant raporunun oluşturulduğu ion reporter sistemi üzerine aktarılmış ve ion reporter üzerinden varyantlara ait detaylı bilgilere ulaşılmıştır. Örnek olarak tez çalışmasına dahil edilen H90 hastasında, yeni nesil sekanslama sonucu tespit edilen varyantların Ion Reporter görüntüsü gösterilmiştir (Şekil 69).



Şekil 69: H90 hastasında yapılan yeni nesil sekanslama sonucu varyant listesinin Ion Reporter görüntüsü

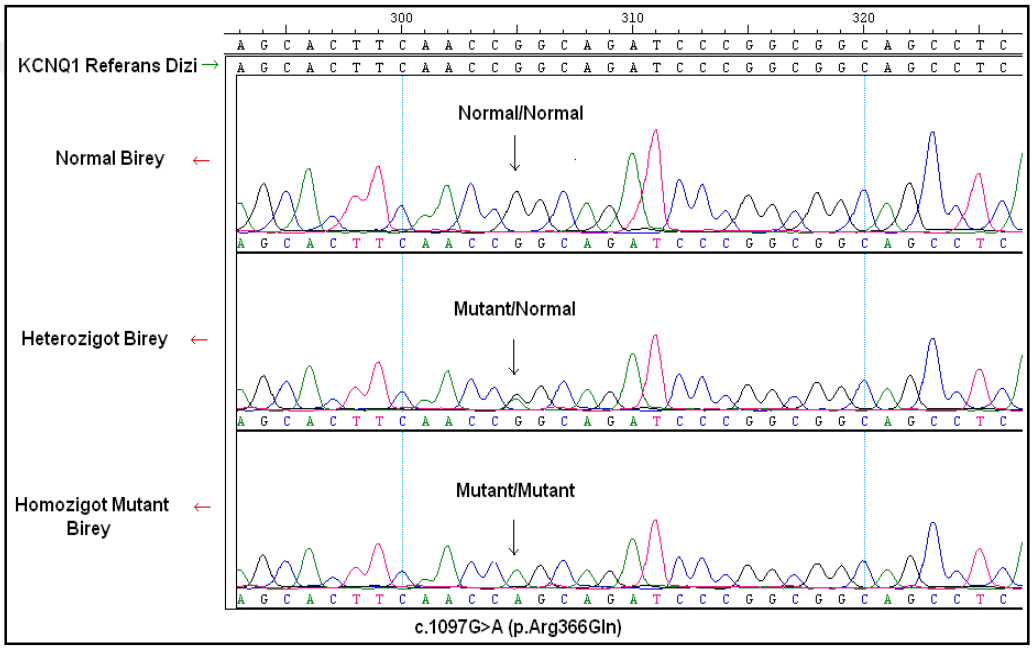
H90 hastasında belirlenen *KCNQ1* genindeki patojenik c.1097G>A (p.Arg366Gln) mutasyonu ve literatürde daha önce bildirilmemiş olan SCN5A geni c.2837A>C (p.Asn946Thr) varyantı için Ion Reporter görüntüleri (Şekil 70).



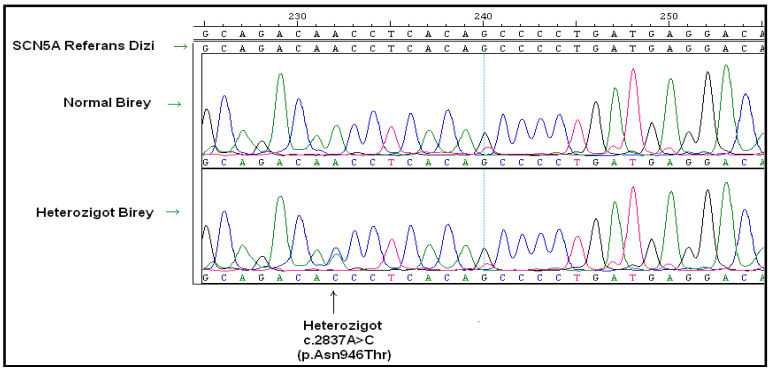
Şekil 70: H90 hastasında tespit edilen *KCNQ1* geni c.1097G>A ve *SCN5A* geni c.2837A>C varyantlarının Ion Reporter görüntüleri

6.1.2. Yeni nesil sekanslama sonrası tespit edilen patojenik/şüpheli varyantların klasik Sanger dizileme ile doğrulanması

Yeni nesil sekanslama sonucunda elde edilen yeni nesil veriler, ikinci bir metod olan klasik Sanger Sekanslama ile doğrulanmıştır. Doğrulama çalışmasına örnek olarak H90 hasta ve ailesinde belirlenen varyantlara ait DNA dizi analizi görüntüsü eklenmiştir. H90 hastasında belirlenen *KCNQ1* genindeki patojenik c.1097G>A (p.Arg366Gln) mutasyonu ve literatürde daha önce bildirilmemiş olan *SCN5A* geni c.2837A>C(p.Asn946Thr) varyantı için normal, heterozigot ve mutant bireylere ait DNA dizi analizi görüntüleri Şekil 71 ve 72'de gösterilmiştir (Şekil 71 ve 72).



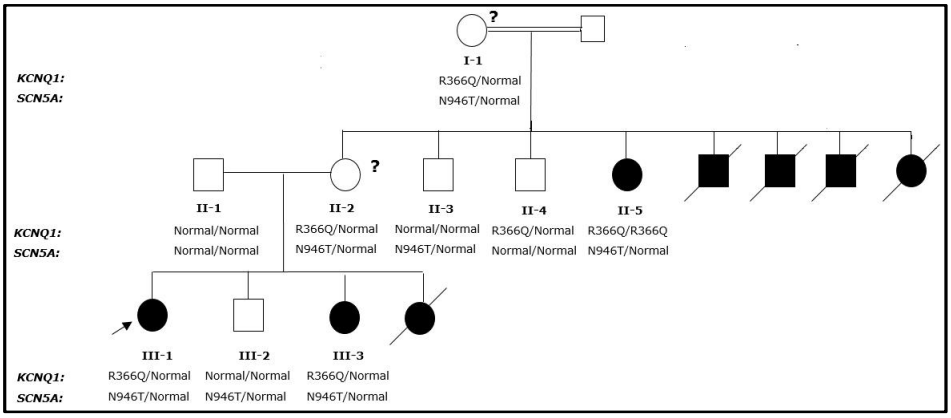
Şekil 71: H90 hasta ve ailesinde belirlenen *KCNQ1* geni p.Arg366Gln mutasyonuna ait klasik Sanger DNA dizi analizi görüntüsü. Şekilde homozigot normal, homozigot mutant ve heterozigot taşıyıcı bireylere ait sekans görüntüleri ayrı ayrı gösterilmiştir.



Şekil 72: H90 hasta ve ailesinde belirlenen *SCN5A* geni p.Asn946Thr varyasyonuna ait klasik Sanger DNA dizi analizi görüntüsü. Şekilde homozigot normal ve heterozigot taşıyıcı bireyler için sekans görüntüleri ayrı ayrı gösterilmiştir.

6.1.3. Aile ağacı üzerinde taşıyıcılıkların gösterilmesi ve varyantların yorumlanması

Varlığı klasik Sanger sekanslama ile doğrulanan varyantlar için diğer aile bireylerinde taşıyıcılık durumları belirlenmiş ve aile ağacı çizilerek varyantlar klinik bulgular eşliğinde yorumlanmıştır. Örnek olarak, H90 hasta ve ailesine ait saptanan *KCNQ1* mutasyonu ve *SCN5A* varyantı için taşıyıcılık durumları aile ağacında gösterilmiştir (Şekil 73).



Şekil 73: H90 hasta ve ailesine ait aile ağacı .Aile ağacında *KCNQ1* geni ve *SCN5A* varyantları için 3 kuşaklı aile ağacında ebeveynlerdeki taşıyıcılık durumları gösterilmiştir. Soru işareti ile gösterilen bireylerde (I-1 ve II-2) her iki varyant için taşıyılık mevcuttur, yani indeks vaka (H90: III-1) ile aynı genotipe sahiplerdir ve klinik bilgilerinin sorgulanması gerekmektedir. II-5 numaralı teyzede konjenital sağırlık bulgusuyla uyumlu *KCNQ1* homozigot mutasyonu tespit edilmiştir (Jervell ve Lange-Nielsen Sendromu). III-3 numaralı kız kardeş te indeks vaka ile aynı genotipte olup hasta fenotipe sahiptir. Ailede genç yaşta ani kalp ölümleri gerçekleşen 3 dayı, 1 teyze ve 1 kız kardeş aile ağacında gösterilmiştir.

H90 hastasına ait klinik bilgiler: 14 yaşında Uzun QT sendromu tanısıyla 1 senedir izlemde. EKG'de QTc: 480 ms, bayılma öyküsü ve göğüs ağrısı mevcut. İndeks vakanın 3 dayısı ve 1 teyzesi çocukluk çağında vefat etmiş. Yaşayan teyzede sağırlık öyküsü mevcuttur. Hastalık başlangıç yaşı 13 iken ebeveynlerde akrabalık yoktur.

İndeks vaka ve ailesinde belirlenen sonucun yorumlanması:

Hastaya ait DNA materyali üzerinde yapılan moleküler analizler sonucunda, *KCNQ1* geni (NM_000218.2) 8. ekzonda heterozigot c.1097G>A (p.Arg366Gln) yanlış anlamlı mutasyonu saptanmıştır. Saptanan mutasyon daha önce HGMD (Human Genom Mutation Database)' ye uzun QT sendromu ile ilişkili bir mutasyon olarak bildirilmiştir (HGMD#CM002330) (Splawski ve ark., 2000). Genin C-terminal domaininde meydana gelen R366Q mutasyon sonucunda, KCNQ1+KCNE1 kanallarının, PIP_2 hydrolizine duyarlılığının arttığı bildirilmiştir (Matavel ve ark., 2010).

SCN5A geni (NM_001160161.1) 17. ekzonda heterozigot c.2837A>C(p.Asn946Thr) varyantı saptanmıştır. İlgili varyasyon literatürde bildirilmemiştir ve patojenik etkisi bilinmemektedir. Varyasyon bölgesi türler arasında oldukça korunmuştur ve tahmini protein fonksiyon analizi için kullanılan Provean, GVGD ve SIFT analiz programlarına göre muhtemel zararlı varyant olabileceği tespit edilmiştir. *SCN5A* geni, integral bir membran proteini olan ve tetrodotoksin-rezistant voltaj kapılı sodyum kanal alt ünitesi olan bir protein kodlamaktadır. Protein, primer olarak kardiyak kasında bulunur ve EKG'de aksiyon potansiyelinin başlangıçtaki yükselişinden sorumludur. *SCN5A* geninde meydana gelen mutasyonlar, OMIM'de brugada sendromu 1, atriyal ve ventiküler fibrilasyon, uzun QT sendromu tip 3, dilate kardiyomiyopati, progresif ve nonprogresif kalp bloğu ve hasta sinüs sendromu ile ilişkilendirilmiştir (OMIM# 600163).

Hastada *KCNQ1* geni mutasyonu ile *SCN5A* varyantının birlikteliğinde, klinik fenotip aditif olarak ağırlaşıyor olabilir. Aile ağacı incelendiğinde sadece *KCNQ1* ya da *SCN5A* varyantını taşıyan bireyler (2 dayı, 1 abi) normal fenotipe sahiptir. Bu nedenle, İlgili varyantlar tek başına taşındığı zaman kliniği ağır şekilde etkilemiyor olabilir. Aynı zamanda indeks vaka gibi *KCNQ1* ve *SCN5A* varyantlarını heterozigot

olarak taşıyan anne ve anneannede herhangi bir klinik bildirilmemiştir. Fakat kalıtsal aritmi hastalıklarında, asemptomatik birey oranı yüksek (≥30) olup eksik penetrans ya da değişken ekspresivite görülebilmektedir. Taşıyıcıların tamamı semptomatik olmayabilir. *KCNQ1* mutasyonunu homozigot olarak taşıyan teyzede genetik sonuçla da uyumlu olarak konjenital sağırlık öyküsü mevcuttur. Jervell ve Lange-Nielsen Sendromu, UQT'nin resesif formudur. Teyzenin genetik tanısı, Jervell ve Lange-Nielsen Sendromu'nu desteklemektedir. Saptanan genetik değişikliklerin patojenik etkisinin klinik bulgular eşliğinde değerlendirilmesi, hasta ve ailesine genetik danışma önerilir.

6.2. Tez Çalışmasında Çalışılan 92 Hastaya Ait Klinik Veriler

Çalışılan 92 UQT hastasına ait klinik veriler Tablo 8'deözetlenmiştir. Tabloda hastaların cinsiyet, yaş, hastalık başlangıç yaşı, semptom durumu (+ ya da -) EKG'deki QTc mesafesi, EKG'deki diğer bulgular, varsa efor testi, holter anomalisi bulguları, stresli veya stressiz senkop, kardiyak arrest, sağırlık ve diğer kardiyolojik öyküleri içeren semptomatik bulgular, kardiyojik semptom tetikleyicisi, hastalık seyri, ailede ani bayılma/kalp ölümü/UQT tanılı diğer birey öyküleri ve akrabalık durumu ve not bilgiler girilmiştir (Tablo 8).

Tablo 8: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait klinik veriler

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Başlangıç Yaşı	Semptom	EKG Anomalisi		Efor Testi Pozitifliği	Holter Anomalisi	Semptom Öyküsü					Tetikleyicisi	Hastalık Seyri	Aile Öyküsü			Akrabalık Durumu	Not
					EKG (QTc-ms)	Diğer			Senkop Stresli	Senkop Stressiz	Arrest	Konjenital Sağırlık	Diğer			UQT'li başka hasta	Ailede AKÖ/AKA	Bayılma öyküsü başka birey		
H1	K	16	16	–	540	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Stabil	–	–	–	–	
H2	E	10	9	+	490	–	Dökümente değil	510	+	–	+	–	Nefes darlığı ve göğüs ağrısı, sol kol ve ayakta uyuşma	Korku, dinlenme	Yavaş	+	3 kardeş ex	–	+	
H3	E	2	2	–	430	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Var (Baba ve hala)	Baba ve hala ex	Baba ve hala	–	
H4	E	15	14	–	460	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Stabil	–	–	–	–	
H5	E	6	0	–	460-475	2: 1 AV blok (infant dönem) ve AVF	Dökümente değil	nadir atrial extrasistol	–	–	–	–	–	Dinlenme	Hızlı	–	–	–	–	Pace takılmış hasta
H6	E	16	15	+	574	Sinüs bradikardi	–	–	+	–	–	–	Nefes darlığı ve göğüs ağrısı	Egzersiz	Yavaş	–	2 kardeş ex(infant dönem)	–	+	Kuzenlerde işitme problemi
H7	E	3	0	–	434	Sinüs taşikardi, kısa PR mesafesi, T dalga anomalisi,	–	464	–	–	–	–	Sol ventrikül duvarında noncompaction	–	Stabil	–	Annenin babası 46 yaşında, annenin dayısı 55 yaşında ani ölüm.	–	–	
H8	E	10	10	–	520-580	–	Dökümente değil	Dökümente değil	–	–	–	–	–	–	–	Şüpheli	–	Amca	–	
H9	K	15	11	–	448	–	–	–	–	–	–	–	Göğüs ağrısı, sol kolda uyuşma	Egzersiz	Yavaş	–	–	–	–	
H10	E	12	10	+	500	VT atakları	Dökümente değil	Dökümente değil	–	–	–	–	–	Korku	Hızlı	+	2 kardeş ex	–	–	ICD takılmış hasta
H11	K	9	9	+	450-480	–	Dökümente değil	500-520	+	–	–	–	–	Egzersiz	Yavaş	–	–	–	–	
H12	E	10	7	–	475	–	+	–	–	–	–	–	–	–	Yavaş	–	–	–	–	

Tablo 8: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait klinik veriler (Devamı)

H13	**E**	**13**	**13**	**–**	**490**	**–**	**–**	**510, ventriküler ekstrasistoller**	**–**	**–**	**–**	**–**	**–**	**–**	**–**	**–**	**–**	**–**	**–**
H14	K	10	10	+	470-490	Nadir izole uniform VES	–	Nadir izole uniform VES	–	–	–	–	Carpıntı	–	Yavaş	–	–	–	+
H15	K	11	11	–	470	Geniş T	–	Sınırda uzun QT	–	–	–	Haf if	–	–	–	–	–	–	–
H16	E	1	1	–	463 ms	Uzun ST tip, sinüs taşikardi	–	–	–	–	–	–	Katılma	–	Hızlı	–	–	–	–
H17	E	7	7	+	494	–	Dökümente değil	1 adet prematüre atriyal atım	–	+	–	–	Sol ventrikül apikal bölgeside trabekülasyon, göğüs ağrısı, hipotansiyon	Dinlenme	Yavaş	Şüpheli	2 dayı ex (40 ve 42 yaşında)	–	–
H18	E	11	6	+	460	–	Polimorfik VT	T dalga alternansı	+	–	–	–	–	Korku	Yavaş	–	+	–	–
H19	K	18	12	+	600	–	Dökümente değil	Dökümente değil	+	–	–	–	–	Yüzme	Yavaş	Şüpheli	Kuzen ex (baba tarafı)	–	–
H20	E	9	7	+	440 (Epinefrin stres testi)	Çentikli T dalgası, 1 adet VES, Sinüs bradikardi	Dökümente değil	450	–	+	–	–	Epilepsi, el ve ayakta kasılma	Egzersiz	Yavaş	–	–	–	–
H21	E	9	9	+	540	T dalga alternansı	–	–	+	–	+	–	HIE ve spastisite +	Egzersiz	Yavaş	–	–	–	+
H22	K	3	0	+	460-470	–	–	470-480	+	+	–	–	–	Dinlenme ve ateş	Hızlı	+	2 dayı ex (14 yaş ve 9 aylık)	Teyze ve dayılar	–
H23	E	4	4	+	461	–	Dökümente değil	Dökümente değil	–	+	–	–	Kalpte PS ve PFO, konuşamama	–	Hızlı	–	–	–	–
H24	E	1	0	+	Uzun QT	–	Dökümente değil	Dökümente değil	–	–	–	–	Nöbet	–	Hızlı	–	–	–	–
H25	E	4	4	+	520	Bifid ST-T dalga, 2. derece AV blok	–	Dökümente değil	–	–	–	–	Nöbet, Kraniyal MRIda Chiari Tip 1 anomalisi	Dinlenme	Yavaş	–	–	–	–
H26	E	4	1,5	+	480	T dalga alternansı	+	T dalga alternansı	+	+	–	+	–	Egzersiz, yüzme, banyo	Hızlı	Şüpheli	–	Amca	+
H27	K	6	6	+	446	–	–	–	–	+	+	–	–	Dinlenme	Hızlı	Şüpheli	2 kardeş ex	Kardeş	+
H28	K	0 (ex)	0	+	560	2: 1 AV blok	–	–	–	–	+	–	Sindaktili, Pes ekinovarus	–	Hızlı	–	–	–	–

Tablo 8: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait klinik veriler (Devamı)

H29	**E**	**11**	**7**	**+**	**465**	**–**	**–**	**T dalga alternansı**	**+**	**–**	**–**	**–**	**Epilepsi ve nöbet**	**Duygusal**	**Yavaş**	**–**	**–**	**–**	**+**	**Dayı bradikardi takipli**
H30	K	8	3	+	480-490	T dalga alternansı, Ventrikuler fibrilasyon, sinüs bradikardi	Dökümente değil	Uzun QT	+	–	–	–	–	Egzersiz ve dinlenme	Yavaş	Anne	Kardes ex	Ölen kardeş	–	ICD implantasyonlu hasta
H31	K	0	0	+	470-487	Inkomplet sağ dal bloğu	–	Dökümente değil	–	+	–	+	Nöbet, kalpte ASD	Egzersiz ve dinlenme	Yavaş	–	–	–	+	
H32	K	4	4	–	420-472	–	–	450, VT atağı	–	–	–	–	–	Egzersiz	Yavaş	Ikiz kardeş	Amca	Teyze	–	
H33	E	10	10	+	520	Torsade de pointes	Dökümente değil	Dökümente değil	–	–	+	–	–	–	Hızlı	–	–	–	–	Intra kardiyak defibrilator kullanımı
H34	E	10	10	+	480	Ventrikuler fibrilasyon, sinüs bradikardi	Dökümente değil	Dökümente değil	+	–	–	–	Göğüs ağrısı	Egzersiz, duygusal, korku	Hızlı	–	Amca ex (6 aylık)	–	+	ICD implantasyonlu hasta, kuzenlerde epilepsi
H35	K	11	11	+	460	–	Dökümente değil	500	+	–	–	–	–	Yüzme	Yavaş	–	–	–	–	
H36	E	1	0	+	500	Sinüs taşikardi	–	–	–	–	–	–	Kalp yetmezliği, nefes darlığı, ASD, non-compaction kardiyomiyopati, hipotoni atipik yüz, ağlayınca morarma	Duygusal	Hızlı	–	–	–	+	
H37	E	11	10	+	402	Torsade de pointes (azitromisin kullanımı ile)	QTC 440-490	–	–	+	–	–	–	Dinlenme	Yavaş	Anne	–	–	–	Kuzenin kalbi delik
H38	E	16	14	+	420	–	480 (recovery 3. dk)	527/468/440	–	–	–	–	Baş donmesi	–	Yavaş	–	–	–	–	Annenin kuzeninde epilepsi
H39	K	7	5,5	–	495	1. derece AV blok	–	2: 1 AV blok	–	–	–	–	Kalpte MVP/ Orta dereceli MY (LV çapı; z-skor; +1,1)	–	Yavaş	Şüpheli	–	Baba ve babaanne	–	Baba tarafında epilepsi

Tablo 8: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait klinik veriler (Devamı)

H40	E	18	14	+	440	–	500-520	800 adet VES	–	+	–	–	Kalpte MVP	Dinlenme	Yavaş	–	Kuzen ex(34 yaş)	–	–	Abi'de epilepsi (efor testi, recovery QTc=500 ms)
H41	K	18	18	+	410	Ventrikuler taşikardi	–	Dökümente değil	+	–	–	–	Kapanmış Ventriküler septal defekt	–	Yavaş	–	–	Dayı torunu	+	
H42	E	10	10	+	475	Ventrikülar premature atım	Baskılanan VES	475(sık uniform sol dal blok ve inferior akslı transition V3'de olan VES'ler)	–	–	–	–	–	Non-spesifik	Yavaş	–	–	–	–	
H43	E	10	3	+	667(beta bloker sonrasi 516)	AV blok	AV Tam Blok, inferolat derivasyonlarında T negatif	Blok nedeniyle PM ritmi	–	–	+	–	–	Egzersiz	Stabil	Şüpheli	Annenin kardesleri bebeklik donemi	–	+	
H44	K	8	–	–	449	Simetrik ve geç ST-T dalgası, alçak amplitüdlü değil	–	490	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
H45	E	31(ex)	Dökümente değil	+	Uzun QT	–	Dökümente değil	Dökümente değil	+	–	+	–	Kasılma	Duygusal	–	–	–	–	–	
H46	E	10	5	–	520	–	Dökümente değil	Dökümente değil	–	–	–	–	–	–	–	Anne ve anneane	Annenin teyzesi ex (1 yas) babanin 2 dayısı ex (15 ve 40 yaş)	–	–	
H47	E	6	4	–	469	, Tip 1 AV blok 2. derece	?	AV tam blok, nadir wenckebach	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
H48	E	18	16	+	400	Sinus bradikardi	480-540 (recovery 1-3-5. dk)	QT uzaması aktivite ile)	+	–	–	–	–	–	Yavaş	–	–	–	–	Kardeş ve baba epilepsi

Tablo 8: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait klinik veriler (Devamı)

H49	**E**	**7**	**6**	**–**	**460**	**–**	**–**	**470-480**	**–**	**–**	**–**	**–**	**Hafif zeka geriligi**	**–**	**Yavaş**	**–**	**–**	**Dede**	**–**	
H50	K	7	6	+	540	T dalga alternansı	Dökümente değil	Dökümente değil	+	–	–	+	–	Egzersiz ve korku	Yavaş	–	2 amca ex (infant dönem)	–	+	
H51	E	11	11	–	445	–	–	450-490, T dalga alternansı	–	–	–	–	Göğüs ağrısı, çarpıntı	Duygusal	Yavaş	–	–	–	–	
H52	E	8	3,5	+	720	T dalga negatifligi ve T dalga alternansi, Torsade de pointes, VF,VT	Dökümente değil	Dökümente değil	+	–	–	+	–	Korku	Hızlı	–	–	–	–	
H53	E	13	7	+	560	–	Dökümente değil	Dökümente değil	+	–	+	–	Spastik tetraparezi (hipoksiye bağlı)	–	Yavaş	–	–	–	–	ICD implantasyonu, babanın teyze oğlunda doğumsal sağırlık
H54	K	8	6	+	440	–	Dökümente değil	490, PR 0.14 iken kalp hizi 57/dk	–	+	+	–	Kalpte IAS anevrizma	Dinlenme	Yavaş	–	–	–	–	
H55	E	12	8	–	440	–	500-520	Dökümente değil	–	–	–	–	Kalpte septal hipertrofi	–	Yavaş	–	Annenin kuzeni ex (54 yas)	Babanın yegeni	+	Babanın halasında kalp pili
H56	K	10	–	–	370	–	–	380-510, T dalga alternansı	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
H57	E	19	4	+	420 (epinefrin testi ile uzun QT)	Ventrikuler premature atım	–	sık VES (monomorfik veya polimorfik)	+	–	–	–	Kalpte hafif MY	–	Yavaş	–	–	–	+	
H58	E	5	0	+	450	Non-spesifik EKG	Dökümente değil	–	+	–	–	–	Nefes darlığı, bronşiyolit	Katılma	Yavaş	Şüpheli	Dayı, teyze, hala ve amca erken yaşta ex	–	–	
H59	K	6	4	+	460-480	Sinus tasikardi	Dökümente değil	Uygunsuz sinus tasikardi	+	–	–	–	Göğüs ağrısı	Egzersiz ve duygusal	Yavaş	Şüpheli	Annenin kuzeni ex	Teyze	–	Teyze doğustan sağır

Tablo 8: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait klinik veriler (Devamı)

H60	K	2	1,5	–	470	V1`de Rsr paterni	Dökümente değil	Dökümente değil	–	–	–	–	Kalpte sekundum ASD	–	Hızlı	–	–	–	–	Babanın yeğeninde sağırlık
H61	E	15	14	+	470	Sinüs bradikardi	490	–	+	–	–	–	–	–	Yavaş	–	–	Anne	–	
H62	E	8	8	–	470	–	1. dk Recovery (430 ms)	440-470	–	–	–	–	Dikkat eksikliği	–	–	–	–	–	–	
H63	E	3	3	+	480	–	Dökümente değil	Uzun QT	–	+	–	–	Nöbet, hipoglisemi	Güneş	Hızlı	Anne,teyze ve kardeş	Anne (26 yaşında ex) annenin teyzesi ve dedesi	–	+	
H64	E	17	–	–	450-460	–	Dökümente değil	Dökümente değil	–	–	–	–	–	–	–	–	Hala (16 yas)	–	+	
H65	K	16	15	+	500	Non-spesifik ST-T dalgasi, kalp hızı 51 atım-dk	Dökümente değil	Dökümente değil	–	+	+	–	Uykuda nöbet, PFO, kan elektrolit metabolik ve endokrin değerleri non-spesifik, sol kolda ağrı ve uyuşma	Uyku ve dinlenme	Hızlı	–	–	–	–	teyzede ritim problemi(44yas) annenin amcasi bypass ameliyati
H66	K	2	–	–	410	–	Dökümente değil	–	–	–	–	–	Kalpte ağır PS, sindaktili	–	–	–	–	–	–	
H67	E	7	7	–	475-480	–	–	Dökümente değil	–	–	–	–	–	–	Yavaş	–	Kardeş ex (pulmoner atrezi) annenin halası ex (13 yaş)	–	–	
H68	E	6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	iki abla ex	–	
H69	K	20	–	–	480	T Dalga alternansı	4. dk Recovery 467 ms	480 ms, T Dalga alternansı	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
H70	K	7	6	+	440-480	–	Dökümente değil	–	–	–	–	–	Çarpıntı	Dinlenme	–	–	–	–	+	
H71	K	1	0	–	480	Geniş tabanlı T dalgası	–	QT uzaması, P dalgası konfigürasyon değişimi, aralıklı T dalga negatifliği	–	–	–	–	Doğumsal kalp rahatsızlığı ASD (Sekundum küçük)	–	Yavaş	–	Babanın babasının 2 kardeşi ex (2 ve 3 yaş)	–	–	

Tablo 8: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait klinik veriler (Devamı)

H72	E	14	13	–	542 (Epinefrin testi)	–	Dökümente değil	Dökümente değil	–	–	–	–	–	–	Yavaş	–	–	–	–	
H73	E	11	7	+	465	ST-T dalga morfolojisi	Dökümente değil	Dökümente değil	+	–	+	–	Suyla hızlı temas ile bayılma, Koşu sonrası bayılma	Egzersiz, yüzme	Yavaş	–	Amca (12 yaş)	Baba ve dede	–	
H74	K	15	14	–	490	–	500(recovery 3 dk)	Uzun QT	–	–	–	–	–	–	Yavaş	–	–	–	–	Baba EKG 465 ms
H75	K	18	13	–	440	–	–	Uzun QT	–	–	–	–	Williams sendromu	–	Yavaş	–	–	–	+	Annenin dedesinde konjenital sağırlık
H76	E	4	4	–	520	Non-spesifik	Dökümente değil	Dökümente değil	–	–	–	–	Kalpte geniş ASD, nörolojik frontal bossing	–	Yavaş	–	–	–	–	Ketamin infüzyonu sonrası tesadüfen tespit edilmiş UQT, Anne hafif mental retarde
H77	K	6	6	+	Uzun QT	–	–	–	+	+	+	–	–	–	Yavaş	–	–	–	–	Babaanne MVR ameliyatı (50 yaş)
H78	K	0	0	+	>450	–	–	Uzun QT	–	–	–	–	Nöbet	–	Yavaş	–	–	–	–	Babaanne 2 sefer ML geçirme öyküsü
H79	K	11	4	+	542	ST-T dalga morfolojisi (Geç başlangıçlı, simetrik, hafif sivri)	–	–	–	+	+	–	Nöbet, hafif mental reterdasyon	Dinlenme	Yavaş	–	–	Hala	–	
H80	K	0	0	–	470	VES	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
H81	E	7	–	–	480	–	490 (recovery 3. dk)	470	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
H82	K	7	7	+	474	Simetrik geniş tabanlı tip 1	550 (recovery 2. dakika)	–	+	–	–	–	–	Egzersiz	Yavaş	–	–	–	–	Annenin teyzesinin torununda ritim bozukluğu(9 yaş)

Tablo 8: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait klinik veriler (Devamı)

H83	K	9	9	–	470-480	Non-spesifik	–	–	–	–	–	–	Halsizlik	–	Yavaş	–	Dede ex (35 yaş) kuzen ex(30 yaş)	–	–	
H84	K	8	–	–	440-450	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Annenin kuzeni	Annenin kuzeni ex (45 yaşında aritmi nedeniyle)	–	–	
H85	K	9	9	–	490	Uzun QT (tip 1)	625 (recovery 4. dakika)	524	–	–	–	–	–	–	Yavaş	–	–	–	–	Anne tarafında inme,annean ne,dede ve babaannede hipertansiyon , anne tarafında stroke
H86	E	15	11	–	425	–	–	–	–	–	–	–	SVT atağı	–	Yavaş	–	–	Anne	–	Kardeşte EKG değeri 480 ms ve geç gelen, amplitüdü, azalmış simetrik T dalgası, diğer kardeşte ASD
H87	K	4	2	+	460	–	Dökümente değil	59 adet AES ve uzun QT	–	–	+	–	Nöbet(şüpheli)MMR (+) belirgin mental reterdasyon, gelişim geriliği	–	Yavaş	–	–	–	–	
H88	K	15	14	+	480	Sinüs taşikardi ve uzun QT	516-541 (postegzersiz 3 dk)	Seyrek supraventrik üler erken atım	–	–	–	–	Çarpıntı	–	Yavaş	Anne (QTC: 435-458 ms) kız kardeş (QTC: 428-444)	–	–	+	2010da şüpheli Kawasaki hastalığı
H89	E	12	11	+	440	–	Dökümente değil	Dökümente değil	+	–	–	–	Göğüs ağrısı, nefes darlığı	Egzersiz, yüzme	Yavaş	–	Babanın amcası ex(kalp kapakçığı sorunu 43 yaş)	Babanın amcası	–	

Tablo 8: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait klinik veriler (Devamı)

H90	K	14	13	+	480	–	–	–	–	+	–	–	Göğüs ağrısı	Dinlenme	Yavaş	–	kardes ex, 3 dayı ex(genç yaş) teyze ex (13 yaş)	Teyze	–	Teyzede ve kardeşte konjenital sağırlık
H91	E	7	7	–	480-490	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
H92	E	2	1,5	–	383	2: 1 AV 2. derece blok, geç yükselen simetrik T dalgası, NSR	–	471 AV tam blok, NSR	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Annenin babasında AV tam blok

6.3. Tez Çalışmasında Çalışılan 92 Hastaya Ait Genetik Sonuçlar

Çalışılan 92 UQT hastasına ait genetik veriler Tablo 9'da özetlenmiştir. Tabloda çalışılan hasta sırasına göre her bir hastada belirlenen varyantın hangi gende saptandığı, İlgili genin transkript numarası, varyasyonun hangi ekzonda meydana geldiği, değişikliğin HGVS terminolojisine göre DNA seviyesinde ve protein seviyesinde tanımlanmış yazım şekilleri, varyasyon sonucu etkilenen protein bölgesi, varyasyonun tipi (yanlış anlamlı, çerçeve kayması veya çerçeve içi delesyon/duplikasyon, splice bölge, UTR) indeks vakada varyantın taşıyıcılık durumu (heterozigot, homozigot) gösterilmiştir. Ayrıca varyantların kalıtım şekli Otozomal Dominant (OD) otozomal resesif (OR) de-novo ve bilinmeyen (?) olarak tabloda belirtilmiştir. Hasta ailelerine ait DNA materyali elimizde olmayan indeks vakalarda, saptanan değişikliklere ait germline (homozigot ya da heterozigot) ya da de-novo özellik bilinemediği için tabloda soru işaretiyle gösterilmiştir. Tabloda literatürde bildirilen varyantlar İlgili sütunda "+" ile literatüre bildirilmeyen varyantlar ise "-" ile gösterilmiştir. Varyasyon için bildirilmiş literatür bilgisi mevcutsa dbSNP numarası ve varyantların minör allel frekansları (MAF) gösterilmiştir. Protein fonksiyonunu tahmini analiz programları olan Provean ve SIFT prgramlarına göre yanlış anlamlı varyantların olası etkileri incelenmiş, tabloda patojenik/zararlı olabilecek varyantlar "Deleterious" u simgeleyen "D" harfi ile zararsız olabilecek varyantlar ise "nötral" ya da "tolere edilebilir" ile simgelenen "N" ya da "T" harfiyle gösterilmiştir. Bölgenin evrimsel korunaklığı, UCSC veritabanı kullanılarak belirlenmiş ve tabloda İlgili sütünda belirtilmiştir. Varyant HGMD veritabanında bildirilmişse kimlik numarası tabloda HGMD sütununda belirtilmiş, varyantla İlgili dbSNP/Clinvar veritabanlarındaki patojenite sınıfı yine tabloda gösterilmiştir. Tez çalışmasında saptanan varyant sıklıkları ayrıca Türkiye'deki Tübitak-Bilgem'den sorgulanmış ve ayrı bir sütunda belirtilmiştir. Yapılan Tübitak sorgusu, birbiriyle akrabalık ilişkisi olmayan 1230 birey verisi değerlendirilerek yapılmıştır. Son olarak, tabloda varyantların diğer aile bireylerindeki taşıyıcık durumları en son sütunda belirtilmiştir (Tablo 9).

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar

Hasta No	Gen	Transkript ID	Ekzon	Mutasyon HGVS isimlendirme		Etkilenen Protein bölgesi	Varyasyon Tipi	Taşıyıcılık	Kalıtım	Literatür	dbSNP No	Minör allel frekansı MAF (dnSNP)	Provean/SIFT	Bölgenin Evrimsel korunaklığı (UCSC)	HGMD Proffessional	Tübitak Varyant Sorgusu(Toplam 1230 birey)	Clinvar Sınıflandırılması - dbSNP/ClinVar	Taşıyıcı
				DNA Seviyesi	Protein Seviyesi													
H1	*KCNH2*	NM_000238.3	3	c.442C>T	p.Arg148Trp	Sitoplazmik N-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs139544114	0,0011	D/D	Nispeten korunmuş	CM096514	7 (0,0057)	Tartışmalı patojenite	Bakılmadı
H2	*KCNA10*	NM_000256.3	1	c.674T>C	p.Val225Ala	Transmembran-S1 segmenti	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs755836224	0,000008	D/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne
	KCNB1	NM_004975.2	2	c.778G>A	p.Gly260Ser	Transmembran-S3 segmenti	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/T	Korunmuş	-	-	-	Baba
	KCND2	NM_012281.2	4	c.1411G>A	p.Gly471Ser	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs757922549	0,00008	N/T	Nispeten korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba ve kardeş
	KCNK17	NM_031460.3	2	c.324_326delCTT	p.Phe109del	Membran içi por oluşturan 1. bölge	Delesyon (Inframe)	Het.	OD	+	rs540653476	0,0061	-	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne ve kardeş
H3	*ANK2*	NM_001148.4	38	c.9854T>C	p.Ile3285Thr	Spektrin bağlanma domaini	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs36210417	0,0082	N/D	Korunmuş	-	60 (0,049)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Dede (Baba tarafından)
	KCNE3	NM_005472.4	3	c.26C>T	p.Thr9Ile	Sitoplazmik N-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs139040374	0,0002	N/T	Az korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne
H4	*AKAP9*	NM_005751.4	42	c.10406C>T	p.Thr3469Met	Çift sarmal domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs746860114	0,0003	N/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba
	RYR1	NM_000540.2	34	c.5020G>A	p.Ala1674Thr	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/T	Korunmuş	-	-	-	Baba
	SCN4A	NM_000334.4	24	c.5434C>T	p.Pro1812Ser	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/T	Az korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba
H5	*GPD1L*	NM_015141.3	6	c.839C>T	p.Ala280Val	C-terminal, GPDH, NAD bağımlı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs72552291	0,0001	N/T	Az korunmuş	CM074892	-	Patojenik	Anne ve kardeş
H6	*TRPM4*	NM_017636.3	21	c.3167T>C	p.Leu1056Pro	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/T	Az korunmuş	-	-	-	Anne

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H7	*KCNQ1*	NM_000218.2	2	c.458C>T	p.Thr153Met	Transmembran-S2 segmenti	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs143709408	0,0002	N/D	Korunmuş	CM097083	-	Önemi belirsiz	Bakılmadı
	AKAP9	NM_005751.4	42	c.10459G>A	p.Glu3487Lys	Tanımlanmamış	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs61757664	0,0005	N/T	Korunmuş	-	15 (0,012)	Tartışmalı patojenite	Anne
	KCNJ2	NM_000891.2	2	c.97G>C	p.Gly33Arg	Sitoplazmik N-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs375727662	0,00008	N/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne
H8	*KCNQ1*	NM_000218.2	12	c.1579A>G	p.Lys527Glu	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/D	Korunmuş	-	-	-	Baba, 3 kardeş ve 2 amca
H9	*Varyasyon saptanmadı*																	
H10	*KCNH2*	NM_000238.3	9	c.2230C>T	p.Arg744Ter	Sitoplazmik C-Terminal	Anlamsız (Dur Kodon)	Het.	OD	+	rs189014161	0,00003	-	Nispeten korunmuş	CM020455	-	Patojenik	Anne ve 4 kardeş
H11	*KCNQ1*	NM_000218.2	2	c.467T>C	p.Leu156Pro	Transmembran-S2 segmenti	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/D	Korunmuş	-	-	-	Anne ve 2 kardeş
	CACNA1S	NM_000069.2	25	c.3080A>T	p.Asn1027Ile	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs757112281	0,00002	D/T	Az korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne ve diğer 3. kardeş
H12	*KCNQ1*	NM_000218.2	6	c.817C>A	p.Leu273Ile	Transmembran-S6 segmenti	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/D	Korunmuş	-	-	-	Anne
	AKAP9	NM_005751.4	31	c.7115T>C	p.Met2372Thr	Çift sarmal domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs749716365	0,00002	N/T	Korunmamış	-	-	Tanımlanmamış	Anne
H13	*Varyasyon saptanmadı*																	
H14	*KCNQ1*	NM_000218.2	8	c.1097G>A	p.Arg366Gln	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs199473410	0,000008	D/D	Korunmuş	CM002330	-	Patojenik	Anne
	SCN1B	NM_199037.3	3	c.641G>A	p.Arg214Gln	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs66876876	0,0033	N/T	Korunmamış	-	3 (0,0024)	Tartışmalı patojenite	Anne
	LDB3	NM_007078.2	5	c.742G>A	p.Ala248Thr	Ara Filament	Yanlış anlamlı	Hom.	OR	+	rs369419493	0,000008	N/T	Korunmuş	-	3 (0,0024)	Tanımlanmamış	Anne, Baba

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H15	*CACNA2D1*	NM_000722.2	3	c.231G>T	p.Gln77His	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs770723145	0,000008	N/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba ve kardeş
	AKAP9	NM_005751.4	43	c.10664A>T	p.Asp3555Val	Tanımlanmamış	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs139046510	0,0009	D/D	Korunmuş	-	-	Muhtemel zararsız	Baba ve kardeş
	CACNB2	NM_201596.2	6	c.641G>C	p.Ser214Thr	N-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs149253719	0,001	N/D	Nispeten korunmuş	-	12/1230 (0.0097)	Tartışmalı patojenite	Anne
	BAG3		4	c.1571T>C	p.Ile524Thr	C-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs752390475	0,000008	N/T	Nispeten korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba ve kardeş
H16	*AKAP9*	NM_005751.4	11	c.3736A>G	p.Arg1246Gly	Globüler olmayan düzensiz bölge	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs779232513	0,00001	N/D	Az Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba
	PKP2	NM_004572.3	12	c.2431C>A	p.Arg811Ser	Armodillo benzeri helikal domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs139734328	0,0009	D/D	Korunmuş	CM102828	6 (0,0048)	Tartışmalı patojenite	Baba ve kardeş
H17	*Varyasyon saptanmadı*																	
H18	*AKAP9*	NM_005751.4	37	c.9117T>G	p.Ser3039Arg	Çift sarmal domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	-	-	N/T	Az Korunmuş	-	-	-	Baba, kardeş, 2 amca ve 1 hala
	MYBPC3	NM_000256.3	2	c.148A>G	p.Ser50Gly	N-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs373164247	0,00004	N/T	Nispeten korunmuş	-	-	Önemi belirsiz	Baba ve dığer kardeş, 1 amca
H19	*HCN4*	NM_005477.2	8	c.3263C>T	p.Ala1088Val	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs758484576	0,00008	N/D	Az Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba
H20	*TNNI3*	NM_000363.4	5	c.356C>A	p.Thr119Asn	Troponin	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs184709702	0,00003	N/T	Az Korunmuş	CM1414554	-	Önemi belirsiz	Bakılmadı
	LDB3	NM_007078.2	4	c.352G>A	p.Val118Met	Ara Filament	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs35507268	0,0046	N/T	Nispeten korunmuş	-	3 (0,0024)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Bakılmadı
H21	*RYR2*	NM_001035.2	37	c.5170G>A	p.Glu1724Lys	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	de-novo	+	-	-	D/D	Korunmuş	CM097953	-	Patojenik	de-novo
	DSP	NM_004415.2	1	c.88G>A	p.Val30Met	Sitoplazmik N-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs121912998	0,0031	N/T	Korunmamış	CM063961	24 (0,019)	Tartışmalı patojenite	Baba ve 2 kardeş
H22	*KCNQ1*	NM_000218.2	7	c.973G>A	p.Gly325Arg	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs199472756	-	D/D	Korunmuş	CM970826	-	Patojenik	Bakılmadı
H23	*Varyasyon saptanmadı*																	

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H24	*KCNQ1*	NM_000218.2	9	c.1179G>T	p.Lys393Asn	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs12720457	0,0011	D/D	Korunmuş	CM078293	21 (0,017)	Tartışmalı patojenite	Anne ve kardeş
H25	*MYH6*	NM_002471.3	30	c.4264C>T	p.Arg1422Trp	Çift sarmal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs200465713	0,0001	D/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba
	TCAP	NM_003673.3	1	c.33_35delGGA	p.Glu12del	Titin benzeri domain	Delesyon (Inframe)	Het.	OD	+	rs537595753	0,001	-	Korunmuş	-	3 (0,0024)	Tanımlanmamış	Baba
H26	*KCNQ1*	NM_000218.2	10	c.1265_1266insA	p.Phe423Valfs*40	Sitoplazmik C-Terminal	Delesyon (Frameshift)	Hom.	OR	+	rs397508084	-	-	Korunmuş	CI056224	-	Test edilmemiş	Anne, baba ve kardeş
	TRPM4	NM_017636.3	21	c.3224T>G	p.Leu1075Arg	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/D	Korunmuş	-	-	-	Baba ve kardeş
H27	*SCN4A*	NM_000334.4	14	c.2717G>C	p.Ser906Thr	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs41280102	0,0095	N/T	Az korunmuş	CM034679	29 (0,023)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Anne ve 3 kardeş
	JUP	NM_002230.2	14	c.2154G>A	p.Met718Ile	C-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/T	Az korunmuş	-	-	-	Baba ve 4 kardeş
H28	*CACNA1C*	NM_199460.2	38	c.4562C>G	p.Ala1521Gly	Transmembran-S6 segment	Yanlış anlamlı	Het.	de-novo	-	-	-	D/D	Korunmuş	CM1110293	-	Patojenik	de-novo
	ANK2	NM_001148.4	45	c.11791G>A	p.Glu3931Lys	C-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs45454496	0,0027	N/D	Nispeten korunmuş	CM041240	8 (0,0065)	Tartışmalı patojenite	Anne
H29	*ANK2*	NM_001148.4	45	c.11791G>A	p.Glu3931Lys	C-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs45454496	0,0027	N/D	Nispeten korunmuş	CM041240	8 (0,0065)	Tartışmalı patojenite	Bakılmadı
	PKP2	NM_004572.3	1	c.184C>A	p.Gln62Lys	N-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs199601548	0,0002	N/T	Korunmuş	CM061171	-	Önemi belirsiz	Bakılmadı
	DSG2		15	c.2750_2750delC	p.Ala917fs*4	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	?	-	-	-	-	Nispeten korunmuş	-	-	-	Bakılmadı
	RYR2	NM_001035.2	38	c.5751G>T	p.Gln1917His	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	?	-	-	-	D/D	Nispeten korunmuş	-	-	-	Bakılmadı
H30	*KCNQ1*		13	c.1685G>T	p.Arg562Met	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs199472802	-	D/D	Korunmuş	CM030229	-	Patojenik	Anne ve kardeş
	AKAP9	NM_005751.4	12	c.3827G>A	p.Arg1276Gln	Çift sarmal domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs146797353	0,0155	N/T	Az korunmuş	CM1511399	26 (0,021)	Zararsız	Anne
H31	*CTNNA3*	NM_013266.2	12	c.1603C>T	p.Arg535Cys	VH2 domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs41274090	0,0118	D/T	Korunmuş	-	32 (0,026)	Tanımlanmamış	

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H32	*AKAP9*	NM_005751.4	22	c.5369T>G	p.Val1790Gly	Tanımlanmamış	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs151021935	0,0009	N/T	Az korunmuş	-	10 (0,0081)	Tartışmalı patojenite	Anne
	KCNH2	NM_000238.3	15	c.3365C>T	p.Pro1122Leu	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs531460655	0,0003	N/D	Az korunmuş	CM139897	3 (0,0024)	Önemi belirsiz	Baba
	MYL3	NM_000258.2	3	c.170C>A	p.Ala57Asp	EF-Hand 1, Ca bağlanma bölgesi	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs139794067	0,0001	D/D	Nispeten korunmuş	CM1411046	11 (0,0089)	Tartışmalı patojenite	Anne ve kardeş
H33	*SCN5A*	NM_001160161.1	10	c.1231G>A	p.Val411Met	Transmembran -S6 segment	Yanlış anlamlı	Het.	de-novo	+	rs72549410	-	D/D	Korunmuş	CM004141	-	Patojenik	de-novo
H34	*KCNQ1*	NM_000218.2	7	c.940G>A	p.Gly314Ser	Membran içi por segmenti 1	Yanlış anlamlı	Het.	de-novo	+	rs120074184		D/D	Korunmuş	CM960902	-	Patojenik	de-novo
	RBM20	NM_001134363.1	2	c.776G>T	p.Gly259Val	Globüler olmayan düzensiz bölge	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/T	Az korunmuş	-	-	-	Baba
	LDB3	NM_007078.2	9	c.1475C>A	p.Thr492Lys	LTD	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/D	Nispeten korunmuş	-	-	-	Baba
H35	*KCNE1*	NM_001127670.2	2	c.253G>A	p.Asp85Asn	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs1805128	0,0092	D/D	Korunmuş	CM040436	11 (0,0089)	Tartışmalı patojenite, risk faktörü	Anne
	KCNE2	NM_172201.1	2	c.22A>G	p.Thr8Ala	Hücre dışı N-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs2234916	0,0038	D/D	Korunmuş	CM003449	24 (0,0195)	Zararsız	Anne
	CAV3	NM_033337.2	2	c.233C>T	p.Thr78Met	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs72546668	0,003	N/T	Az korunmuş	CM065052	18 (0,014)	Tartışmalı patojenite	Anne
H36	*KCNQ1*	NM_000218.2	9	c.1189C>T	p.Arg397Trp	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs199472776	0,0002	D/D	Korunmuş	CM071815	-	Tartışmalı patojenite	Baba
	KCNQ1	NM_000218.2	13	c.1598G>A	p.Arg533Gln	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	de-novo	+	rs574321120	0,00004	N/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	de-novo
	DSP	NM_004415.2	24	c.7916G>A	p.Arg2639Gln	Plektin tekrar bölgesi 14	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs116888866	0,001	D/T	Korunmuş	CM085968	-	Tartışmalı patojenite	Anne
	KCNJ8	NM_004982	2	c.263C>G	p.Ala88Gly	Transmembran -M1 Sarmalı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs117808169	0,0003	N/T	Korunmuş	-	22 (0,018)	Önemi belirsiz	Anne
	MYH6	NM_002471.3	10	c.831G>T	p.Gln277His	Miyozin motor	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs140660481	0,0004	D/D	Nispeten korunmuş	-	3 (0,0024)	Önemi belirsiz	Anne
	ANK2	NM_001148.4	38	c.7132G>A	p.Glu2378Lys	Spektrin bağlanma domaini	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs141191319	0,0026	N/T	Az korunmuş	-	-	Muhtemel zararsız	Anne

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H37	*Varyasyon saptanmadı*																	
H38	*KCNQ1*	NM_000218.2	7	c.1031C>T	p.Ala344Val	Transmembran -S6 segmenti	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs199472763	-	D/D	Korunmuş	CM970828	-	Patojenik	Baba
H39	*KCNQ1*	NM_000218.2	3	c.604G>A	p.Asp202Asn	Transmembran -S3 segmenti	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs199472702	0,00002	D/D	Korunmuş	CM023400	-	Patojenik	Baba ve kardeş
	RBM20	NM_001134363.1	11	c.2715G>A	p.Met905Ile	Globüler olmayan düzensiz bölge	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/D	Korunmuş	-	-	-	Baba ve kardeş
	MYH7	NM_000257.2	28	c.3830G>A	p.Arg1277Gln	Çift sarmal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs397516195	0,00004	N/D	Korunmuş	CM133941	2 (0,0016)	Önemi belirsiz	Baba
	CASQ2	NM_001232.3	9	c.874G>T	p.Ala292Ser	Thoredoxin benzeri domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs200643387	0,0002	N/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne
H40	*Varyasyon saptanmadı*																	
H41	*Varyasyon saptanmadı*																	
H42	*KCNQ1*	NM_000218.2	3' UTR	c.*19G>A	-	Sitoplazmik C-Terminal	UTR varyantı	Het.	OD	-	-	-	-	Korunmamış	-	-	-	Baba
	ANK2	NM_001148.4	38	c.9854T>C	p.Ile3285Thr	Spektrin bağlanma domaini	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs36210417	0,0082	N/D	Korunmuş	-	60 (0,049)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Anne
H43	*CACNA1S*	NM_000069.2	11	c.1478T>C	p.Met493Thr	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/T	Nispeten korunmuş	-	1 (0.00081)	-	Anne
	ANK2	NM_001148.4	38	c.7132G>A	p.Glu2378Lys	Spektrin bağlanma domaini	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs141191319	0,0026	N/T	Az korunmuş	-	-	Muhtemel zararsız	Anne
H44	*KCNQ1*	NM_000218.2	8	c.1097G>A	p.Arg366Gln	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs199473410	0,000008	D/D	Korunmuş	CM002330	-	Patojenik	Baba
	KCNE3	NM_005472.4	3	c.304A>G	p.Met102Val	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs556647231	0,00003	N/T	Nispeten korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba
	AKAP9	NM_005751.4	22	c.5468A>T	p.Gln1823Leu	Globüler olmayan düzensiz bölge	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs147772200	0,00003	D/D	Az korunmuş	-	1 (0.00081)	Tanımlanmamış	Anne ve kardeş
	TGFB3	NM_003239.2	5	c.911C>A	p.Thr304Asn	Dönüştürücü büyüme faktör beta,C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/D	Nispeten korunmuş	-	-	-	Anne

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H45	*KCND3*	NM_004980.4	8	c.1889G>A	p.Arg630Gln	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs774713377	0,00004	N/T	Nispeten korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne, kardeş ve 2 çocuk
	AKAP9	NM_005751.4	22	c.5369T>G	p.Val1790Gly	Tanımlanmamış	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs151021935	0,0009	N/T	Az korunmuş	-	10 (0,0081)	Tartışmalı patojenite	Baba, 2 kardeş ve 1 yeğen
	KCNE1	NM_001127670.2	2	c.325G>A	p.Val109Ile	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs77442996	0,0001	N/T	Korunmamış	CM012775	-	Önemi belirsiz	Baba, 1 kardeş ve 1 yeğen
H46	*KCNQ1*	NM_000218.2	15	c.1772G>A	p.Arg591His	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs144848998	-	D/D	Korunmuş	CM990767	-	Patojenik	Anne
	RYR2	NM_001035.2	31	c.4093G>A	p.Ala1365Thr	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/T	Nispeten korunmuş	-	-	-	Baba
H47	*KCNQ1*	NM_000218.2	9	c.1179G>T	p.Lys393Asn	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs12720457	0,0011	D/D	Korunmuş	CM078293	21 (0,017)	Tartışmalı patojenite	Anne
H48	*AKAP9*	NM_005751.4	50	c.11714T>C	p.Met3905Thr	C-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs77447750	0,0008	N/T	Nispeten korunmuş	-	3 (0,0024)	Önemi belirsiz	Baba
H49	*AKAP9*	NM_005751.4	41	c.10118C>A	p.Ser3373Tyr	Globüler olmayan düzensiz bölge	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs140470576	0,0015	D/D	Nispeten korunmuş	-	-	Muhtemel zararsız	Anne
H50	*Varyasyon saptanmadı*																	
H51	*RYR2*	NM_001035.2	30	c.3721G>A	p.Val1241Ile	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs185715460	0,0002	N/T	Korunmuş	-	-	Önemi belirsiz	Baba
	ANK2	NM_001148.4	38	c.9854T>C	p.Ile3285Thr	Spektrin bağlanma domaini	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs36210417	0,0082	N/D	Korunmuş	-	60 (0,049)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Anne ve kardeş
	MYH7	NM_000257.2	28	c.3746G>A	p.Cys1249Tyr	Çift sarmal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	-	-	D/D	Korunmuş	-	-	-	Baba
H52	*KCNQ1*	NM_000218.2	5	c.728G>A	p.Arg243His	Transmembran -S4 segmenti	Yanlış anlamlı	Hom.	OR	+	rs120074196	-	D/D	Korunmuş	CM993617	-	Patojenik	Anne, baba ve kardeş
	RYR2	NM_001035.2	15	c.1346T>G	p.Ile449Arg	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs373331669	0,000008	D/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne ve kardeş
	NKX2-5	NM_004387.3	2	c.809G>A	p.Cys270Tyr	C-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs587782931	0,00007	D/D	Nispeten korunmuş	-	2 (0,0016)	Muhtemel zararsız	Baba
H53	*MYH6*	NM_002471.3	28	c.3893C>T	p.Ala1298Val	Çift sarmal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs368588052	0,00009	N/D	Nispeten korunmuş	-	-	Muhtemel zararsız	Anne
H54	*DSP*	NM_004415.2	24	c.6269A>G	p.Glu2090Gly	Plektin tekrar bölgesi 3	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs755069593	0,00002	D/D	Korunmuş	-	1 (0,0008)	Tanımlanmamış	Anne

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H55	*CAV3*	NM_033337.2	2	c.233C>T	p.Thr78Met	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs72546668	0,003	N/T	Az korunmuş	CM065052	18 (0,014)	Tartışmalı patojenite	Anne ve baba
H56	*SNTA1*	NM_003098.2	6	c.1180C>T	p.Arg394Cys	PH2 Domain	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs567451585	0,00002	-	Nispeten korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Bakılmadı
	SLMAP	NM_007159.2	4	.432_437delACCATT	p.Pro145_Leu146del	Sitoplazmik, helikal ve hücre dışı	Delesyon (Inframe)	Het.	?	-	-	-	-	Korunmuş	-	8 (0,0065)	-	Bakılmadı
H57	*ANK2*	NM_001148.4	38	c.6228G>T	p.Lys2076Asn	Spektrin bağlanma domaini	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs144848998	0,0004	N/D	Nispeten korunmuş	-	-	Muhtemel zararsız	Anne
	RYR2	NM_001035.2	37	c.5042A>G	p.Asp1681Gly	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/D	Korunmuş	-	-	-	Baba
	RYR1	NM_000540.2	13	c.1354G>A	p.Glu452Lys	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/T	Korunmuş	-	-	-	Baba
H58	*TMPO*	NM_003276.2	4	c.1243T>G	p.Ser415Ala		Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs200367787	0,00006	N/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba ve kardeş
H59	*RBM20*	NM_001134363.1	9	c.2390A>T	p.His797Leu	Globüler olmayan düzensiz bölge	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/T	Nispeten korunmuş	-	-	-	Anne
H60	*AKAP9*	NM_005751.4	15	c.4190A>G	p.Gln1397Arg	Globüler olmayan düzensiz bölge	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs139612565	0,0004	N/T	Korunmuş	-	4 (0,0032)	Muhtemel zararsız	Baba
	VCL	NM_014000.2	14	c.2006G>A	p.Arg669Gln	Globüler olmayan düzensiz bölge	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs759771302	0,00005	N/T	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba
	TRPM4	NM_017636.3	11	c.1458_1493del36	p.Lys487_Leu498del	Sitoplazmik	Delesyon (Inframe)	Het.	OD	+	rs568416785	0,0083	-	Nispeten korunmuş	-	3 (0,0024)	Tanımlanmamış	Anne
H61	*TMEM43*	NM_024334.2	11	c.934C>T	p.Arg312Trp	Perinükleer boşluk	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs113449357	0,009	D/D	Korunmuş	CM1211063	11 (0,0089)	Zararsız	Baba
H62	*KCNQ1*	NM_000218.2	3	c.590C>T	p.Pro197Leu	Transmembran-S3 segmenti	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs200108320	0,00007	D/D	Korunmuş	CM1313305	1 (0,0008)	Tartışmalı patojenite	Bakılmadı
	CALM2	NM_001743.4	5' UTR	c.-83 G>C	-	Promotor	UTR varyantı	Het.	?	-	-	-	-	Korunmuş	-	-	-	Bakılmadı
	CACNA1C	NM_199460.2	44	c.5294C>G	p.Ala1765Gly	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs201492706	0,0008	N/T	Nispeten korunmuş	-	7 (0,0056)	Tartışmalı patojenite	Bakılmadı
	TGFB3	NM_003239.2	1	c.293C>T	p.Ser98Leu	Dönüştürücü büyüme faktör beta, N-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs142047577	0,0007	D/T	Korunmuş	-	3 (0,0024)	Muhtemel zararsız	Bakılmadı

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H63	*GPD1L*	NM_015141.3	6	c.680C>T	p.Ala227Val	C-terminal, GPDH, NAD bağımlı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/D	Korunmuş	-	-	-	Baba
	DPP6	NM_130797.2	2	c.1249G>A	p.Val417Ile	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs536301648	0,0002	N/T	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Kardeş ve teyze
	MYBPC3	NM_000256.3	5	c.649A>G	p.Ser217Gly	Ig-benzeri C2 tip 1 domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs138753870	0,0023	D/D	Korunmuş	CM109108	4 (0,0032)	Tartışmalı patojenite	Baba ve kardeş
H64	*SCN5A*	NM_001160161.1	25	c.4349_4357delAGAAGCCCC	p.Gln1453_Pro1455del	Transmembran-S6 segmentinden sonuna kadar	Delesyon (Inframe)	Het.	OD	+	rs397514251	-	-	Korunmuş	-	-	Patojenik	Baba ve 1 kız kardeş
	ANK2	NM_001148.4	38	c.9854T>C	p.Ile3285Thr	Spektrin bağlanma domaini	Yanlış anlamlı	Hom.	OR	+	rs36210417	0,0082	N/D	Korunmuş	-	60 (0,049)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Anne, baba, 2 diğer kardeş
H65	*KCNH2*	NM_000238.3	7	c.1694C>G	p.Ala565Gly	Transmembran-S5 segmenti	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/D	Korunmuş	-	-	-	Baba
	JUP	NM_002230.2	3	c.406G>A	p.Asp136Asn	DSC1 ve DSG1 ile bağlanma bölgesi, ARM1 tekrarı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs782392706	0,00002	D/T	Korunmuş	-	-	Muhtemel patojenik	Baba
H66	*CTNNA3*	NM_013266.2	3	c.160_160delA	p.Arg54Glufs*6	VH domainleri	Delesyon (Frameshift)	Het.	OD	-	-	-	-	Korunmuş	-	1 (0,0008)	-	Anne
	CTNNA3	NM_013266.2	5	c.478T>A	p.Ser160Thr	VH1 domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs61749223	0,0114	N/T	Korunmuş	-	107 (0,086)	Tanımlanmamış	Anne
	LDB3	NM_007078.2	9	c.1468T>C	p.Trp490Arg	Globüler olmayan düzensiz bölge	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/D	Korunmuş	-	3 (0,0024)	-	Anne
	MYH6	NM_002471.3	7	c.622G>A	p.Asp208Asn	Miyozin motor	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs142027794	0,0055	N/T	Nispeten korunmuş	-	5 (0,0040)	Tartışmalı patojenite	Baba
H67	*LMNA*	NM_170707.3	2	c.481G>A	p.Glu161Lys	Çift Sarmal 1B	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs28933093	-	D/D	Korunmuş	CM032007	-	Patojenik	Baba
	TMEM43	NM_024334.2	3' UTR	c.*31T>C		3'UTR	UTR varyantı	Het.	OD	+	rs182728261	0,0094	-	Korunmuş		27 (0,022)	Tanımlanmamış	Baba
	TGFB3	NM_003239.2	5	c.860G>A	p.Arg287Gln	Tanımlanmamış	Yanlış anlamlı	Het.	?	-	-	-	N/D	Korunmuş	-	-	-	Bakılmadı

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

	SCN3B	NM_018400.3	2	c.199G>A	p.Glu67Lys	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs140381249	0,00006	N/T	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne ve kardeş
H68	*DPP6*	NM_130797.2	17	c.1711A>C	p.Lys571Gln	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs140460765	0,001	N/T	Nispeten korunmuş	-	5 (0,0040)	Önemi belirsiz	Anne
	MYBPC3	NM_000256.3	5	c.565G>A	p.Val189Ile	Ig-benzeri C2 tip 1 domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs11570052	0,0028	N/T	Korunmuş	-	11 (0,0089)	Tartışmalı patojenite	Anne
H69	*ANK2*	NM_001148.4	38	c.9046G>A	p.Glu3016Lys	Spektrin bağlanma domaini	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs149963885	0,0005	N/T	Nispeten korunmuş	-	21 (0,017)	Muhtemel zararsız	Baba
	MYH7	NM_000257.2	32	c.4472C>G	p.Ser1491Cys	Çift sarmal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs3729823	0,0075	N/D	Korunmuş	CM050712	26 (0,021)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Anne
	CACNA1S	NM_000069.2	4	c.530C>T	p.Ser177Leu	Transmembran-S4 segmenti	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs141204958	0,0004	D/D	Korunmuş	-	-	Tartışmalı patojenite	Baba
	AKAP9	NM_005751.4	22	c.5369T>G	p.Val1790Gly	Tanımlanmamış	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs151021935	0,0009	N/T	Nispeten korunmuş	-	10 (0,0081)	Tartışmalı patojenite	Anne
H70	*DSP*	NM_004415.2	24	c.6208G>A	p.Asp2070Asn	Plektin tekrar bölgesi 2	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs41302885	0,0039	N/D	Korunmuş	-	37 (0,030)	Tartışmalı patojenite	Anne
	DSC2	NM_024422.3	7	c.835C>T	p.Arg279Cys	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs193922708	0,00007	D/D	Korunmuş	CM146543	2 (0,0016)	Tartışmalı patojenite	Baba
	RYR1	NM_000540.2	49	c.7880T>G	p.Val2627Gly	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs747337318	0,000008	D/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba
H71	*DSP*	NM_004415.2	24	c.6208G>A	p.Asp2070Asn	Plektin tekrar bölgesi 2	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs41302885	0,0039	D/D	Korunmuş	-	37 (0,030)	Tartışmalı patojenite	Baba
	GNAI2	NM_002070.3	3	c.302C>T	p.Ala101Val	G-alfa	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs112497464	0,003	N/T	Korunmuş	-	6 (0,0048)	Tanımlanmamış	Anne

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H72	*KCNH2*	NM_000238.3	4	c.526C>T	p.Arg176Trp	Sitoplazmik N-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs36210422	-	D/D	Korunmuş	CM001198	-	Tartışmalı patojenite, risk faktörü	Baba
	KCNE1	NM_001127670.2	2	c.253G>A	p.Asp85Asn	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs1805128	0,0092	D/D	Korunmuş	CM040436	11 (0,0089)	Tartışmalı patojenite, risk faktörü	Baba
	ANK2	NM_001148.4	38	c.6206G>A	p.Arg2069His	Spektrin bağlanma domaini	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs149645600	0,0009	N/D	Korunmuş	-	5 (0,0040)	Önemi belirsiz	Anne
	TMEM43	NM_024334.2	3' UTR	c.*31T>C		3'UTR	UTR varyantı	Het.	OD	+	rs182728261	0,0094	-	Korunmuş	-	27 (0,022)	Tanımlanmamış	Baba
	BAG3	NM_004281.3	4	c.1240G>A	p.Glu414Lys	BAG Domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs117749531	0,0003	N/D	Korunmuş	CM152307	-	Önemi belirsiz	Anne
	BAG3	NM_004281.3	2	c.463G>A	p.Ala155Thr	Globüler olmayan düzensiz bölge	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs61756328	0,003	N/T	Korunmuş	-	12 (0,0097)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Anne
	SCN4A	NM_000334.4	6	c.968C>T	p.Thr323Met	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs80338952	0,0087	N/D	Korunmuş	-	9 (0,0073)	Zararsız	Anne
H73	*GPD1L*	NM_015141.3	6	c.839C>T	p.Ala280Val	C-terminal, GPDH, NAD bağımlı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs72552291	0,0001	N/T	Az korunmuş	CM074892	12 (0,0097)	Patojenik	Anne
	RYR2	NM_001035.2	6	c.355A>G	p.Ile119Val	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/T	Korunmuş	-	-	-	Anne ve kardeş
	MYH6	NM_002471.3	7	c.622G>A	p.Asp208Asn	Miyozin motor	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs142027794	0,0055	N/T	Nispeten korunmuş	-	5 (0,0040)	Tartışmalı patojenite	Baba
H74	*KCNQ1*	NM_000218.2	Intron 2	c.477+1G>A		Transmembran -S2 segmenti	Splice bölge	Het.	OD	+	rs762814879	0,00002	-	Korunmuş	CS972914	-	Patojenik	Baba
	KCNQ1	NM_000218.2	16	c.1831G>A	p.Asp611Asn	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs147445322	0,0002	D/D	Korunmuş	CM097258	-	Patojenik	Baba
H75	*CASQ2*	NM_001232.3	1	c.97C>T	p.Arg33Ter	Calsequestrin, korunmuş bölge	Anlamsız (Dur Kodonu)	Het.	OD	+	rs397507556	0,00002	-	Korunmuş	CM024341	-	Patojenik	Anne
	DSP	NM_004415.2	1	c.88G>A	p.Val30Met	Sitoplazmik N-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs121912998	0,0031	N/T	Az korunmuş	CM063961	24 (0,019)	Tartışmalı patojenite	Anne
	TRDN	NM_006073.3	4	c.403G>A	p.Glu135Lys	Lumenal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs192289289	0,0073	N/D	Korunmuş	-	4 (0,0032)	Tanımlanmamış	Baba
	DPP6	NM_130797.2	17	c.1711A>C	p.Lys571Gln	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs140460765	0,001	N/T	Nispeten korunmuş	-	5 (0,0040)	Önemi belirsiz	Baba
	CACNB2	NM_201596.2	14	c.1511C>T	p.Thr504Ile	C-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs143326262	0,0016	N/T	Korunmuş	CM109289	3 (0,0024)	Tartışmalı patojenite	Baba

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H76	*CACNA1C*	NM_199460.2	49	c.6167G>A	p.Arg2056Gln	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs112414325	0,0036	D/D	Korunmuş	-	31 (0,025)	Tanımlanmamış	Bakılmadı
H77	*AKAP9*	NM_005751.4	40	c.9697C>T	p.Arg3233Cys	Çift sarmal	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs61757674	0,0002	D/D	Az korunmuş	CM143091	-	Tanımlanmamış	Bakılmadı
	DES	NM_001927.3	2	c.638C>T	p.Ala213Val	1B Sarmalı	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs41272699	0,0101	N/D	Korunmuş	CM117560	16 (0,013)	Tartışmalı patojenite	Bakılmadı
	PRKAG2	NM_016203.3	3	c.298G>A	p.Gly100Ser		Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs79474211	0,0081	N/T	Korunmuş	CM136115	13 (0,010)	Tartışmalı patojenite	Bakılmadı
H78	*ANK2*	NM_001148.4	38	c.5758G>A	p.Gly1920Arg	Spektrin bağlanma domaini	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs140189724	0,00007	N/D	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne
	CTNNA3	NM_013266.2	5	c.478T>A	p.Ser160Thr	VH1 domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs61749223	0,0114	N/T	Korunmuş	-	107 (0,086)	Tanımlanmamış	Anne
H79	*CACNA1C*	NM_199460.2	25	c.3121T>C	p.Cys1041Arg	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	de-novo	-	-	-	D/D	Korunmuş	-	-	-	de-novo
	CACNA1S	NM_000069.2	43	c.5244_5244delC	p.Ser1749Profs*39	Sitoplazmik C-Terminal	Delesyon (Frameshift)	Het.	OD	-	-	-	-	Nispeten Korunmuş	-	-	-	Baba
H80	*SCN5A*	NM_001160161.1	12	c.1715C>A	p.Ala572Asp	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs36210423	0,0043	N/T	Az korunmuş	CM034060	-	Tartışmalı patojenite	Anne
	AKAP9	NM_005751.4	8	c.1361G>A	p.Arg454Lys	ELK Domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	N/T	Nispeten korunmuş	-	-	-	Baba
	SCN4A	NM_000334.4	14	c.2722G>A	p.Glu908Lys	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs117664682	0,0052	N/D	Korunmuş	-	4 (0,0032)	Tanımlanmamış	Baba
	RYR2	NM_001035.2	53	c.8048C>T	p.Ser2683Leu	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs776621043	0,00001	N/T	Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne
	DSP	NM_004415.2	23	c.4735C>T	p.Arg1579Trp	Çift sarmal Merkezi fibröz rod domaini	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs755868373	0,000008	D/D	Nispeten korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Baba
	MYBPC3	NM_000256.3	3	c.355G>A	p.Glu119Lys	Ig-benzeri C2 tip 1 domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs397516025	-	N/T	Korunmuş	-	-	Önemi belirsiz	Baba
	LDB3	NM_007078.2	4	c.352G>A	p.Val118Met	Ara Filament	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs35507268	0,0046	N/T	Nispeten korunmuş	-	3 (0,0024)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Baba

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

	KCNE1	NM_001127670.2	2	c.226G>A	p.Asp76Asn	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs74315445	0,00003	D/T	Nispeten korunmuş	CM970800	-	Patojenik/Muhtemel patojenik	Baba
H81	*MYH6*	NM_002471.3	Intron 16	c.1962+2G>A		Miyozin motor	Splice Bölge	Hom.	OR	-	-	-	-	-	-	-	-	Baba ve kardeş
	MYH7	NM_000257.2	17	c.1891A>G	p.Ile631Val	Miyozin motor	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	-	-	N/T	-	-	-	-	Anne
	DSG2	NM_001943.3	12	c.1814A>T	p.Asp605Val	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs761157959	0,000008	D/D	Nispeten Korunmuş	-	-	Tanımlanmamış	Anne ve kardeş
H82	*KCNQ1*	NM_000218.2	6	c.824_826delTCT	p.Phe275del	Transmembran-S5 segmenti	Delesyon (Inframe)	Het.	OD	+	rs397508126	-	-	Korunmuş	CD086714	--	Test edilmemiş	Anne
	TRPM4	NM_017636.3		c.2664delC	p.His889Thrfs*34	3. transmembran domaininden itibaren	Delesyon (Frameshift)	Het.	OD	+	rs777047595	0,0001	-	Nispeten korunmuş	-	1 (0,0008)	Tanımlanmamış	Anne
H83	*Varyasyon saptanmadı*																	
H84	*RYR2*	NM_001035.2	32	c.4198A>G	p.Ser1400Gly	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	?	+	rs56229512	0,0182	N/T	Nispeten Korunmuş	-	35/1230 (0.028)	Zararsız	Bakılmadı
	BAG3	NM_004281.3	4	c.1678T>A	p.Ser560Thr	C-terminal	Yanlış anlamlı	Het.	?	-	-	-	N/T	Nispeten Korunmuş	-		-	Bakılmadı
H85	*SCN4A*	NM_000334.4	14	c.2717G>C	p.Ser906Thr	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs41280102	0,0095	N/T	Az korunmuş	CM034679	29 (0,023)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Baba ve kardeş
H86	*KCNQ1*	NM_000218.2	8	c.1097G>A	p.Arg366Gln	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs199473410	0,000008	D/D	Korunmuş	CM002330	-	Patojenik	Baba ve kız kardeş
	TMPO	NM_003276.2	4	c.1957C>T	p.Leu653Phe	Çift sarmal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs202035749	0,0006	N/D	Korunmuş	-	16 (0,013)	Önemi belirsiz	Baba ve erkek kardeş
	DSC2	NM_024422.3	12	c.1787C>T	p.Ala596Val	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs148185335	0,0012	D/D	Korunmuş	-	28 (0,023)	Tartışmalı patojenite	Anne
H87	*CALM2*	NM_001743.4	5	c.293A>G	p.Asn98Ser	EF-Hand 1, Ca bağlanma bölgesi	Yanlış anlamlı	Het.	de-novo	+	rs398124647	-	D/-	Korunmuş	CM1314448	-	Patojenik/Muhtemel patojenik	de-novo
	PKP2	NM_004572.3	7	c.1577C>T	p.Thr526Met	Armodillo benzeri helikal domain	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs146882581	0,0023	N/D	Korunmuş	CM113820	1 (0,0008)	Zararsız/Muhtemel zararsız	Anne
	DSC2	NM_024422.3	12	c.1787C>T	p.Ala596Val	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs148185335	0,0012	D/D	Korunmuş	-	28 (0,023)	Tartışmalı patojenite	Anne ve kardeş

Tablo 9: Tez çalışmasına dahil edilen 92 hastaya ait genetik sonuçlar (Devamı)

H88	*KCNQ1*	NM_000218.2	15	c.1772G>A	p.Arg591His	Sitoplazmik C-Terminal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs144848998	-	D/D	Korunmuş	CM990767	-	Patojenik	Anne ve kız kardeş
H89	*Varyasyon saptanmadı*																	
H90	*SCN5A*	NM_001160161.1	17	c.2837A>C	p.Asn946Thr	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/D	Korunmuş	-	-	-	Taşıyıcılıklar Şekil 73'te pedigreede gösterilmiştir.
	KCNQ1	NM_000218.2	8	c.1097G>A	p.Arg366Gln	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs199473410	0,000008	D/D	Korunmuş	CM002330	-	Patojenik	
H91	*MYH6*	NM_002471.3	21	c.2591C>T	p.Thr864Met	Çift sarmal	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs200153625	0,00002	N/D	Nispeten korunmuş	-	-	Tartışmalı patojenite	Baba
H92	*KCNJ2*	NM_000891.2	2	c.277G>A	p.Val93Ile	Transmembran-M1 Sarmalı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs147750704	0,0001	N/T	Korunmuş	CM051940	5 (0,0040)	Tartışmalı patojenite	Anne ve kardeş
	DSC2	NM_024422.3	13	c.1976C>T	p.Ser659Phe	Hücre dışı	Yanlış anlamlı	Het.	OD	-	-	-	D/T	Nispeten korunmuş	-	-	-	Anne ve kardeş
	TRPM4	NM_017636.3	22	c.3337C>G	p.Leu1113Val	Sitoplazmik	Yanlış anlamlı	Het.	OD	+	rs780954126	0,000008	-	Korunmuş	-	-	Önemi belirsiz	Anne

Tablo 10'da ise çalışmada belirlenen varyasyonların saptandığı genlere göre alfabetik sırada dizilişleri gösterilmektedir. İlgili gen değişikliği, hangi hasta/hastalarda görüldüğü, değişikliğin HGVS terminolojisine göre DNA seviyesinde ve protein seviyesinde tanımlanması, varyasyonun tipi (yanlış anlamlı, çerçeve kayması veya çerçeve içi delesyon/duplikasyon, splice bölge, UTR) varyasyon sonucu etkilenen protein bölgesi, varyasyonun hangi ekzonda meydana geldiği, varyasyon için bildirilmiş literatür bilgisi mevcutsa dbSNP numarası, HGMD veritabanında bildirilmişse numarası, dbSNP/Clinvar veritabanlarındaki sınıflandırılmaları tabloda belirtilmiştir. Tabloda literatüre bildirilmemiş genetik değişiklikler koyu gri renk ile 1'in üzerinde hastada tekrarlayan genetik değişiklikler sarı renk ile patojenik değişiklikler ise koyu yazı karakteriyle gösterilmiştir (Tablo 10).

Tablo 10: Alfabetik sıraya göre dizili genlerde saptanan mutasyon/varyasyonlar

Gen	Hasta ID	DNA Seviyesi	Varyasyon Tipi	Etkilenen Protein bölgesi	Ekzon	dbSNP No	HGMD Public	dbSNP/ClinVar
AKAP9	H80	c.1361G>A	Yanlış anlamlı	ELK Domain	8	Bildirilmemiş		
AKAP9	H16	c.3736A>G	Yanlış anlamlı	Globüler olmayan düzensiz bölge	11	rs779232513		Tanımlanmamış
AKAP9	H30	c.3827G>A	Yanlış anlamlı	Çift sarmal domain	12	rs146797353	CM1511399	Zararsız
AKAP9	H60	c.4190A>G	Yanlış anlamlı	Globüler olmayan düzensiz bölge	15	rs139612565	-	Muhtemel zararsız
AKAP9	H32, H45 ve H70	c.5369T>G	Yanlış anlamlı	Tanımlanmamış	22	rs151021935	-	Tartışmalı patojenite
AKAP9	H44	c.5468A>T	Yanlış anlamlı	Globüler olmayan düzensiz bölge	22	rs147772200	-	Tanımlanmamış
AKAP9	H12	c.7115T>C	Yanlış anlamlı	Çift sarmal domain	31	rs749716365	-	Tanımlanmamış
AKAP9	H18	c.9117T>G	Yanlış anlamlı	Çift sarmal domain	37	Bildirilmemiş		
AKAP9	H77	c.9697C>T	Yanlış anlamlı	Çift sarmal	40	rs61757674	CM143091	Tanımlanmamış

Tablo 10: Alfabetik sıraya göre dizili genlerde saptanan mutasyon/varyasyonlar (Devamı)

AKAP9	H49	c.10118C>A	Yanlış anlamlı	Globüler olmayan düzensiz bölge	41	rs140470576	-	Muhtemel zararsız
AKAP9	H4	c.10406C>T	Yanlış anlamlı	Çift sarmal domain	42	rs746860114	-	Tanımlanmamış
AKAP9	H7	c.10459G>A	Yanlış anlamlı	Tanımlanmamış	42	rs61757664	-	Tartışmalı patojenite
AKAP9	H15	c.10664A>T	Yanlış anlamlı	Tanımlanmamış	43	rs139046510	-	Muhtemel zararsız
AKAP9	H48	c.11714T>C	Yanlış anlamlı	C-terminal	50	rs77447750	-	Önemi belirsiz
ANK2	H78	c.5758G>A	Yanlış anlamlı	Spektrin bağlanma domaini	38	rs140189724	-	Tanımlanmamış
ANK2	H72	c.6206G>A	Yanlış anlamlı	Spektrin bağlanma domaini	38	rs149645600	-	Önemi belirsiz
ANK2	H57	c.6228G>T	Yanlış anlamlı	Spektrin bağlanma domaini	38	rs144848998	-	Muhtemel zararsız
ANK2	H43, H36	c.7132G>A	Yanlış anlamlı	Spektrin bağlanma domaini	38	rs141191319	-	Muhtemel zararsız
ANK2	H69	c.9046G>A	Yanlış anlamlı	Spektrin bağlanma domaini	38	rs149963885	-	Muhtemel zararsız
ANK2	H3, H42, H64 ve H51	c.9854T>C	Yanlış anlamlı	Spektrin bağlanma domaini	38	rs36210417	-	Zararsız/Muhtemel zararsız
ANK2	H28, H29	c.11791G>A	Yanlış anlamlı	C-terminal	45	rs45454496	CM041240	Tartışmalı patojenite
BAG3	H72	c.463G>A	Yanlış anlamlı	Globüler olmayan düzensiz bölge	2	rs61756328	-	Zararsız/Muhtemel zararsız
BAG3	H72	c.1240G>A	Yanlış anlamlı	BAG Domain	4	rs117749531	CM152307	Önemi belirsiz
BAG3	H15	c.1571T>C	Yanlış anlamlı	C-terminal	4	rs752390475	-	Tanımlanmamış
BAG3	H84	c.1678T>A	Yanlış anlamlı	C-terminal	4		Bildirilmemiş	
CACNA1C	H79	c.3121T>C	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	25		Bildirilmemiş	
CACNA1C	**H28**	**c.4562C>G**	**Yanlış anlamlı**	**Transmembran-S6 segment**	**38**	**-**	**CM1110293**	**Patojenik**
CACNA1C	H62	c.5294C>G	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	44	rs201492706	-	Tartışmalı patojenite
CACNA1C	H76	c.6167G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik C-Terminal	49	rs112414325	-	Tanımlanmamış
CACNA1S	H70	c.530C>T	Yanlış anlamlı	Transmembran-S4 segmenti	4	rs141204958	-	Tartışmalı patojenite
CACNA1S	H43	c.1478T>C	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	11	-	-	-

Tablo 10: Alfabetik sıraya göre dizili genlerde saptanan mutasyon/varyasyonlar (Devamı)

CACNA1S	H11	c.3080A>T	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler	25	rs757112281	-	Tanımlanmamış
CACNA1S	H79	c.5244_5244delC	Delesyon (Framesh ift)	Sitoplazmik C-Terminal	43		Bildirilmemiş	
CACNA2D1	H15	c.231G>T	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler	3	rs770723145	-	Tanımlanmamış
CACNB2	H15	c.641G>C	Yanlış anlamlı	N-terminal	6	rs149253719	-	Tartışmalı patojenite
CACNB2	H75	c.1511C>T	Yanlış anlamlı	C-terminal	14	rs143326262	CM109289	Tartışmalı patojenite
CALM2	H87	c.293A>G	Yanlış anlamlı	EF-Hand 1, Ca bağlanma bölgesi	5	rs398124647	CM1314448	Patojenik/Muhtemel patojenik
CALM2	H62	c.-83 G>C	UTR varyantı	Promotor	5' UTR		Bildirilmemiş	
CASQ2	**H75**	**c.97C>T**	**Anlamsız (Dur Kodonu)**	**Calsequestrin, korunmuş bölge**	**1**	**rs397507556**	**CM024341**	**Patojenik**
CASQ2	H39	c.874G>T	Yanlış anlamlı	Thoredoxin benzeri domain	9	rs200643387	-	-
CAV3	H35, H55	c.233C>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	2	rs72546668	CM065052	Tartışmalı patojenite
CTNNA3	H66	c.160_160delA	Delesyon (Framesh ift)	VH domainleri	3		Bildirilmemiş	
CTNNA3	H66, H78	c.478T>A	Yanlış anlamlı	VH1 domain	5	rs61749223	-	Tanımlanmamış
CTNNA3	H31	c.1603C>T	Yanlış anlamlı	VH2 domain	12	rs41274090	-	Tanımlanmamış
DES	H77	c.638C>T	Yanlış anlamlı	1B Sarmalı	2	rs41272699	CM117560	Tartışmalı patojenite
DPP6	H63	c.1249G>A	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler	2	rs536301648	-	Tanımlanmamış
DPP6	H68, H75	c.1711A>C	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler	17	rs140460765	-	Önemi belirsiz
DSC2	H70	c.835C>T	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler	7	rs193922708	CM146543	Tartışmalı patojenite
DSC2	H86, H87	c.1787C>T	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler	12	rs148185335	-	Tartışmalı patojenite
DSC2	H92	c.1976C>T	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler	13	-	-	-
DSG2	H81	c.1814A>T	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler	12	rs761157959	-	Tanımlanmamış
DSG2	H29	c.2750_2750delC	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	15		Bildirilmemiş	
DSP	H21, H75	c.88G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik N-terminal	1	rs121912998	CM063961	Tartışmalı patojenite
DSP	H80	c.4735C>T	Yanlış anlamlı	Çift sarmal Merkezi fibröz rod domaini	23	rs755868373	-	Tanımlanmamış
DSP	H70, H71	c.6208G>A	Yanlış anlamlı	Plektin tekrar bölgesi 2	24	rs41302885	-	Tartışmalı patojenite
DSP	H54	c.6269A>G	Yanlış anlamlı	Plektin tekrar bölgesi 3	24	rs755069593	-	Tanımlanmamış

Tablo 10: Alfabetik sıraya göre dizili genlerde saptanan mutasyon/varyasyonlar (Devamı)

DSP	H36	c.7916G>A	Yanlış anlamlı	Plektin tekrar bölgesi 14	24	rs116888866	CM085968	Tartışmalı patojenite
GNAI2	H71	c.302C>T	Yanlış anlamlı	G-alfa	3	rs112497464	-	Tanımlanmamış
GPD1L	H63	c.680C>T	Yanlış anlamlı	C-terminal, GPDH, NAD bağımlı	6		Bildirilmemiş	
GPD1L	**H5, H73**	**c.839C>T**	**Yanlış anlamlı**	**C-terminal, GPDH, NAD bağımlı**	**6**	**rs72552291**	**CM074892**	**Patojenik**
HCN4	H19	c.3263C>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	8	rs758484576	-	Tanımlanmamış
JUP	**H65**	**c.406G>A**	**Yanlış anlamlı**	**DSC1 ve DSG1 ile bağlanma bölgesi, ARM1 tekrarı**	**3**	**rs782392706**	**-**	**Muhtemel patojenik**
JUP	H27	c.2154G>A	Yanlış anlamlı	C-terminal	14	-	-	-
KCNA10	H2	c.674T>C	Yanlış anlamlı	Transmembran-S1 segmenti	1	rs755836224	-	Tanımlanmamış
KCNB1	H2	c.778G>A	Yanlış anlamlı	Transmembran-S3 segmenti	2		Bildirilmemiş	
KCND2	H2	c.1411G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik C-Terminal	4	rs757922549	-	Tanımlanmamış
KCND3	H45	c.1889G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik C-Terminal	8	rs774713377	-	Tanımlanmamış
KCNE1	H81	c.226G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	2	rs74315445	CM970800	Patojenik/Muhtemel patojenik
KCNE1	H35, H72	c.253G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	2	rs1805128	CM040436	Tartışmalı patojenite, risk faktörü
KCNE1	H45	c.325G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik C-Terminal	2	rs77442996	CM012775	Önemi belirsiz
KCNE2	H35	c.22A>G	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler N-terminal	2	rs2234916	CM003449	Zararsız
KCNE3	H3	c.26C>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik N-terminal	3	rs139040374	-	Tanımlanmamış
KCNE3	H44	c.304A>G	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik C-Terminal	3	rs556647231	-	Tanımlanmamış
KCNH2	H1	c.442C>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik N-terminal	3	rs139544114	CM096514	Tartışmalı patojenite
KCNH2	H72	c.526C>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik N-terminal	4	rs36210422	CM001198	Tartışmalı patojenite, risk faktörü
KCNH2	H65	c.1694C>G	Yanlış anlamlı	Transmembran-S5 segmenti	7		Bildirilmemiş	
KCNH2	**H10**	**c.2230C>T**	**Anlamsız (Stop Kodon)**	**Sitoplazmik C-Terminal**	**9**	**rs189014161**	**CM020455**	**Patojenik**

Tablo 10: Alfabetik sıraya göre dizili genlerde saptanan mutasyon/varyasyonlar (Devamı)

KCNH2	H32	c.3365C>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik C-Terminal	15	rs531460655	CM139897	Önemi belirsiz
KCNJ2	H7	c.97G>C	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik N-Terminal	2	rs375727662	-	Tanımlanmamış
KCNJ2	H92	c.277G>A	Yanlış anlamlı	Transmembran-M1 Sarmalı	2	rs147750704	CM051940	Tartışmalı patojenite
KCNJ8	H36	c.263C>G	Yanlış anlamlı	Transmembran-M1 Sarmalı	2	rs117808169	-	Önemi belirsiz
KCNK17	H2	c.324_326delCTT	Delesyon (Inframe)	Membran içi por oluşturan 1. bölge	2	rs540653476	-	Tanımlanmamış
KCNQ1	H7	c.458C>T	Yanlış anlamlı	Transmembran-S2 segmenti	2	rs143709408	CM097083	Önemi belirsiz
KCNQ1	H11	c.467T>C	Yanlış anlamlı	Transmembran-S2 segmenti	2		Bildirilmemiş	
KCNQ1	**H74**	**c.477+1G>A**	**Splice bölge**	**Transmembran-S2 segmenti**	**Intron 2**	**rs762814879**	**CS972914**	**Patojenik**
KCNQ1	H62	c.590C>T	Yanlış anlamlı	Transmembran-S3 segmenti	3	rs200108320	CM1313305	Tartışmalı patojenite
KCNQ1	**H39**	**c.604G>A**	**Yanlış anlamlı**	**Transmembran-S3 segmenti**	**3**	**rs199472702**	**CM023400**	**Patojenik**
KCNQ1	**H52**	**c.728G>A**	**Yanlış anlamlı**	**Transmembran-S4 segmenti**	**5**	**rs120074196**	**CM993617**	**Patojenik**
KCNQ1	H12	c.817C>A	Yanlış anlamlı	Transmembran-S6 segmenti	6		Bildirilmemiş	
KCNQ1	H82	c.824_826delTCT	Delesyon (Inframe)	Transmembran-S5 segmenti	6	rs397508126	CD086714	Test edilmemiş
KCNQ1	**H38**	**c.1031C>T**	**Yanlış anlamlı**	**Transmembran-S6 segmenti**	**7**	**rs199472763**	**CM970828**	**Patojenik**
KCNQ1	**H34**	**c.940G>A**	**Yanlış anlamlı**	**Membran içi por segmenti 1**	**7**	**rs120074184**	**CM960902**	**Patojenik**
KCNQ1	**H22**	**c.973G>A**	**Yanlış anlamlı**	**Ekstrasellüler**	**7**	**rs199472756**	**CM970826**	**Patojenik**
KCNQ1	**H14, H44, H86 ve H90**	**c.1097G>A**	**Yanlış anlamlı**	**Sitoplazmik**	**8**	**rs199473410**	**CM002330**	**Patojenik**
KCNQ1	H24, H47	c.1179G>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	9	rs12720457	CM078293	Tartışmalı patojenite
KCNQ1	H36	c.1189C>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	9	rs199472776	CM071815	Tartışmalı patojenite
KCNQ1	H26	c.1265_1266insA	Delesyon (Framesh ift)	Sitoplazmik C-Terminal	10	rs397508084	CI056224	Test edilmemiş
KCNQ1	H8	c.1579A>G	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik C-Terminal	12		Bildirilmemiş	
KCNQ1	H36	c.1598G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik C-Terminal	13	rs574321120	-	Tanımlanmamış

Tablo 10: Alfabetik sıraya göre dizili genlerde saptanan mutasyon/varyasyonlar (Devamı)

KCNQ1	**H30**	**c.1685G>T**	**Yanlış anlamlı**	**Sitoplazmik C-Terminal**	**13**	**rs199472802**	**CM030229**	**Patojenik**
KCNQ1	**H46, H88**	**c.1772G>A**	**Yanlış anlamlı**	**Sitoplazmik C-Terminal**	**15**	**rs144848998**	**CM990767**	**Patojenik**
KCNQ1	**H74**	**c.1831G>A**	**Yanlış anlamlı**	**Sitoplazmik C-Terminal**	**16**	**rs147445322**	**CM097258**	**Patojenik**
KCNQ1	H42	c.*19G>A	UTR varyantı	3' UTR	3' UTR		Bildirilmemiş	
LDB3	H20, H80	c.352G>A	Yanlış anlamlı	Ara Filament	4	rs35507268	-	Zararsız/Muhtemel zararsız
LDB3	H14	c.742G>A	Yanlış anlamlı	Ara Filament	5	rs369419493	-	Tanımlanmamış
LDB3	H66	c.1468T>C	Yanlış anlamlı	Globüler olmayan düzensiz bölge	9		Bildirilmemiş	
LDB3	H34	c.1475C>A	Yanlış anlamlı	LTD	9		Bildirilmemiş	
LMNA	**H67**	**c.481G>A**	**Yanlış anlamlı**	**Çift Sarmal 1B**	**2**	**rs28933093**	**CM032007**	**Patojenik**
MYBPC3	H18	c.148A>G	Yanlış anlamlı	N-terminal	2	rs373164247	-	Önemi belirsiz
MYBPC3	H80	c.355G>A	Yanlış anlamlı	Ig-benzeri C2 tip 1 domain	3	rs397516025	-	Önemi belirsiz
MYBPC3	H68	c.565G>A	Yanlış anlamlı	Ig-benzeri C2 tip 1 domain	5	rs11570052	-	Tartışmalı patojenite
MYBPC3	H63	c.649A>G	Yanlış anlamlı	Ig-benzeri C2 tip 1 domain	5	c.9854T>C	CM109108	Tartışmalı patojenite
MYH6	H66, H73	c.622G>A	Yanlış anlamlı	Miyozin motor	7	rs142027794	-	Tartışmalı patojenite
MYH6	H36	c.831G>T	Yanlış anlamlı	Miyozin motor	10	rs140660481	-	Önemi belirsiz
MYH6	H91	c.2591C>T	Yanlış anlamlı	Çift sarmal	21	rs200153625	-	Tartışmalı patojenite
MYH6	H53	c.3893C>T	Yanlış anlamlı	Çift sarmal	28	rs368588052	-	Muhtemel zararsız
MYH6	H25	c.4264C>T	Yanlış anlamlı	Çift sarmal	30	rs200465713	-	Tanımlanmamış
MYH6	H81	c.1962+2G>A	Splice Bölge	Miyozin motor	Intron 16		Bildirilmemiş	
MYH7	H81	c.1891A>G	Yanlış anlamlı	Miyozin motor	17		Bildirilmemiş	
MYH7	H51	c.3746G>A	Yanlış anlamlı	Çift sarmal	28		Bildirilmemiş	
MYH7	H39	c.3830G>A	Yanlış anlamlı	Çift sarmal	28	rs397516195	CM133941	Önemi belirsiz
MYH7	H69	c.4472C>G	Yanlış anlamlı	Çift sarmal	32	rs3729823	CM050712	Zararsız/Muhtemel zararsız
MYL3	H32	c.170C>A	Yanlış anlamlı	EF-Hand 1, Ca bağlanma bölgesi	3	rs139794067	CM1411046	Tartışmalı patojenite
NKX2-5	H52	c.809G>A	Yanlış anlamlı	C-terminal	2	rs587782931	-	Muhtemel zararsız
PKP2	H29	c.184C>A	Yanlış anlamlı	N-terminal	1	rs199601548	CM061171	Önemi belirsiz

Tablo 10: Alfabetik sıraya göre dizili genlerde saptanan mutasyon/varyasyonlar (Devamı)

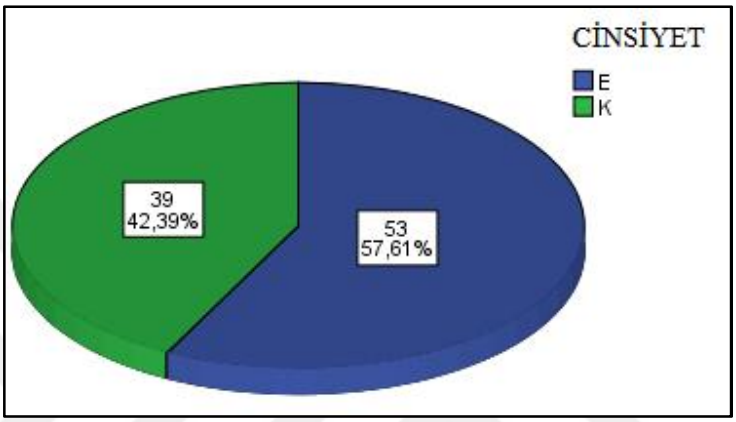
PKP2	H87	c.1577C>T	Yanlış anlamlı	Armodillo benzeri helikal domain	7	rs146882581	CM113820	Zararsız/Muhtemel zararsız
PKP2	H16	c.2431C>A	Yanlış anlamlı	Armodillo benzeri helikal domain	12	rs139734328	CM102828	Tartışmalı patojenite
PRKAG2	H77	c.298G>A	Yanlış anlamlı		3	rs79474211	CM136115	Tartışmalı patojenite
RBM20	H34	c.776G>T	Yanlış anlamlı	Globüler olmayan düzensiz bölge	2		Bildirilmemiş	
RBM20	H59	c.2390A>T	Yanlış anlamlı	Globüler olmayan düzensiz bölge	9		Bildirilmemiş	
RBM20	H39	c.2715G>A	Yanlış anlamlı	Globüler olmayan düzensiz bölge	11		Bildirilmemiş	
RYR1	H57	c.1354G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	13		Bildirilmemiş	
RYR1	H4	c.5020G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	34		Bildirilmemiş	
RYR1	H70	c.7880T>G	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	49	rs747337318	-	Tanımlanmamış
RYR2	H73	c.355A>G	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	6	-	-	-
RYR2	H52	c.1346T>G	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	15	rs373331669	-	Tanımlanmamış
RYR2	H51	c.3721G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	30	rs185715460	-	Önemi belirsiz
RYR2	H46	c.4093G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	31	-	-	-
RYR2	H84	c.4198A>G	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	32	rs56229512	-	Zararsız
RYR2	H57	c.5042A>G	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	37	-	-	-
RYR2	**H21**	**c.5170G>A**	**Yanlış anlamlı**	**Sitoplazmik**	**37**	**-**	**CM097953**	**Patojenik**
RYR2	H29	c.5751G>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	38		Bildirilmemiş	
RYR2	H80	c.8048C>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	53	rs776621043	-	Tanımlanmamış
SCN1B	H14	c.641G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	3	rs66876876	-	Tartışmalı patojenite
SCN3B	H68	c.199G>A	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler	2	rs140381249	-	Tanımlanmamış
SCN4A	H72	c.968C>T	Yanlış anlamlı	Ekstrasellüler	6	rs80338952	-	Zararsız
SCN4A	H27, H94	c.2717G>C	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	14	rs41280102	CM034679	Zararsız/Muhtemel zararsız
SCN4A	H80	c.2722G>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	14	rs117664682	-	Tanımlanmamış
SCN4A	H4	c.5434C>T	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik C-Terminal	24	-	-	Tanımlanmamış
SCN5A	**H33**	**c.1231G>A**	**Yanlış anlamlı**	**Transmembran-S6 segment**	**10**	**rs72549410**	**CM004141**	**Patojenik**
SCN5A	H80	c.1715C>A	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	12	rs36210423	CM034060	Tartışmalı patojenite
SCN5A	H90	c.2837A>C	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	17		Bildirilmemiş	

Tablo 10: Alfabetik sıraya göre dizili genlerde saptanan mutasyon/varyasyonlar (Devamı)

SCN5A	**H64**	**c.4349_4357delAGAAGCCCC**	**Delesyon (Inframe)**	**Transmembran-S6 segmentinden sonuna kadar**	**25**	**rs397514251**	**-**	**Patojenik**
SLMAP	H56	.432_437delACCATT	Delesyon (Inframe)	Sitoplazmik, helikal ve ekstrasellüler	4	-	-	-
SNTA1	H56	c.1180C>T	Yanlış anlamlı	PH2 Domain	6	rs567451585	-	Tanımlanmamış
TCAP	H25	c.33_35delGGA	Delesyon (Inframe)	Titin benzeri domain	1	rs537595753	-	Tanımlanmamış
TGFB3	H62	c.293C>T	Yanlış anlamlı	Dönüştürücü büyüme faktör beta, N-Terminal	1	rs142047577	-	Muhtemel zararsız
TGFB3	H67	c.860G>A	Yanlış anlamlı	Tanımlanmamış	5		Bildirilmemiş	
TGFB3	H44	c.911C>A	Yanlış anlamlı	Dönüştürücü büyüme faktör beta,C-Terminal	5		Bildirilmemiş	
TMEM43	H61	c.934C>T	Yanlış anlamlı	Perinükleer boşluk	11	rs113449357	CM1211063	Zararsız
TMEM43	H67	c.*31T>C	UTR varyantı	3'UTR	3'UTR	rs182728261		Tanımlanmamış
TMEM43	H72	c.*31T>C	UTR varyantı	3'UTR	3'UTR	rs182728261	-	Tanımlanmamış
TMPO	H58	c.1243T>G	Yanlış anlamlı		4	rs200367787	-	Tanımlanmamış
TMPO	H86	c.1957C>T	Yanlış anlamlı	Çift sarmal	4	rs202035749	-	Önemi belirsiz
TNNI3	H20	c.356C>A	Yanlış anlamlı	Troponin	5	rs184709702	CM1414554	Önemi belirsiz
TRDN	H75	c.403G>A	Yanlış anlamlı	Lumenal	4	rs192289289	-	Tanımlanmamış
TRPM4	H60	c.1458_1493del36	Delesyon (Inframe)	Sitoplazmik	11	rs568416785	-	Tanımlanmamış
TRPM4	H82	c.2664delC	Delesyon (Frameshift)	3. transmembran domaininden itibaren		rs777047595	-	Tanımlanmamış
TRPM4	H6	c.3167T>C	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	21		Bildirilmemiş	
TRPM4	H26	c.3224T>G	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	21		Bildirilmemiş	
TRPM4	H92	c.3337C>G	Yanlış anlamlı	Sitoplazmik	22	rs780954126	-	Önemi belirsiz
VCL	H60	c.2006G>A	Yanlış anlamlı	Globüler olmayan düzensiz bölge	14	rs759771302	-	Tanımlanmamış

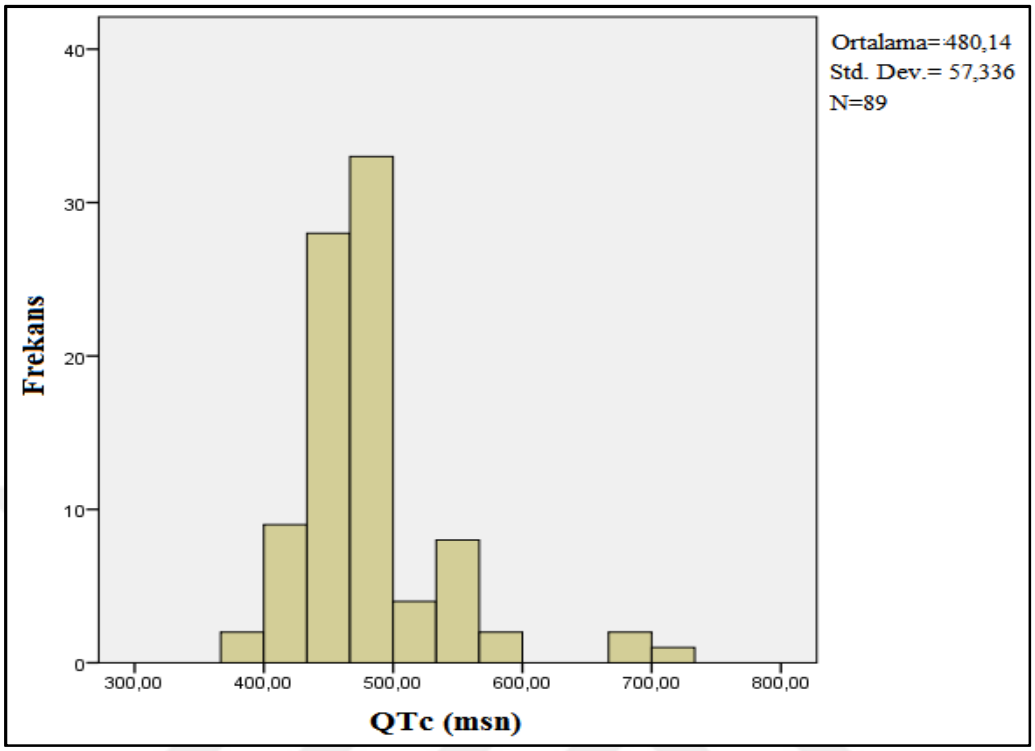
6.4. Tez Çalışmasında Çalışılan 92 Hastaya Ait Klinik ve Genetik Veriler Birleştirilerek Yapılan İstatistiksel Sonuçlar

Doktora tez çalışmasında 53 erkek (%57,61) 39 kadın (%42,39) olmak üzere toplam 92 uzun QT hastası çalışılmıştır (Şekil 74).



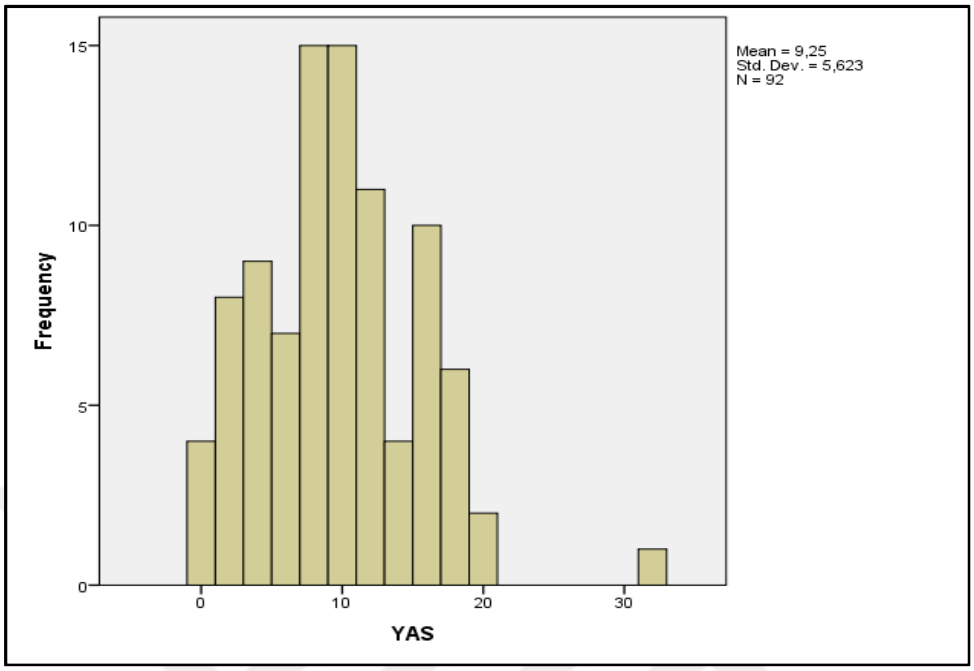
Şekil 74: Tezde çalışılan toplam UQT hasta sayısı (%). Kadın ve erkek için ayrı ayrı gösterilmiştir. Çalışılan hastaların %42,39'u kadın, %57,61'i erkektir.

Çalışılan 92 hastadan QTc mesafesi bildirilen toplam 89 bireyin ortalama QTc mesafesi 480,14±57,335 ms'dir. H45, H68 ve H77 numaralı hastalara dair QTc mesafesi bildirilmediği için hesaplama geri kalan 89 birey üzerinden yapılmıştır (Şekil 75).



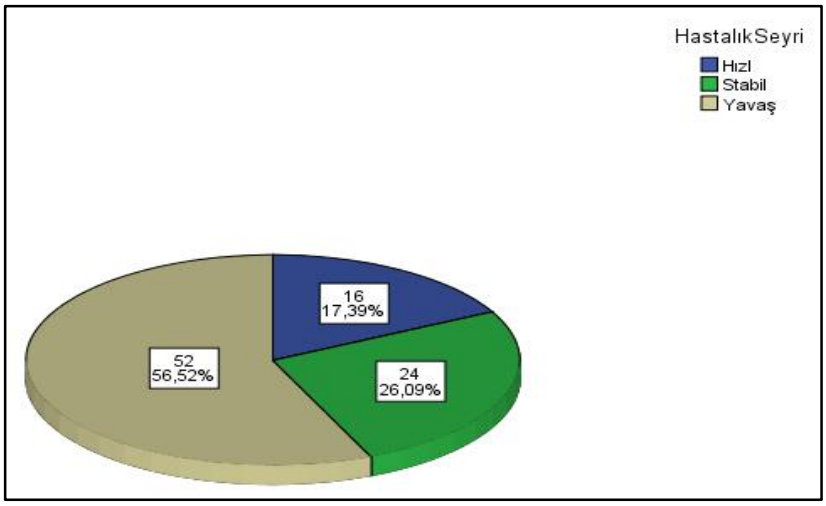
Şekil 75: Tezde çalışılan ve QTc bilgisi mevcut 89 UQT hastasının ortalama QTc mesafesi

Tez çalışmasında çalışılan 92 bireye ait yaş ortalaması 9,25±5,623'dir (Şekil 76).



Şekil 76: Çalışılan 92 UQT hastasının yaş ortalaması grafiği

Tezde çalışılan UQT hastalarının 17'sinde hastalık seyri hızlı (%17,39) 24 tanesinde hastalık seyri stabil (%26,09) ve 52'sinde ise hastalık seyri yavaştır (Şekil 77).



Şekil 77: 92 UQT hastasının hastalık seyrinin yüzdelerle dilim pasta grafiği üzerinde gösterilmesi

Kadın ve erkekte cinsiyete göre semptomlar Tablo 11'de detaylı olarak sınıflandırılmıştır. Tabloya göre çalışılan erkeklerde ortalama yaş 9,66±5,602 iken kadınlarda 8,69±5,676'dır. Erkeklerin 51'inde EKG'de uzun QTc değeri ortalama 480,47±59,829 iken kadınların 38'inde, 479,69±54,599'dur (Erkeklerin 2'sinde ve kadınların 1'inde QTc mesafesi dökümente edilmemiştir). Erkeklerin 24'ünde (%45,3) kadınların ise 20'sinde (%51,3) uzun QTc yanısıra diğer bir EKG bulgusu eşlik etmektedir. İlgili yüzdeler sütun yüzdelerini ifade etmektedir. EKG bulgusu olan 44 bireyden 24'ü (%54,5) erkek, 20'si (%45,5) kadındır (Yüzdeler satır yüzdesi ile gösterilmiştir). Erkeklerin 16'sında (%30,2) stresli, 7'sinde (%13,2) stressiz senkop görülürken kadınların 10'unda (%25,6) stresli, 8'inde (%20,5) ise stressiz senkop görülmektedir (Sütun yüzdesi). Stresli senkopu olan 26 bireyin 16'sı (%61,5) erkek, 10'u (%38,5) kadındır (Satır yüzdesi). Erkeklerin 7'si (%13,2) ve kadınların 7'sinde (%17,9) kardiyak arrest bildirilmiştir. Satır yüzdeleriyle gösterildiği şekilde kardiyak arrest öyküsü olan 14 (%15,2) bireyin 7'si (%50,0) erkek, 7'si (%50) kadındır. Erkeklerin 2'sinde (%3,8) kadınların ise 4'ünde (%10,3) sağırlık öyküsü bildirilmiştir. Sağırlık öyküsü olan 6 (%6,5) bireyin 2'si (%33,3) erkek, 4'ü (%66,7) kadındır. Çalışmada 92 hastanın 5'i erkek 5'i kadın toplam 10'unda (%10,9) hastalığa epilepsi ya da nöbetin eşlik ettiği tespit edilmiştir (Erkeklerin %9,4, kadınların %12,8'inde). 4 hastada (%4,3) çarpıntı öyküsü mevcut olup bunların 1'i (%25,0) erkekte, 3'ü (%75,0) kadında görülmektedir. Çalışılan 53 erkeğin 11'inde (%20,8) hastalık seyri hızlı, 15'inde (%28,3) hastalık seyri stabil ve 27'sinde (%50,9) hastalık seyri yavaşken çalışılan 39 kadının 5'inde (%12,8) hastalık seyri hızlı, 9'unda (%23,1) hastalık seyri stabil ve 25'inde (%64,1) hastalık seyri yavaştır.Diğer bir ifadeyle, hastalık seyri hızlı olan 16 (%17,4) bireyin 11'i (%68,8) erkek, 5'i (%31,3) kadındır. Hastalık seyri stabil olan 24 (%26,1) bireyin 15'i (%62,5) erkek, 9'u (%37,5) kadındır. Hastalık seyri yavaş olan 52 (%56,5) bireyin ise 27'si (%51,9) erkek, 25'i (%48,1) kadındır (Tablo 11).

Tablo 11: Cinsiyete göre Semptomlar

		Hasta		
		Erkek	Kadın	**Toplam**
Yaş (ortalama± ss)		9,66±5,602	8,69±5,676	**9,25±5,623**
Hastalık Başlangıç Yaşı (ortalama± ss)		7,279±4,609*	7,487±5,499*	**7,368±4,982***
***EKG'deQTc (ms)** (ortalama± ss)		480,47±59,829 (51)	479,69±54,599 (38)	**480,14±57,335 (89)**
EKG'de Dökümente Olmayan Uzun QTc, n (%)		2 (%0,02)	1 (%0,01)	**3 (%0,03)**
Diğer EKG Bulgusu, n (%) Sütun yüzdesi (%) Satır yüzdesi (%)		24(%26,1) %45,3 %54,5	20(%21,7) %51,3 %45,5	**44(%47,8)**
Senkop-Stresli, n (%) Sütun yüzdesi (%) Satır yüzdesi (%)		16 (%17,4) %30,2 %61,5	10(%10,9) %25,6 %38,5	**26(%28,3)**
Senkop-Stressiz, n (%) Sütun yüzdesi (%) Satır yüzdesi (%)		7(%7,6) %13,2 %46,7	8(%8,7) %20,5 %53,3	**15(%16,3)**
Kardiyak arrest,n (%) Sütun yüzdesi (%) Satır yüzdesi (%)		7(%7,6) %13,2 %50,0	7(%7,6) %17,9 %50,0	**14(%15,2)**
Sağırlık, n (%) Sütun yüzdesi (%) Satır yüzdesi (%)		2(%2,2) %3,8 %33,3	4(%4,3) %10,3 %66,7	**6(%6,5)**
Nöbetve/ya da epilepsi, n (%) Sütun yüzdesi (%) Satır yüzdesi (%)		5(%5,4) %9,4 %50,0	5(%5,4) %12,8 %50,0	**10(%10,9)**
Çarpıntı, n (%) Sütun yüzdesi (%) Satır yüzdesi (%)		1(%1,1) %1,9 %25,0	3(%3,3) %7,7 %75,0	**4(%4,3)**
Hastalıkseyri (%) Sütun yüzdesi (%) Satır yüzdesi (%)	Hızlı	11(%12,0) %20,8 %68,8	5(%5,4) %12,8 %31,3	**16(%17,4)**
	Stabil	15(%16,3) %28,3 %62,5	9(%9,8) %23,1 %37,5	**24(%26,1)**
	Yavaş	27(%29,3) %50,9 %51,9	25(%27,2) %64,1 %48,1	**52(%56,5)**
Toplam		**53(%57,6)**	**39(%42,4)**	**92(%100)**

Tablo 11'de gösterilen klinik bulgular kadın ve erkek arasında fark yoktur hipotezi kurularak istatistiksel olarak test edilmiştir (Tablo 12).

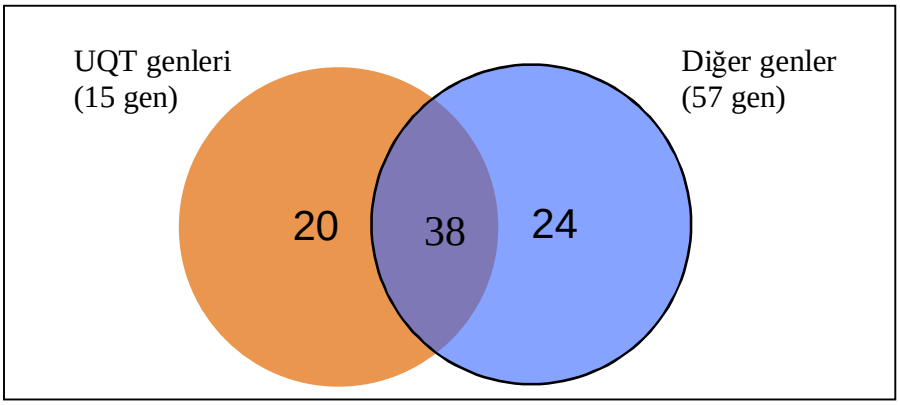
QTc ve yaş değişkenleri kantitatif oldukları için kadın erkek karşılaştırması ortalamalar üzerinden yapılmıştır ve örneklem büyüklükleri 30'dan büyük olduğu için t testi z testine yakınsamıştır. Kategorik değişkenler için ise, gruplar arası fark kontrolü yapılmıştır ki kare testi ile analiz edilmişlerdir.

Hiçbir klinik bulgu için, kadın erkek arasında farklılık tespit edilmemiştir (p>α=0,05) (Tablo 12).

Tablo 12: Klinik değişkenlere göre erkek ve kadın arasında anlamlı farkın araştırılması için yapılan istatistiksel testler ve p value değerleri tablosu

Değişkenler	test	p-value
Yaş	z-test	0,417>α=0,05
Hast. Başl. Yaşı	z-test	0,845>α=0,05
EKG'de QTc	z-test	0,950>α=0,05
Diğer EKG Bulgusu	Ki-kare testi	0,569>α=0,05
Senkop (Stresli)	Ki-kare testi	0,632>α=0,05
Senkop(Stressiz)	Ki-kare testi	0,349>α=0,05
Kardiyak arrest	Ki-kare testi	0,532>α=0,05
Sağırlık	Ki-kare testi(Fischer)	0,395>α=0,05
Nöbet ve/ya da epilepsi	Ki-kare testi	0,393>α=0,05
Çarpıntı	Ki-kare testi	0,308>α=0,05
Hızlı Hastalık seyri	Ki kare testi	0,429>α=0,05

Çalışmada sadece uzun QT genleri (15 gen) açısından bir değerlendirme yapılırsa 92 hastanın 58'inde (%63) UQT genlerinde bir varyanta rastlanmıştır. Varyantı saptanan 82 hasta arasında sadece UQT genlerinden en az birinde varyant taşıyan hasta sayısı 20 (%24,39) 15 UQT geni dışında sadece diğer 57 genden herhangi birinde varyant taşıyan birey sayısı 24 (%29,27) hem UQT hem de diğer 57 genden en az birinde varyantı belirlenen hasta sayısı ise 38'dir (%46,34) (Şekil 78).



Şekil 78: UQT geni varyantı taşıyan ve taşımayan hasta sayıları

Çalışılan UQTS hastalarında toplam 195 varyant belirlenmiş olup bunların 168 tanesi (%86) yanlış anlamlı, 11'i (%6) splice bölge varyantı, 4'ü (%2'si) çerçeve kayması delesyon, 6'sı (%3) çerçeve içi delesyon, 2'si (%1) anlamsız dur kodonu ve 4'ü (%2) UTR varyantıdır (Tablo 10).

Tablo 13'te UQT ile ilişkili olarak literatürde bildirilmiş 15 gene ait varyant özeti, Tablo 14'te ise panelde çalışılan diğer 53 gene ve 1 hastada (H3) uygulanan ekzom sekanslama sonucu tespit edilen 4 yeni gene dair varyant sıklıkları gösterilmiştir. Her 2 tablo beraber değerlendirildiğinde, tez çalışmasında çalışılan 92 hastada belirlenen 195 varyantın 79 tanesi (%40.51) UQTS ile ilişkili OMIM'de bildirilen 12 gende *(KCNQ1, KCNH2, SCN5A, ANK2, KCNE1, KCNE2, KCNJ2, CACNA1C, CAV3, AKAP9, SNTA1 ve CALM2)* tespit edilmiştir. 116 tanesi (%59.49) ise literatürde kardiyolojik ritm bozukluklarıyla ilişkilendirilmiş paneldeki diğer 42 gen + 4 yeni ekzom geninde tespit edilmiştir. Varyantların 26'sı (%13,33) *KCNQ1* geninde saptanmıştır. 1 hastada *KCNQ1* geninde 2 varyant tespit edildiği için *KCNQ1* varyantı tespit edilen hasta sayısı 25'tir (%27,17). 195 varyantın sadece 5'ini (%2,56) UQT2 alttipi ile ilişkilendirilen *KCNH2* geni varyantları oluşturmaktadır. 92 hastanın 5'inde *KCNH2* varyantı (%5,43) 4'ünde ise *SCN5A* geni varyantı (%4,35) saptanmıştır. 195 varyanttan 4'ü *SCN5A* genine aittir (%2,05). UQT genleri arasında literatüre bildirilen *SCN4B, KCNJ5* ve *CALM1* genlerinde ve panelde çalışılan diğer *ANKRD1, GJA5, KCNE5, NOS1AP, PLN, RANGRF, SCN2B, TBX5, TNNC1, TNNT2* ve *TPM1* genlerinde varyant belirlenmemiştir. Çalışılan 92 hastanın 10'unda (%11) incelenen panel genlerinde herhangi bir varyanta rastlanmamıştır (H9, H13, H17, H23, H37, H40, H41, H50, H83, H89) (Tablo 13-14).

195 varyantın 12 tanesi (%6,15) *ANK2* geninde belirlenmiş, 16 tanesi (%8,21) ise *AKAP9* geninde saptanmış olup belirlenen varyant sayıları nispeten yüksektir. Fakat *ANK2* ve *AKAP9* genlerinde belirlenen varyantların 4'er tanesi zararsız/muhtemel zararsız olarak bildirilmiştir (Tablo 10).

Tablo 13: 15 UQT genine ait varyant sıklıkları

Alttip	Gen	Lokus	Protein	Varyant Sayısı	Sıklık (N=79) %	Sıklık (N=195) %	Fonksiyonel etki
UQT1	*KCNQ1*	11p15.5	Kv7.1	26	%32,91	%13,33	Fonksiyon kaybı
UQT2	*KCNH2*	7q35-q36	Kv11.1	5	%6,33	%2,56	Fonksiyon kaybı
UQT3	*SCN5A*	3p21	Nav1.5	4	%5,06	%2,05	Fonksiyon kazanımı
UQT4	*ANK2*	4q25-q26	Ankirin B	12	%15,19	%6,15	Fonksiyon kaybı
UQT5	*KCNE1*	21q22.1	MinK	4	%5,06	%2,05	Fonksiyon kaybı
UQT6	*KCNE2*	21q22.1	MiRP1	1	%1,27	%0,51	Fonksiyon kaybı
UQT7	*KCNJ2*	17q24.3	Kir2.1	2	%2,53	%1,03	Fonksiyon kaybı
UQT8	*CACNA1C*	12p13.33	Cav1.2	4	%5,06	%2,05	Fonksiyon kazanımı
UQT9	*CAV3*	3p25.3	Caveolin 3	2	%2,53	%1,03	Fonksiyon kazanımı
UQT10	*SCN4B*	11q23	Sodyum kanalı β4 alt ünitesi	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kazanımı
UQT11	*AKAP9*	7q21-q22	Yotiao	16	%20,25	%8,21	Düşen IKs akımı
UQT12	*SNTA1*	20q11.2	Sintrofin α 1	1	%1,27	%0,51	Artan Na akımı
UQT13	*KCNJ5*	11q24	IKAc kanalı Kir 3.4 alt ünitesi	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kaybı
UQT14	*CALM1*	14q32.11	Kalmodulin 1	0	%0,00	%0,00	SR'den Ca salınımı
UQT15	*CALM2*	2p21	Kalmodulin 2	2	%2,53	%1,03	SR'den Ca salınımı
			Toplam:	**79**	%100,00	%40,51	

Tablo 14: Panelde kullanılan diğer 53 gen + 4 ekzom sekans genine dair varyant sıklıkları

Gen	Lokus	Protein	Sayı	Sıklık (N=116) %	Sıklık (N=195) %	Fonksiyonel etki
ANKRD1	10q23.31	Ankirin tekrar domaini 1	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kazanımı
BAG3	10q26.11	BAG ailesi moleküler şaperon regülatör 3	4	%3,45	%2,05	Fonksiyon kaybı
CACNA1S	1q32.1	Cav1.1	4	%3,45	%2,05	Fonksiyon kaybı
CACNA2D 1	7q21-q22	L-tipi Ca kanalı δ1 ünitesi	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
CACNB2	10p12	L-tipi Ca kanalı β2 ünitesi	2	%1,72	%1,03	Fonksiyon kaybı
CASQ2	1p13.3-p11	Kalsequestrin 2	2	%1,72	%1,03	Fonksiyon kaybı
CTNNA3	10q21.3	α T Katenin	4	%3,45	%2,05	Fonksiyon kaybı
DES	2q35	Desmin	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
DPP6	7q36.2	Dipeptidil aminopeptidaz-benzeri protein 6	3	%2,59	%1,54	Fonksiyon kaybı
DSC2	18q12.1	Desmocollin-2	4	%3,45	%2,05	Fonksiyon kaybı
DSG2	18q12.1	Desmoglein-2	2	%1,72	%1,03	Fonksiyon kaybı
DSP	6p24.3	Desmoplakin-1	7	%6,03	%3,59	Fonksiyon kaybı
GJA5	1q21.2	Gap junction α-5 protein	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kaybı
GNAI2	3p21.31	Guanin nucleotid-bağlanma protein G (i) α2 alt ünitesi	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kazanımı
GPD1L	3p22.3	Gliserol 3 fosfat dehidrogenaz benzeri	3	%2,59	%1,54	Fonksiyon kaybı
HCN4	15q24.1	Hiperpolarizasyonla aktive siklik nükleotid-kapılı potasyum kanalı 4	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
JUP	17q21.2	Plakoglobin	2	%1,72	%1,03	Fonksiyon kaybı
****KCNA10***	1p13.3	Kv1.8	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
****KCNB1***	20q13.13	KV2.1	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
****KCND2***	7q31.31	Kv4.2	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
KCND3	1p13.2	Kv4.3	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kazanımı
KCNE3	11q13.4	MiRP2	2	%1,72	%1,03	Fonksiyon kazanımı
KCNE5 (KCNE1L)	Xq22.3	Geçici dışa akım β alt ünitesi	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kazanımı
KCNJ8	12p12.1	Kir6.1	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kazanımı
****KCNK17***	6p21.2	K2P17.1	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
LDB3	10q22.2-q23.3	LIM bağlanma domaini 3	5	%4,31	%2,56	Fonksiyon kaybı
LMNA	1q22	Lamin A/C	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
MYBPC3	11p11.2	Kardiyak miyozin-bağlanma protein C	4	%3,45	%2,05	Fonksiyon kazanımı

Tablo 14: Panelde kullanılan diğer 53 gen + 4 ekzom sekans genine dair varyant sıklıkları (Devamı)

MYH6	14q11.2-q12	α-Miyozin ağır zincir	7	%6,03	%3,59	Fonksiyon kaybı
MYH7	14q11.2-q12	β-Miyozin ağır zincir	4	%3,45	%2,05	Fonksiyon kazanımı
MYL3	3p21.2-p21.3	Esansiyel miyozin hafif zincir	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
NKX2.5	5q35.1	Nkx-2.5 Homeobox proteini	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
NOS1AP	1q23.3	Nitrik oksit sentaz 1 adaptör protein	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kazanımı
PKP2	12p11.21	Plakofilin 2	3	%2,59	%1,54	Fonksiyon kaybı
PLN	6q22.1	Fosfolamban	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kaybı, Fonksiyon kazanımı
PRKAG2	7q35-q36.36	AMP-ile aktive protein kinaz	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
RANGRF	17p13.1	MOG1	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kaybı
RBM20	10q25.2	RNA bağlanma proteini 20	3	%2,59	%1,54	Fonksiyon kaybı
RYR1	19q13.2	Ryanodin reseptörü 1	3	%2,59	%1,54	Fonksiyon kazanımı
RYR2	1q42.1-q43	Ryanodin reseptörü 2	9	%7,76	%4,62	Fonksiyon kazanımı, SR'den Ca salınımı
SCN1B	19q13.1	Na kanalı β1 alt ünitesi	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
SCN2B	11q23.3	Na kanalı β2 alt ünitesi	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kaybı
SCN3B	11q24.1	Na kanalı β3 alt ünitesi	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
SCN4A	17q23.3	Nav1.4	5	%4,31	%2,56	Fonksiyon kazanımı
SLMAP	3p14.3	Sarkelomma ile ilişkili protein	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
TBX5	12q24.21	T-kutu transkripsiyon faktörü TBX5	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kaybı
TCAP	17q12-q21.1	Teletonin	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
TGFB3	14q24.3	Transforme edici büyüme faktörü β3	3	%2,59	%1,54	Fonksiyon kaybı
TMEM43	3p25.1	Transmembran protein 3	3	%2,59	%1,54	Fonksiyon kaybı
TMPO	12q23.1	Timopoietin	2	%1,72	%1,03	Fonksiyon kaybı
TNNC1	3p21.1	Kardiyak troponin C	0	%0,00	%0,00	Azalan Ca duyarlılığı
TNNI3	19p13.4	Kardiyak troponin I	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
TNNT2	1q32	Kardiyak troponin T	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kaybı
TPM1	15q22.1	α-Tropomiyozin	0	%0,00	%0,00	Fonksiyon kazanımı
TRDN	6q22.31	Triadin	1	%0,86	%0,51	SR'den Ca salınımı
TRPM4	19q13.33	TRPM4	5	%4,31	%2,56	Fonksiyon kaybı ve fonksiyon kazanımı
VCL	10q22.1-q23	Vinkülin/metavinkülin	1	%0,86	%0,51	Fonksiyon kaybı
		Toplam:	**116**	%100	%59,49	

**KCNA10, KCNB1, KCND2 ve KCNK17* geni varyantları H3 hastasında panel genlerinde herhangi bir varyant belirlenmeyip daha sonradan yapılan ekzom sekanslama sonucu tespit edilen varyantlardır.

Panel kapsamında çalışılan ve herhangi bir varyant saptamadığımız 14 gen *(SCN4B, KCNJ5, CALM1, ANKRD1, GJA5, KCNE5, NOS1AP, PLN, RANGRF, SCN2B, TBX5, TNNC1, TNNT2 ve TPM1)* dışarıda bırakılırsa diğer 54 gene ait tez çalışmasında saptanan varyant sayısı, İlgili gende varyantı belirlenen hastaların yaş ortalaması, cinsiyeti, kaç varyant için semptom (+)'liği ve aile (+)'liği görüldüğü, ortalama QTc mesafesi ve varyantın kalıtım kalıbı (otozomal dominant-OD, otozomal resesif-OR, de-novo, bilinmeyen) Tablo 15'te gösterilmiştir. Kalıtım kalıbında bilinmeyen sütunu, sadece indeks vakanın çalışıldığı ve ebeveynlerdeki taşıyıcılık durumunun bilinmediği varyant sayısını göstermektedir. Tabloda *AKAP9* genine ait veriler incelendiğinde, İlgili gende 16 varyant belirlenmiştir. *AKAP9* varyantı tespit edilen hastaların başlangıç yaş ortalaması *6,0±4,8'dir (H45 hastasının başlangıç yaş bilgisi iletilmediği için H45'e ait varyantlar İlgili sütun için hesaplamaya dahil edilmemiştir, hesaplama 15 varyant üzerinden yapılmıştır). Belirlenen 16 *AKAP9* varyantın 8'i kadında (%2,1) 8'i erkekte görülmektedir (%2,1). 6 *AKAP9* varyantı için semptom (+)'liği görülürken, 5 varyant için aile öyküsü (+)'liği mevcuttur. AKAP9 varyantı taşıyan bireylerin ortalama QTc mesafesi **457,3±20,8'dir (hesaplama toplam 14 *AKAP9* varyantı üzerinden yapılmıştır**). *AKAP9* varyantlarının 15'i otozomal dominant olarak kalıtılmaktadır, 1'inin ise kalıtım kalıbı bilinmemektedir. Tüm veriler birarada değerlendirildiğinde toplam 195 varyant (%100) taşıyan hastaların ortalama başlangıç yaşı 6,857±4,7607'dir (H45 hastası hesaplama dışında bırakılmıştır*). Varyantların 87'si kadınlarda (%44,6) 108'i ise erkeklerde (%55,4) tespit edilmiştir. Toplam 96 varyantın taşındığı bireyler için semptom (+)'liği (toplam 195 varyantın %49,2'si) 67 varyantın taşındığı bireyler için ise aile öyküsü (+)'liği (195 varyantın %34,4'ü) bildirilmiştir. Toplam 186 varyantı taşıyan hasta için ortalama QTc mesafesi 480,320±56,92'dir. (EKG'de ortalama QTc mesafesi bildirilmeyen H45, H68 ve H77 hastalarına ait varyantlar hesaplama dışı bırakılmıştır**). Çalışılan 195 varyantın 160 tanesi otozomal dominant, 5'i otozomal resesif olarak kalıtılmakta olup 7 tanesi için de-novo kalıtım belirlenmiştir, 26 varyant için kalıtım kalıbı bilinmemektedir (Tablo 15).

Tablo 15: Uzun QT hastalarında genotipe göre klinik ve genetik verilerin karşılaştırılması

Genotip	Varyant Sayısı	*Yaş (Ortalama± ss)	Cinsiyet, K/E	Semptom +	Aile öyküsü+	Ortalama QTc (ms)±ss	Kalıtım			
							OD	OR	de-novo	Bilinmeyen
AKAP9	16 (%8.2)	*6,0±4,8 (15)	8(%2,1)/8(%2,1)	6(%3,1)	5(%2,6)	**457,3±20,8 (14)	15	0	0	1
ANK2	12 (%6.2)	7,25±6,91(12)	3(%0,80)/9(%2,3)	7(%3,6)	3(%1,5)	491,2±69,4 (12)	10	1	0	1
BAG3	4 (%2)	11,3±2,4 (4)	2(%0,50)/2(%0,50)	_	1(%0,5)	499,8±49,8 (4)	3	0	0	1
CACNA1C	4 (%2)	4,0±3,3 (4)	2(%0,50)/2(%0,50)	2(%1)	1(%0,5)	523,0±38,9 (4)	0	0	2	2
CACNA1S	4 (%2)	5,5± 2,64 (4)	3(%0,80)/1(%0,30)	4(%2,1)	2(%1)	589,8±108,2 (4)	4	0	0	0
CACNA2D1	1 (%0.6)	11,0(1)	1(%0,30)/_	_	_	470,0(1)	1	0	0	0
CACNB2	2 (%1)	12,0±1,4 (2)	2(%0,50)/_	_	_	455,0±21,2 (2)	2	0	0	0
CALM2	2 (%1)	5,0±4,2(2)	1(%0,30)/1(%0,30)	1(%0,5)	_	465,0±7,1 (2)	0	0	1	1
CASQ2	2 (%1)	9,3±5,3(2)	2(%0,50)/_	_	1(%0,5)	467,5±38,9 (2)	2	0	0	0
CAV3	2 (%1)	9,5±2,1 (2)	1(%0,30)/1(%0,30)	1(%0,5)	1(%0,5)	450,0±14,1 (2)	2	0	0	0
CTNNA3	4 (%2)	1,0±1,2(3)	4(%1,00)/_	2(%1)	_	438,4±34,1 (4)	3	0	0	1
DES	1 (%0.6)	6,0 (1)	1(%0,30)/_	1(%0,5)	_	** (0)	0	0	0	1
DPP6	3 (%1.6)	7,3± 5,1 (3)	1(%0,30)/2(%0,50)	1(%0,5)	2(%1)	**460,0±28,3 (2)	3	0	0	0
DSC2	4 (%2)	5,1± 4,4 (4)	2(%0,50)/2(%0,50)	2(%1)	1(%0,5)	432,0±36,6 (4)	4	0	0	0
DSG2	2 (%1)	7,0±0,0 (2)	_/2(%0,50)	1(%0,5)	_	472,5±10,6 (2)	1	0	0	1
DSP	7 (%3.6)	4,9±5,1 (7)	5(%1,3)/2(%0,50)	4(%2,1)	1(%0,5)	475,7±35,5 (7)	7	0	0	0
GNAI2	1 (%0.6)	0,0 (1) (1)	1(%0,30)/_	_	1(%0,5)	480,0 (1)	1	0	0	0
GPD1L	3 (%1.6)	3,3±3,5 (3)	_/3(%0,80)	2(%1)	2(%1)	470,8±8,0 (3)	3	0	0	0
HCN4	1 (%0.6)	12,0 (1)	1(%0,30)/_	1(%0,5)	1(%0,5)	600,0 (1)	1	0	0	0
JUP	2 (%1)	10,5±6,4 (2)	2(%0,50)/_	2(%1)	1(%0,5)	473,0±38,2 (2)	2	0	0	0
KCNA10	1 (%0.6)	9,0 (1)	_/1(%0,30)	1(%0,5)	1(%0,5)	490,0 (1)	1	0	0	0
KCNB1	1 (%0.6)	9,0 (1)	_/1(%0,30)	1(%0,5)	1(%0,5)	490,0 (1)	1	0	0	0

Tablo 15: Uzun QT hastalarında genotipe göre klinik ve genetik verilerin karşılaştırılması (Devamı)

KCND2	1 (%0.6)	9,0 (1)	_/1(%0,30)	1(%0,5)	1(%0,5)	490,0 (1)	1	0	0	0
KCND3	1 (%0.6)	* (0)	_/1(%0,30)	1(%0,5)	_	** (0)	1	0	0	0
KCNE1	4 (%2)	*10,3±3,1 (3)	1(%0,30)/3(%0,80)	2(%1)	_	**494,0±42,8 (3)	4	0	0	0
KCNE2	1 (%0.6)	11,0 (1)	1(%0,30)/_	1(%0,5)	_	460,0 (1)	1	0	0	0
KCNE3	2 (%1)	5,0±4,2 (2)	1(%0,30)/1(%0,30)	_	1(%0,5)	439,5±13,4 (2)	2	0	0	0
KCNH2	5 (%2.6)	11,6±4,8 (5)	3(%0,80)/2(%0,50)	2(%1)	2(%1)	505,6±39,1 (5)	4	0	0	1
KCNJ2	2 (%1)	0,8±1,1 (2)	_/2(%0,50)	_	1(%0,5)	408,5±36,1 (2)	2	0	0	0
KCNJ8	1 (%0.6)	0,0 (1)	_/1(%0,30)	1(%0,5)	_	500,0 (1)	1	0	0	0
KCNK17	1 (%0.6)	9,0 (1)	_/1(%0,30)	1(%0,5)	1(%0,5)	490,0 (1)	1	0	0	0
KCNQ1	26 (%13.4)	7,0±4,9 (26)	11(%2,80)/15(%3,80)	15(%7,70)	11(%5,6)	493,3±68,6 (26)	19	2	2	3
LDB3	5 (%2.6)	5,8±4,6 (5)	3(%0,80)/2(%0,50)	3(%1,50)	1(%0,5)	456,0±30,5 (5)	3	1	0	1
LMNA	1 (%0.6)	7,0 (1)	_/1(%0,30)	_	1(%0,5)	477,5 (1)	1	0	0	0
MYBPC3	4 (%2)	3,8±2,9 (4)	1(%0,30)/3(%0,80)	2(%1)	3(%1,5)	**470,0±10,0 (3)	4	0	0	0
MYH6	7 (%3.6)	4,9±2,9 (7)	1(%0,30)/6(%1,50)	4(2,1%)	1(%0,5)	488,6±46,6 (7)	6	1	0	0
MYH7	4 (%2)	10,9±6,5 (4)	2(%0,50)/2(%0,50)	_	1(%0,5)	475,0±21,2 (4)	4	0	0	0
MYL3	1 (%0.6)	4,0 (1)	1(%0,30)/_	_	1(%0,5)	446,0 (1)	1	0	0	0
NKX2-5	1 (%0.6)	3,5 (1)	_/1(%0,30)	1(0,5%)	_	720,0 (1)	1	0	0	0
PKP2	3 (%1.6)	3,3±3,2 (3)	1(%0,30)/2(%0,50)	2(%1)	_	462,7±2,5 (3)	2	0	0	1
PRKAG2	1 (%0.6)	6,0 (1)	1(%0,30)/_	1(%0,5)	_	** (0)	0	0	0	1
RBM20	3 (%1.6)	6,5±3,12 (3)	2(%0,50)/1(%0,30)	2(%1)	3(%1,5)	481,7±12,6 (3)	3	0	0	0
RYR1	3 (%1.6)	8,0±5,3 (3)	1(%0,30)/2(%0,50)	2(%1)	_	446,7±23,1 (3)	3	0	0	0
RYR2	9 (%4.6)	6.1±3,3 (9)	2(%0,50)/7(%1,80)	5(%2,60)	3(%1,5)	498,9±91,0 (9)	6	0	1	2
SCN1B	1 (%0.6)	10,0 (1)	1(%0,30)/_	1(%0,5)	_	480,0 (1)	1	0	0	0
SCN3B	1 (%0.6)	6,0 (1)	_/1(%0,30)	_	1(%0,5)	** (0)	1	0	0	0
SCN4A	5 (%2.6)	8,4±5,7 (5)	3(%0,80)/2(%0,50)	1(%0,5)	1(%0,5)	481,6±37,4 (5)	5	0	0	0

Tablo 15: Uzun QT hastalarında genotipe göre klinik ve genetik verilerin karşılaştırılması (Devamı)

SCN5A	4 (%2)	10,0±7,3 (4)	2(%0,50)/2(%0,50)	2(%1)	2(%1)	481,3±27,8 (4)	3	0	1	0
SLMAP	1 (%0.6)	10,0 (1)	1(%0,30)/_	_	_	370,0 (1)	0	0	0	1
SNTA1	1 (%0.6)	10,0 (1)	1(%0,30)/_	_	_	370,0 (1)	0	0	0	1
TCAP	1 (%0.6)	4,0 (1)	_/1(%0,30)	1(%0,5)	_	520,0 (1)	1	0	0	0
TGFB3	3 (%1.6)	7,7±0,6 (3)	1(%0,30)/2(%0,50)	_	1(%0,5)	465,5±14,8 (3)	1	0	0	2
TMEM43	3 (%1.6)	11,3±3,8 (3)	_/3(%0,80)	1(%0,5)	2(%1)	496,5±39,6 (3)	3	0	0	0
TMPO	2 (%1)	5,5±7,8 (2)	_/2(%0,50)	1(%0,5)	2(%1)	437,5±17,7 (2)	2	0	0	0
TNNI3	1 (%0.6)	7,0 (1)	_/1(%0,30)	1(%0,5)	_	440,0 (1)	0	0	0	1
TRDN	1 (%0.6)	13,0 (1)	1(%0,30)/_	_	_	440,0 (1)	1	0	0	0
TRPM4	5 (%2.6)	5,3±5,9 (5)	2(%0,50)/3(%0,80)	3(%1,50)	2(%1)	476,2±67,7 (5)	5	0	0	0
VCL	1 (%0.6)	1,5 (1)	1(%0,30)/_	_	_	470,0 (1)	1	0	0	0
Toplam	**195 (%100)**	***6,857±4,7607 (192)**	**87(%44,6)/108(%55,4)**	**96(%49,2)**	**67(%34,4)**	****480,320±56,92 (186)**	**160 (%82,0)**	**5 (%2,5)**	**7 (3,5)**	**23 (%11,8)**

*Hastalık Başlangıç Yaşı değeri 91 hastaya ait 192 varyant üzerinden hesaplanmıştır. Çünkü 45 nolu hastanın (H45) başlangıç yaşı değeri bilinmemektedir. Bu nedenle hastalık başlangıç yaşı için H45'te belirlenen 3 varyant (*AKAP9, KCND3* ve *KCNE1*) hesaplama dışında bırakılmıştır. İlgili sütunda hastalık başlangıç yaşı için hesaplamaya dahil edilen varyant sayısı her gen için parantez içerisinde gösterilmiştir.

**QTc değeri 89 hastaya ait toplam 186 varyant üzerinden hesaplanmıştır. Çünkü tez çalışmasında QTc verisi iletilmeyen 3 hasta bulunmaktadır (H45, H68, H77). İlgili hastaların her birinde 3'er varyant belirlendiği için H45'e ait *AKAP9, KCND3* ve *KCNE1*, H68'e ait *SCN3B, DPP6* ve *MYBPC3*, H77 hastasına ait *AKAP9, DES* ve *PRKAG2* varyantları (Toplam 9 varyant) ortalama QTc mesafesi için hesaplama dışında bırakılmıştır. İlgili sütunda ortalama QTc mesafesi değeri için hesaplamaya dahil edilen varyant sayısı her gen için parantez içerisinde gösterilmiştir.

Tablo 16'da, ≥ 3 varyasyonu gözlenen genlerde *(KCNQ1, KCNH2, SCN5A, ANK2, KCNE1, CACNA1C, AKAP9, BAG3, CACNA1S, CTNNA3, DPP6, DSC2, DSP, GPD1L, LDB3, MYBPC3, MYH6, MYH7, PKP2, RBM20, RYR1, RYR2, SCN4A, TMEM43, TGFB3 ve TRPM4)* saptanan varyantlar, patojenik sınıflarına göre yaş, cinsiyet, semptom öyküsü, aile öyküsü ve EKG'de belirlenen QTc mesafesi yönünden karşılaştırılmıştır. Hastalarda görülme sıklığı 3'ün altında olan varyantlara ait genlerde *(CACNA2D1, CACNB2, CALM2, CASQ2, CAV3, DES, DSG2, GNAI2, HCN4, JUP, KCNA10, KCNB1, KCND2, KCND3, KCNE3, KCNJ2, KCNJ8, KCNK17, LMNA, MYL3, NKX2-5, PRKAG2, SCN1B, SCN3B, SLMAP, SNTA1, TMPO, TNNI3, TRDN ve VCL)* veri azlığı nedeni ile istatistiksel açıdan anlamlılık görülmeyeceği düşünülüp patojenik alt sınıflar araştırılmamıştır. Tabloda genlerdeki varyantlar 5 farklı kategoriye ayrılmıştır (Patojenik/Muhtemel patojenik, tartışmalı patojenite, Önemi belirsiz/Tanımlanmamış/Test edilmemiş, Zararsız/Muhtemel zararsız ve Bildirilmemiş yeni varyant). Her bir patojenik sınıfta yer alan varyant sayısı, İlgili patojenik sınıftaki varyant içeren hastaların hastalık başlangıç yaşı, cinsiyetleri, varyantların kaçı için semptom ve aile öyküsü (+)'liği görüldüğü ve İlgili patojenik sınıftaki varyantları taşıyan hastaların EKG'deki ortalama QTc mesafeleri tabloda belirtilmiştir. *KCNQ1* varyantını inceleyecek olursak, *KCNQ1* geninde rastlanan 26 varyantın 14'ü patojenik/muhtemel patojenik, 4'ü tartışmalı patojenite, 4'ü önemi belirsiz/tanımlanmamış/test edilmemiş ve 4'ü bildirilmemiş yeni varyanttır. Patojenik/muhtemel patojenik varyant taşıyan 14 hastanın ortalama başlangıç yaşı 8,92±4,79'dur. İlgili varyantların 9'u kadın, 5'i erkekte görülmektedir, semptom öyküsü ve aile öyküsü (+)'liği olan 8'er varyant mevcuttur ve QTc mesafeleri ortalama 491,35±71,06'dır. *KCNQ1* geninde tartışmalı patojeniteye sahip 4 varyantı taşıyan hastaların hastalık başlangıç yaşı 3,00±3,82 olup varyantların tamamı erkek bireylerde görülmüştür. Tartışmalı patojeniteye sahip varyantların 2'sinin görüldüğü hastalarda septom (+)'tir. İlgili 4 varyantı taşıyan bireylerde ortalama QTc mesafesi 467,25±28,69'dur. Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/Test Edilmemiş 4 varyanta sahip hastaların hastalık başlangıç yaşı ortalama 2,12±3,32'dir. Bunlardan 1'i kadında,

1’ierkekte yer almaktadır. Bu kategorideki varyantların 3’ünün görüldüğü hastalarda semptom (+)’liği mevcutken, 2 varyantı taşıyan bireylerde aile öyküsü (+)’liği bulunmaktadır. İlgili patojenik alt sınıftaki 4 varyantı taşıyan hastaların ortalama QTc mesafesi 472,00±27,66’dır. *KCNQ1* geninde zararsız/muhtemel zararsız sınıfta varyant tespit edilmemiştir. *KCNQ1* geninde tespit edilen 26 varyantın 4’ü bildirilmemiş/yeni varyanttır ve bu varyantları taşıyan hastaların başlangıç yaşları ortalaması 9,00±1,41’dir. Varyantlardan 1’i kadın, 3’ü ise erkek cinsiyette yer almaktadır. Bildirilmemiş yeni 4 varyantın 2’sini taşıyan hastalarda semptom (+)’liği öyküsü mevcutken, 1’ini taşıyan hastada aile öyküsü (+)’liği görülmüştür. Bildirilmemiş yeni varyant taşıyan hastaların ortalama QTc mesafesi ise 493,30±68,57’dir. Patojenik alt sınıflar birleştirildiğinde saptanan 26 *KCNQ1* varyantını taşıyan hastaların hastalık başlangıç yaşı ortalaması 6,98±4,93 olup bu varyantlardan 11’i kadında, 15’i erkekte görülmektedir. *KCNQ1* varyantlarının 15’ini taşıyan hastalarda semptom (+)’liği mevcutken, 11’ini taşıyan hastalarda aile öyküsü (+)’liği bulunmaktadır. *KCNQ1* geninde tespit edilen 26 varyantı taşıyan bireylerin ortalama QTc mesafeleri ise 493,30±68,57’dir (Tablo 16).

Tablo 16: ≥ 3 varyasyonu gözlenen genler için patojenik alt sınıflara göre klinik bulgular

Gen	Varyant Sınıflandırılması	Varyant sayısı, n	Hast. Baş.Yaşı, (Ort± s)	Cinsiyet, K/E	Semptom (+)	Aile öyküsü (+)	QTc(ms) (Ort± s)
≠*KCNQ1*	Patojenik/Muhtemel patojenik	14	8,92±4,79	9(%37)/5(%21)	8(%33,3)	8(%33,3)	491,35±71,06
	Tartışmalı patojenite	4	3,00±3,82	_/4(%16)	2(%8,3)	_	467,25±28,69
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	4	2,12±3,32	1(%4)/3(%12)	3(%12,5)	2(%8)	472,00±27,66
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	4	9,00±1,41	1(%4)/3(%12)	2(%8,3)	1(%4)	547,5±101,36
Toplam:		26	6,98±4,93	11(%42)/15(%58)	15(%62,5)	11(%45,8)	493,30±68,57
KCNH2	Patojenik/Muhtemel patojenik	1	10,00	_/1(%20)	1(%20)	1(%20)	500,00
	Tartışmalı patojenite	2	14,50±2,12	1(%20)/1(%20)	_	_	541,00±1,41
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	1	4,00	1(%20)/_	_	1(%20)	446,00
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	1	15,00	1(%20)/_	1(%20)	_	500,00
Toplam:		5	11,60±4,82	3(%60)/2(%40)	2(%40)	2(%40)	505,60±39,12
SCN5A	Patojenik/Muhtemel patojenik	2	13,50±4,94	_/2(%50)	1(%25)	1(%25)	487,50±45,96
	Tartışmalı patojenite	1	0,00	1(%25)/_	_	_	470,00
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	–	–	–	–	–	–
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	1	13,00	1(%25)/_	1(%25)	1(%25)	480,00
Toplam:		4	10,00±7,25	2(%50)/2(%50)	2(%40)	2(%40)	481,25±27,80
ANK2	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	2	3,50±4,94	1(%8,3)/1(%8,3)	2(%16,7)	_	512,50±67,17
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	2	6,50±9,19	1(%8,3)/1(%8,3)	1(%8,3)	_	498,50±61,51
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	8	8,37±7,34	1(%8,3)/7(%58,3)	4(%33,3)	3(%25)	484,00±78,57
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	–	–	–	–	–	–
Toplam		12	7,25±6,91	3(%25)/9(%75)	7(%58,3)	3(%25)	491,16±69,37

Tablo 16: ≥ 3 varyasyonu gözlenen genler için patojenik alt sınıflara göre klinik bulgular (Devamı)

KCNE1	Patojenik/Muhtemel patojenik	1	7,00	_/1(%25)	_	_	480,00
	Tartışmalı patojenite	2	12,00±1,41	1(%25)/1(%25)	1(%25)	_	501,00±57,98
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	1	*Dökümentde değil (H45)	_/1(%25)	1(%25)	_	**Dökümentde değil (H45)
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	–	–	–	–	–	–
Toplam		4	10,33±3,05	1(%25)/3(%75)	2(%50)	_	494±42,75
CACNA1C	Patojenik/Muhtemel patojenik	1	0,00	1(%25)/_	1(%25)	_	560,00
	Tartışmalı patojenite	1	8,00	_/1(%25)	_	_	470,00
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	1	4,00	_/1(%25)	_	_	520,00
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	1	4,00	1(%25)/_	1(%25)	1(%25)	542,00
Toplam		4	4,00±3,26	2(%50)/2(%50)	2(%50)	1(%25)	523,00±38,93
AKAP9	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	4	*3,33±3,05	2(%12,5)/2(%12,5)	2(%12,5)	2(%12,5)	**446,66±13,01
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	6	8,66±5,50	2(%12,5)/4(%25)	2(%12,5)	_	**449,40±29,12
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	4	5,37±4,19	3(%18,8)/1(%6,3)	1(%6,3)	2(%12,5)	471,25±10,30
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	2	3,00±4,24	1(%6,3)/1(%6,3)	1(%6,3)	1(%6,3)	465,00±7,07
Toplam		16	5,96±4,81	8(%50)/8(%50)	6(%37,5)	5(%31,2)	457,28±20,84
≠*BAG3*	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	_	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	2	12,00±21,41	1(%25)/1(%25)	_	_	506,00±50,91
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	1	13,00	_/1(%25)	_	_	542,00
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	1	8,00	1(%25)/_	_	1(%25)	445,00
Toplam		4	11,25±2,36	2(%50)/2(%50)	_	1(%25)	499,75±49,84

Tablo 16: ≥ 3 varyasyonu gözlenen genler için patojenik alt sınıflara göre klinik bulgular (Devamı)

CACNA1S	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	1	6,00	1(%25)/_	1(%25)	_	460,00
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	1	9,00	1(%25)/_	1(%25)	_	690,00
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	2	3,50±0,70	1(%25)/1(%25)	2(%50)	2(%50)	604,50±88,38
Toplam		4	5,50±2,64	3(%75)/1(%25)	4(%100)	2(%50)	589,75±108,21
≠CTNNA3	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	_	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	3	0,66±1,15	3(%100)/_	2(%66,7)	_	447,83±34,80
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	1	2,00	1(%33,3)/_	_		410,00
Toplam		4	1,00±1,15	4(%100)/_	2(%66,7)	_	438,37±34,14
DPP6	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	_	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	3	7,33±5,13	1(%33,3)/2(%66,7)	1(%33,3)	2(%66,7)	**438,37±34,14
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	–	–	–	–	–	–
Toplam		3	7,33±5,13	1(%33,3)/2(%66,7)	1(%33,3)	2(%66,7)	438,37±34,14
DSC2	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	3	6,33±4,50	2(%50)/1(%25)	2(%50)	1(%25)	448,33±20,20
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	–	–	–	–	–	–
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	1	1,50	_/1(%25)	_	_	383,00
Toplam		4	5,12±4,40	2(%50)/2(%50)	2(%50)	1(%25)	432,00±36,59

Tablo 16: ≥ 3 varyasyonu gözlenen genler için patojenik alt sınıflara göre klinik bulgular (Devamı)

DSP	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	5	5,60±5,68	3(%42,9)/2(%28,6)	3(%42,9)	1(%14,3)	484,00±38,47
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	2	43,00±4,24	2(%28,6)/_	1(%14,3)	_	455,00±21,21
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	–	–	–	–	–	–
Toplam		7	4,85±5,11	5(%71)/2(%29)	4(%57,1)	1(%14,2)	475,71±35,52
GPD1L	Patojenik/Muhtemel patojenik	2	3,50±4,94	_/2(%66,7)	1(%33,3)	1(%33,3)	466,25±1,76
	Tartışmalı patojenite	–	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	–	–	–	–	–	–
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	1	3,00	_/1(%33,3)	1(%33,3)	1(%33,3)	480,00
Toplam		3	3,33±3,51	_/3(%100)	2(%66,7)	2(%66,7)	470,83±8,03
LDB3	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	–	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	1	10,00	1(%20)/_	1(%20)	_	480,00
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	2	3,50±4,94	1(%20)/1(%20)	1(%20)	_	455,00±21,21
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	2	6,00±5,65	1(%20)/1(%20)	1(%20)	1(%20)	445,00±49,49
Toplam		5	5,80±4,60	3(%60)/2(%40)	3(%60)	1(%20)	456,00±30,49
MYBPC 3	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	2	4,50±2,12	_/2(%50)	1(%25)	2(%50)	**480,00
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	2	3,00±4,24	1(%25)/1(%25)	1(%25)	1(%25)	465,00±7,07
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	–	–	–	–	–	–
Toplam		4	3,75±2,87	1(%25)/3(%75)	2(%50)	3(%75)	470,00±10,00

Tablo 16: ≥ 3 varyasyonu gözlenen genler için patojenik alt sınıflara göre klinik bulgular (Devamı)

MYH6	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	3	5,33±2,88	1(%14,3)/2(%28,6)	1(%14,3)	1(%14,3)	453,33±38,83
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	2	2,00±2,82	_/2(%28,6)	2(%28,6)	_	510,00±14,14
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	1	7,00	_/1(%14,3)	1(%14,3)	_	560,00
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	1	7,00	_/1(%14,3)	_	_	480,00
Toplam		7	4,85±2,91	1(%14)/6(%86)	4(%57,1)	1(%14,3)	488,57±46,61
MYH7	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	_	_	_	_	_	_
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	1	5,50	1(%25)/_	_	1(%25)	495,00
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	1	20,00	1(%25)/_	_	_	480,00
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	2	9,00±2,82	_/2(%50)	_	_	462,50±24,74
Toplam		4	10,87±6,51	2(%50)/2(%50)	_	1(%25)	475,00±21,21
PKP2	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	1	1,00	_/1(%33,3)	_	_	463,00
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	1	7,00	_/1(%33,3)	1(%33,3)	_	465,00
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	1	2,00	1(%33,3)/_	1(%33,3)	_	460,00
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	–	–	–	–	–	–
Toplam		3	3,33±3,21	1(%33,3)/2(%66,7)	2(%66,7)	_	462,66±2,51
RBM20	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	_	_	_	_	_	_
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	–	–	–	–	–	–
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	3	6,50±3,12	2(%66,7)/1(%33,3)	2(%66,7)	3(%100)	481,66±12,58
Toplam		3	6,50±3,12	2(%66,7)/1(%33,3)	2(%66,7)	3(%100)	481,66±12,58

Tablo 16: ≥ 3 varyasyonu gözlenen genler için patojenik alt sınıflara göre klinik bulgular (Devamı)

RYR1	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	–	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	1	6,00	1(%33,3)/_	1(%33,3)	_	460,00
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	2	9,00±7,07	_/2(%66,7)	1(%33,3)	_	440,00±28,28
Toplam		3	8,00±5,29	1(%33,3)/ 2(%66,7)	2(%33,3)	_	446,66±23,09
RYR2	Patojenik/Muhtemel patojenik	1	9,00	_/1(%11,1)	1(%11,1)	_	540,00
	Tartışmalı patojenite	–	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	3	4,83±5,61	1(%11,1)/2(%22,2)	1(%11,1)	_	545,00±152,06
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	1	8,00	1(%11,1)/_	_	1(%11,1)	445,00
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	4	5,75±1,50	_/4(%44,4)	3(%33,3)	2(%22,2)	467,50±40,92
Toplam		9	6,05±3,30	2(%22,2)/7(%77,7)	5(%55,5)	3(%33,3)	498,88±90,95
SCN4A	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	–	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	1	0,00	1(%20)/_	_	_	470,00
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	3	9,33±3,51	2(%40)/1(%20)	1(%20)	1(%20)	492,66±48,05
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	1	14,00	_/1(%20)	_	_	460,00
Toplam		5	8,40±5,68	3(%60)/2(%40)	1(%20)	1(%20)	481,60±37,37
TMEM43	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	–	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	2	10,00±4,24	_/2(%66,7)	_	1(%33,3)	509,75±45,60
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	1	14,00	_/1(%33,3)	1(%33,3)	1(%33,3)	470,00
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	–	–	–	–	–	–
Toplam		3	11,33±3,78	_/3(%100)	1(%33,3)	2(%66,7)	496,50±39,58

Tablo 16: ≥ 3 varyasyonu gözlenen genler için patojenik alt sınıflara göre klinik bulgular (Devamı)

TGFB3	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	–	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	–	–	–	–	–	–
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	1	8	_/1(%33,3)	_	_	470,00
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	2	7,50±0,70	1(%33,3)/1(%33,3)	_	1(%33,3)	463,25±20,15
Toplam		3	7,66±0,57	1(%33,3)/2(%66,7)	_	1(%33,3)	465,50±14,77
TRPM4	Patojenik/Muhtemel patojenik	–	–	–	–	–	–
	Tartışmalı patojenite	–	–	–	–	–	–
	Önemi belirsiz/ Tanımlanmamış/ Test Edilmemiş	3	3,33±3,17	2(%40)/1(%20)	1(%20)	_	442,33±51,42
	Zararsız/Muhtemel Zararsız	–	–	–	–	–	–
	Bildirilmemiş (Yeni varyant)	2	8,25±9,54	_/2(%40)	2(%40)	2(%40)	527,00±66,46
Toplam		5	5,30±5,92	2(%40)/3(%60)	3(%60)	2(%40)	476,20±67,65

*45 nolu hastanın (H45) başlangıç yaşı değeri dökümente değildir. Bu nedenle tabloda H45'e ait tartışmalı patojenite alt sınıfındaki *AKAP9* varyantı ve önemi belirsiz/ tanımlanmamış/test edilmemiş alt sınıfındaki *KCNE1* varyantı için hastanın hastalık başlangıç yaşı değeri hesaplama dışı bırakılmıştır.

** Tez çalışmasında H45, H68 ve H77 hastalarının EKG'deki QTc mesafesi değerleri dökümente değildir. Bu nedenle, İlgili hastalar için *AKAP9*, *DPP6* ve *MYBPC3* genlerindeki alt patojenik sınıflardaki QTc mesafe değerleri hesaplama dışı bırakılmıştır. Yani, KCNE1 geni için önemi belirsiz/ tanımlanmamış/test edilmemiş ve *AKAP9* genindeki tartışmalı patojenite alt sınıfında bulunanQTc mesafesi değerleri hesaplanırken H45'e ait veri dökümente olmadığı için hesap dışı bırakılmıştır. H77 hastasına ait *AKAP9* geninde önemi belirsiz/ tanımlanmamış/test edilmemiş alt sınıfında bulunan QTc mesafesi değeri dökümente değildir ve hesaplama dışı bırakılmıştır. Ayrıca, H68 hastasına ait *DPP6* genindeki önemi belirsiz/ tanımlanmamış/test edilmemiş alt sınıfına ait ve *MYBPC3* geni tartışmalı patojenite alt sınıfına ait QTc mesafesi değeri dökümente olmadığı için hesaplama dışı bırakılmıştır.

≠*KCNQ1* geninde 2 patojenik varyant aynı hastada (H74) tespit edilmiştir. *CTNNA3* geninde ise yeni bildirilmemiş bir varyant ile tanımlanmamış bir varyant aynı hastada (H66) tespit edilmiştir. *BAG3* geninde de zararsız/muhtemel zararsız bir varyant ile ömeni belirsiz bir varyant aynı hastada (H72) saptanmıştır.

Tablo 17'de tez çalışmasında çalışılan 92 UQT hastasında tespit edilen varyant sayılarına göre klinik karşılaştırma yapılmıştır. Varyasyonsuz, tek varyasyonlu ve > 1 varyasyonlu hastalarda sırasıyla hastalık başlangıç yaşı, cinsiyet, semptom (+)'liği, aile öyküsü (+)'liği ve ortalama QTc mesafesi uzunluğu ve ek EKG bulgusu eşliği karşılaştırılmıştır (Tablo 17).

Tablo 17: Uzun QT hastalarında varyant sayısına göre klinik karşılaştırma

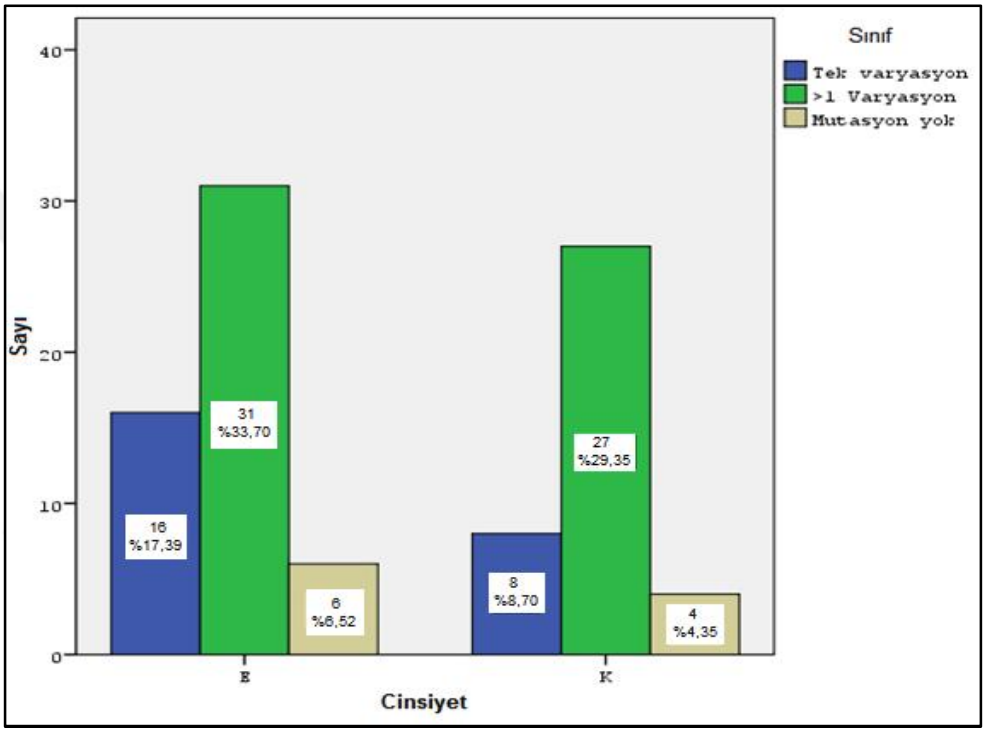
Varyant Sayısı	Hasta sayısın (%)	*Yaş Ort.± ss (n)	Cinsiyet, K/E n (%)	Semptom, n (%)	Aile öyküsü(+) n (%)	Ortalama QTc ms (n)	Ek EKG Bulgusu eşliği, n (%)
Mutasyonsuz	10(%10,9)	10,3±4,11 (10)	4(%4,3)/6(%6,5)	7(%7,6)	7(%7,6)	458,5±41,15 (10)	4(%4,3)
Tek varyasyon	24(%26,1)	7,33±5,67 (24)	8(%8,7)/16(%17,4)	15(%16,3)	11(%12)	486,62±50,43 (24)	13(%14,1)
> 1 varyasyon	58(%63)	*6,72±4,73 (57)	27(%29,3)/31(%33,7)	30(%32,6)	22(%23,9)	**481,24±62,32(55)	27(%29,3)
Toplam	**92(%100)**	***7,368±4,982 (91)**	**39 (%42,4)/53 (%57,6)**	**52(%56,5)**	**40(%43,5)**	****480,14±57,335 (89)**	**44(%47,8)**

*H45'e ait hastalık başlangıç yaşı bilgisi dökümente olmadığı için > 1 varyasyonlu bireylerde hastalık başlangıç yaşı 57 birey üzerinden hesaplanmış olup hesaplamaya dahil edilen toplam hasta sayısı 91'dir. İlgili sütunlar için çalışılan hasta sayısı parantez içinde gösterilmiştir.
**H45,H68,H77'ye ait EKG'de ortalama QTc mesafesi bilgisi dökümente olmadığından > 1 varyasyonlu bireylerde ortalama QTc mesafesi, 55 birey üzerinden hesaplanmıştır. Hesaplamaya dahil edilen toplam hasta sayısı 89'dur. İlgili sütunlar için çalışılan hasta sayısı parantez içinde gösterilmiştir.

Tablo 17'de hastalık başlangıç yaşı bakımından varyasyonsuz grup ile ≥1 varyasyonu olan grup arasında fark olup olmadığı, iki örneklem t testi ile karşılaştırılmıştır. T testi sonucuna göre p değeri=0,043<0,05 olarak tespit edilmiştir. Yani, yapılan karşılaştırmada varyasyonsuz ve varyasyonlu grup arasındaki fark %95 güven düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<\alpha=0,05$). Bu sonuca göre, varyasyonsuz bireylerin hastalık başlangıç yaşı ortalaması (10,3±4,11) varyasyon taşıyan bireylerin hastalık başlangıç yaşı ortalamasına (6,907±5,00) göre daha yüksektir.

Tablo 17'de ayrıca ortalama QTc mesafesi bakımından varyasyonsuz grup ile ≥ 1 varyasyonu olan grup arasında fark olup olmadığı, iki örneklem t testi ile karşılaştırılmıştır. T testi sonucuna göre p değeri=0,207>0,05 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuca göre, varyasyonsuz bireylerin ortalama QTc mesafesi (458,5±41,15) ile varyasyon taşıyan bireylerin ortalama QTc mesafesi (482,8±58,70) arasında istatistiksel açıdan %95 güven düzeyinde fark gözlenmemiştir ($p>\alpha=0,05$).

Şekil 79'da varyasyonsuz, tek varyasyonlu ve >1 varyasyonlu bireylerin cinsiyete göre karşılaştırılması yer almaktadır. Çalışılan 92 bireyden 24'ünde (%26,09) tek varyant taşınmakta olup 16'sı erkek, 8'i kadındır. 27 kadın ve 31 erkek toplam 58 bireyde (%63,05) 1'in üzerinde varyant taşıcılığı gözlenmiştir. Çalışılan 92 UQT hastasının 4'ü kadın 6'sı erkek toplam 10 bireyde (%10,87) ise varyant tespit edilmemiştir.



Şekil 79: Erkek ve kadınlarda varyasyon sayısı karşılaştırma

Şekil 79'da erkek ve kadın arasında mutasyonsuz, tek varyasyon ve çoklu varyasyon sayıları açısından fark olmadığı Ki-Kare testiyle belirlenmiştir (p=0,538>0,05).

Tablo 18'de, Tablo 10 kullanılarak varyantı tespit edilen 12 UQTS genlerinden (*KCNQ1, KCNH2, SCN5A, ANK2, KCNE1, KCNE2, KCNJ2, CACNA1C, CAV3, AKAP9, SNTA1* ve *CALM2*) her birinin tek başına bulunduğu ve başka bir varyantla bir arada bulunduğu hasta sayıları özetlenmiştir. Çalışılan 92 hastadan 6'sında sadece *KCNQ1* geni varyantı tespit edilmişken 18 hastada *KCNQ1* geninin diğer varyantlarla

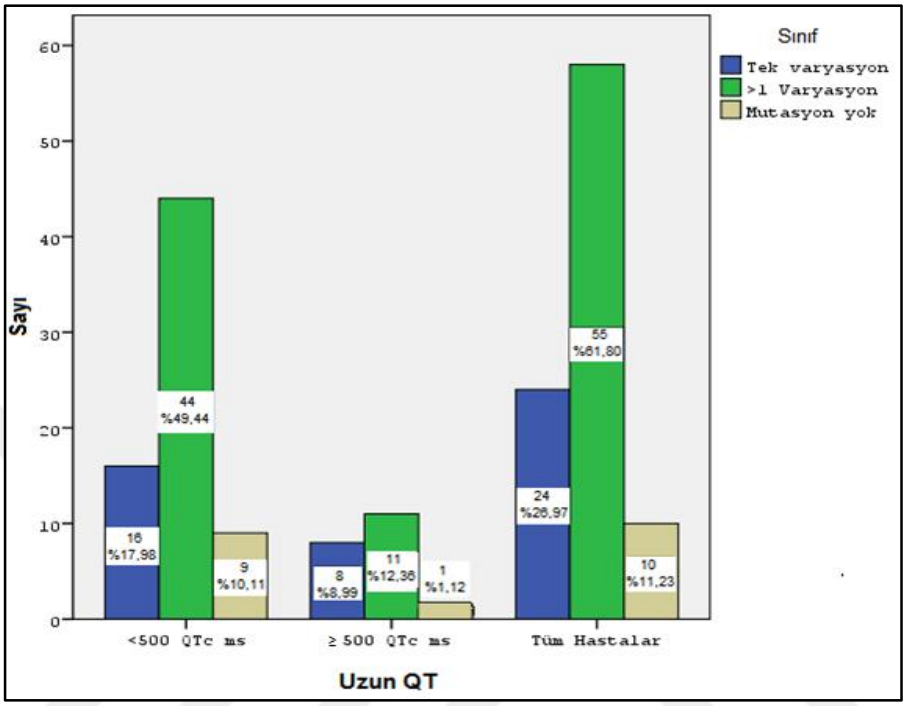
birlikteliği görülmüştür. *KCNH2* geni 2 hastada tek başına bulunuyorken 3 hastada başka bir varyantla beraber bulunmaktadır. *ANK2, KCNE1, KCNE2, KCNJ2, SNTA1* ve *CALM2* gen varyantları hastaların hiçbirinde tek başına rastlanmamıştır. Mutlaka başka bir gen varyantıyla beraber tespit edilmişlerdir. 1 hastada *CACNA1C* geni tek başına iken 3 hastada diğer bir varyantla bir aradadır. *CAV3* geni varyantları ise 1 hastada tek başınayken, 1 hastada başka bir gen değişikliğiyle beraber saptanmıştır. *AKAP9* geni varyantı 2 hastada tek başına belirlenmişken, 14 hastada başka bir varyant ile biraradadır.

Tablo 18: UQTS genlerinin tekli ya da çoklu bulunduğu hasta sayıları

Gen	Tek başına bulunduğu hasta sayısı	Başka bir varyantla birlikteliği saptanan hasta sayısı	Toplam N=92
KCNQ1	6 (%6,52)	18 (%19,56)	24 (%26,08)
KCNH2	2 (%2,17)	3 (%3,26)	5 (%5,43)
SCN5A	1 (%1,08)	3 (%3,26)	4 (%4,34)
ANK2	-	12 (%13,04)	12 (%13,04)
KCNE1	-	4 (%4,34)	4 (%4,34)
KCNE2	-	1 (%1,09)	1 (%1,08)
KCNJ2	-	2 (%2,17)	2 (%2,17)
CACNA1C	1 (%1,08)	3 (%3,26)	4 (%4,34)
CAV3	1 (%1,085)	1 (%1,085)	2 (%2,17)
AKAP9	2 (%2,17)	14 (%15,22)	16 (%17,39)
SNTA1	-	1 (%1,08)	1 (%1,08)
CALM2	-	2 (%2,17)	2 (%2,17)

Şekil 80'de QTc mesafesi <500 ve ≥500 olan hastalarda mutasyonsuz, tek varsyasyonlu ve >1 varyasyonlu birey sayıları karşılaştırılmıştır. QTc mesafesi <500 olan hasta sayısı 69 olup bu hastaların 9 tanesi mutasyonsuz, 16'sı tek varyasyonlu, 44 tanesi ise >1 varyasyon taşımaktadır. QTc mesafesi ≥500 olan hasta sayısı ise 20 olup bu hastaların 1 tanesi mutasyonsuz, 8'i tek varyasyonlu, 11'i ise >1 varyasyon taşımaktadır. QTc mesafesi açısından her iki grup birleştirildiğinde ise ortalama QTc mesafe bilgisi dökümente olan 89 hastanın 10'unda (%11,23) mutasyon belirlenmemiş olup 24'ünde

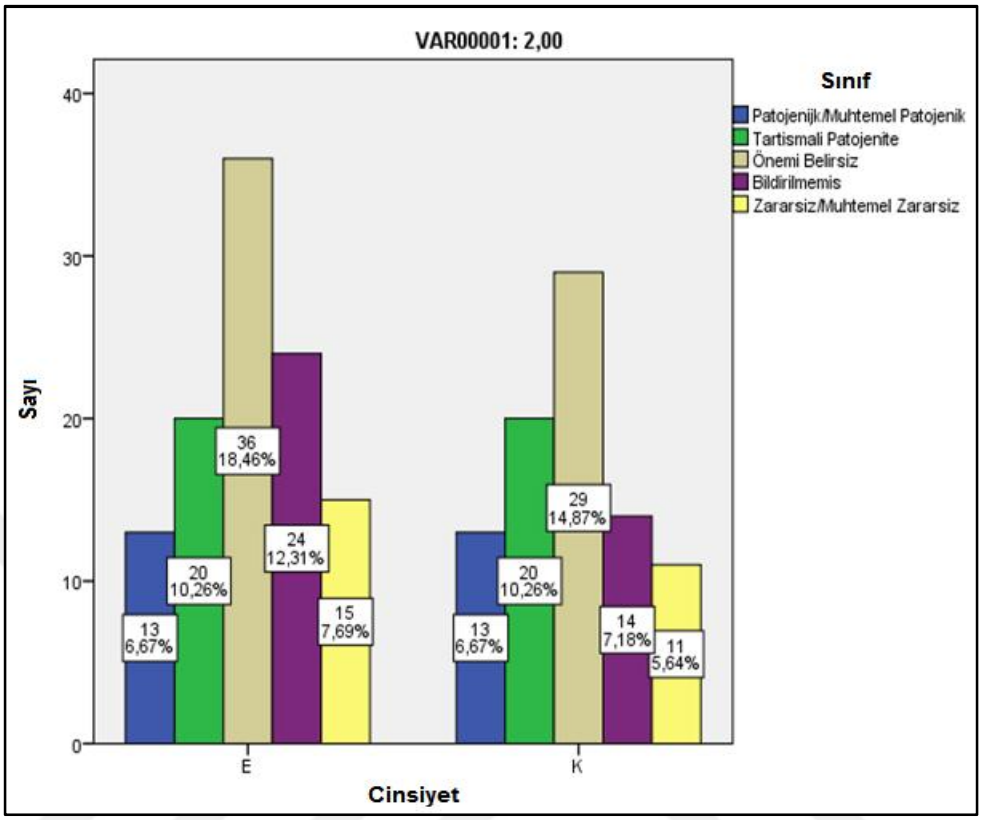
(%26,97) tek varyasyon taşıyıcılığı, 55'inde (%61,80) ise >1 varyasyon taşıyıcılığı mevcuttur.



Şekil 80: QTc mesafesi <500 ile ≥500 olan hastalar arasında varyant sayısı karşılaştırma

QTc mesafesi <500 ve ≥500 olan hastalarda mutasyonsuz bireylerle ≥1varyasyonu olan bireyler karşılaştırıldığında her iki grup arasında varyasyon sayısı bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Fischer's Exact testi, p=0,446>0,05).

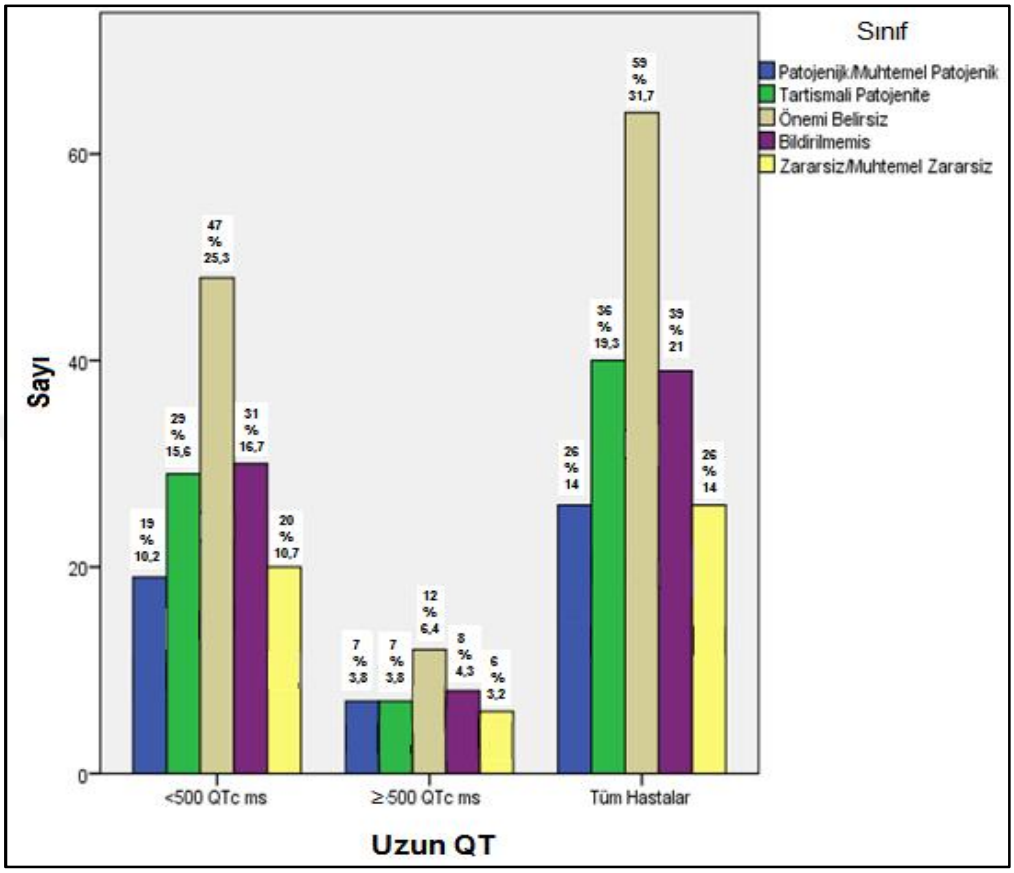
Şekil 81'de kadın ve erkekte patojenik alt sınıflar karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmaya göre belirlenen toplam 195 varyantın 108'i erkeklerde, 87'si kadınlarda tespit edilmiştir. Erkeklerde gözlenen 13 varyant patojenik/muhtemel patojenik, 20 varyant tartışmalı patojeniteli, 36 varyant önemi belirsiz, 24 varyant bildirilmemiş yeni, 15 varyant ise zararsız/muhtemel zararsız'dır. Kadınlarda gözlenen 87 varyantın ise 13'ü patojenik/muhtemel patojenik, 20 varyant tartışmalı patojeniteli, 29 varyant önemi belirsiz, 14 varyant bildirilmemiş yeni, 11 varyant ise zararsız/muhtemel zararsız'dır (Şekil 81).



Şekil 81: Erkek ve kadında patojenik alt sınıfların karşılaştırması

Şekil 81'de göre erkek ve kadında patojenik alt sınıfların karşılaştırıldığı zaman aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir farka rastlanmamıştır (Ki-Kare testi, p=0,728>0,05).

Şekil 82'de QTc mesafesi <500 ve ≥500 ms olan 89 hastaya ait 186 varyantın patojenik alt sınıflarına göre karşılaştırıldığı grafik gösterilmiştir. Grafiğe göre, QTc mesafesi <500ms olan bireylerde saptanan 146 varyantın 19 tanesi patojenik/muhtemel patojenik alt sınıfa aitken, 29'u tartışmalı patojeniteli, 47'si önemi belirsiz, 20'si zararsı/muhtemel zararsız, 31'i ise bidirilmemiş yeni varyanttır. QTc mesafesi ≥500 ms olan bireylerde ise saptanan 40 varyanttan 7'si patojenik/muhtemel patojenik alt sınıfa aitken, 7'si tartışmalı patojeniteli, 12'si önemi belirsiz, 6'sı zararsız/muhtemel zararsız sınıfa aitken 8'i bildirilmemiş yeni varyanttır (Şekil 82).



Şekil 82: QTc mesafesi <500 ve ve ≥500 ms olan hastalarda gözlenen varyantların patojenik alt sınıflarına göre karşılaştırılması

UQT mesafesi <500 ve ve ≥500 ms olan hastalar arasında patojenik alt sınıflar açısından istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir (Ki-Kare testi, p=0,957>0,05).

Tablo 19’da 92 UQT hastasında patojenik alt sınıflarına göre varyantlar sıralandığında her bir sınıfın, varyant sayısı, ortalama hastalık başlangıç yaşı, cinsiyet, semptom (+)’liği ve aile öyküsü (+)’liği, EKG’de ortalama QTc mesafesi ve ek EKG bulgusu eşliği birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Varyant sınıflarından bağımsız olarak, 92 UQT hastasında belirlenen 195 varyantın 87’si (%44,6) kadınlarda, 108’i (%55,4) erkeklerde tespit edilmiştir. Varyantların neredeyse yarısının (96 %49,2) taşındığı hastalarda semptom (+)’ liği bildirilirken, varyantların 67 (%34,4) tanesinin taşındığı hastalarda aile öyküsü (+)’liği bildirilmiştir. 195 varyant arasında dökümente edilmeyen hastalar hesaplama dışı bırakıldığında kalan 186 varyantın taşındığı hastalarda ortalama QTc mesafesi 480,320±56,92 olarak tespit edilmiştir. Varyantların 90’ının bulunduğu hastalarda ise ek bir EKG bulgusunun eşlik ettiği belirlenmiştir.

Tablo 19: Uzun QT hastalarında varyant sınıflarına göre klinik karşılaştırma

Varyant sınıfı	Varyant sayısı, n (%)	Hastalık başlangıç yaşı Ortalama± ss (n)	Cinsiyet K, n (%)/E, n (%)	Semptom (+) n (%)	Aile öyküsü (+) n (%)	Ortalama QTc ms±ss (n)	Ek EKG Bulgusu eşliği, n (%)
Patojenik/Muhtemel Patojenik	26(%13,35)	8,538±5,035 (26)	13(%6,7)/13(%6,7)	15(%7,7)	12(%6,2)	490,154±56,636 (26)	14(%7,2)
Tartışmalı patojenite	40(%20,5)	*6,141±4,546 (39)	20(%10,3)/20(%10,3)	19(%9,7)	9(%4,6)	**469,583±38,295 (36)	13(%6,7)
Klinik Önemi belirsiz/Tanımlanmamış /Test edilmemiş	65(%32,8)	* 5,817±4,689(63)	29(%14,8)/36(%18,5)	29(%14,9)	19(%9,7)	**477,633±57,117(59)	32(%16,4)
Bildirilmemiş yeni varyant	38(%19,5)	7,145±3,755(38)	14(%7,1)/24(%12,3)	21(%10,8)	19(%10,7)	481,066±63,177(39)	17(%8,7)
Zararsız/Muhtemel Zararsız	26(%13,35)	8,346±5,661 (26)	11(%5,6)/15(%7,7)	12(%6,2)	8(%4,1)	490,462±68,70 (26)	14(%7,2)
Toplam	**195**	**6,857±4,7607 (192)**	**87(%44,6)/108(%55,4)**	**96(%49,2)**	**67(%34,4)**	**480,320±56,92 (186)**	**90(%46,1)**

***Tartışmalı Patojeniteli varyantlar için ortalama hastalık başlangıç yaşı 39 varyant üzerinden hesaplanmıştır. Hastalık başlangıç yaşı eksik olan H45 İlgili sütünda sınıflandırmaya dahil edilmemiştir. Önemi belirsiz/tanımlanmamış/test edilmemiş varyantlar için ortalama hastalık başlangıç yaşı 63 varyant üzerinden hesaplanmıştır. H45'e ait 2 varyant bu sınıfa dahildir.**

****Tartışmalı Patojeniteli varyantlar için ortalama QTc değerleri hesaplanırken 36 varyanta ait veri incelenmiştir. Çünkü H45, H68 ve H77'ye ait Otc mesafesi dökümente edilmemiştir. İlgili hastalara ait sınıflandırma verileri hesaplamaya dahil edilmemiştir. Önemi belirsiz/tanımlanmamış/test edilmemiş varyantlar için ortalama QTc değerleri 59 varyant üzerinden değerlendirilmiştir.**

Uzun QT sendromunda en sıklıkla mutasyonların meydana geldiği ilk 3 gende (*KCNQ1, KCNH2* ve *SCN5A*) protein pozisyonlarına göre varyant sayıları Tablo 20'de gösterilmiştir. Saptanan 195 varyantın 35'i (%17,95) İlgili genlerde saptanmıştır. *KCNQ1* geninin hücre dışı kısmında 1 (%2,9) , transmembran domaininde 9 (**%**25,7) por kısmında 1 (%2,9) ve hücre içi kısmında 15 (%42,9) olmak üzere toplam 26 varyant (%74,3) saptanmış olup, *KCNH2* geninde belirlenen 5 varyantın 1 tanesi (**%**2,9) transmembran domaininde, 4'ü (%11,4) ise genin hücre içi kısmında meydana gelmiştir. 4 *SCN5A* varyantından 2'si (%5,7) transmembran domaininde, 2'si (%5,7) ise hücre içi kısımda meydana gelmiştir (Tablo 20). *KCNQ1, KCNH2* ve *SCN5A* genlerinde meydana gelen varyasyonların büyük çoğunluğu %60'ı (21) hücre içinde, %34,3 (12)'ü ise transmembran domaininde görülmüştür. Hücre dışı ve por bölgesinde varyantlar nadiren gorülmüştür, saptanan 35 varyantın sadece 2 tanesi (%5,8) bu bölgelerde bulunmuştur.

Tablo 20: İlk 3 UQT geninde protein pozisyonuna göre varyasyon sayısı

	GEN (PROTEİN)			
Protein Pozisyonu	***KCNQ1* (KVLQT1)**	***KCNH2* (hERG)**	***SCN5A* (SCN5A)**	**Toplam, n(%)**
Hücredışı	1 (%2,9)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
Satıryüzdesi (%)	%100,0	%0,0	%0,0	**1 (%2,9)**
Sütunyüzdesi (%)	%3,8	%0,0	%0,0	
Transmembran	9(%25,7)	1 (%2,9)	2 (%5,7)	
Satıryüzdesi (%)	%75,0	%8,3	%16,7	**12(%34,3)**
Sütunyüzdesi (%)	%34,6	%20,0	%50,0	
Por	1(%2,9)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
Satıryüzdesi (%)	%100,0	%0,0	%0,0	**1 (%2,9)**
Sütunyüzdesi (%)	%3,8	%0,0	%0,0	
Hücre içi	15 (%42,9)	4 (%11,4)	2 (%5,7)	
Satıryüzdesi (%)	%71,4	%19,0	%9,5	**21(%60,0)**
Sütunyüzdesi (%)	%57,7	%80,0	%50,0	
Toplam	**26 (%74,3)**	**5 (%14,3)**	**4 (%11,4)**	**35 (%100,0)**

7. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Uzun QT sendromu (UQTS) EKG'de uzamış QT aralığı, tekrarlayan senkop atakları, ventriküler aritmiler ve ani ölümle karakterize klinik ve genetik olarak heterojen bir sendromdur (Wildeve ark., 1999). UQTS'nin tanımlanan ilk formu otozomal resesif geçişli Jervell ve Lange-Nielsen sendromu olup konjenital sağırlıkla karakterizedir (Jervell ve ark., 1957). Hastalığın diğer bir formu ise Romano-Ward sendromu olup otozomal dominant bir kalıtım gösterir (Romano ve ark., 1964).

Kalıtsal kalp aritmi hastalıkları, kalbin elektriksel akımının bozulması ile karakterize, hem çocukluk hem de erişkin dönemde sıklığı giderek artan ve aritmilerin hayatı tehdit ettiği önemli bir hastalık grubudur. Bu grup hastalıklar kalpte çok nadir yapısal bulguya neden oldukları için çoğu zaman nedeni bilinmeyen ani kalp ölümü ile sonuçlanırlar. Uzun QT Sendromu da kalıtsal aritmi hastalıkları arasında hayatı tehdit eden önemli bir kardiyolojik ritm bozukluğu hastalığıdır. Bu gibi hastalıklarda başarılı bir tedavi için altta yatan genetik bozukluğun belirlenmesi hastaya yaklaşımda en önemli basamaklardan biridir.

UQT tanısı almış hastalarda genetik testin yapılması ve mutasyonların tespit edilmesi, UQT geliştirme riskinin yüksek olduğu bireylerde erken dönemde tedavilerini mümkün kılmaktadır (Priori ve ark., 2003; Imboden ve ark., 2006).

Şimdiye kadar UQTS ile ilişkili olarak potasyum, sodyum ya da kalsiyum iyon kanalları ya da iyon kanallarıyla ilişkili proteinleri kodlayan 15 gen OMIM'de bildirilmiştir. Bu genlerdeki patojenik varyantlar, potasyum kanallarında fonksiyon kaybına, sodyum iyon kanallarında ise fonksiyon kazanımına yol açarak iyon kanalı fonksiyonunu bozmaktadır, bozuk kanal fonksiyonu sonucu ise kardiyak aksiyon potansiyelinde uzama ve kardiyak miyositlerinde ventriküler aritmi riski ve ani ölüm riski oluşmaktadır (Goldenberg ve ark., 2008; Chen ve ark., 2007; Ueda ve ark., 2008; Crotti ve ark., 2013; Makita ve ark., 2014).

Tez çalışması, uzun QT sendromlu hastalarda, kardiyolojik ritm bozuklukları ile ilişkilendirilmiş toplam 68 hedef gen paneli ile şimdiye kadar tanımlanmış olan hedef 15 genin yanı sıra yeni gen ve mutasyonları tayin etmek, mutasyonların sıklıklarını tanımlamak, hastalıkla ilişkili genotip-fenotip korelasyonlarının kurulmasını sağlamak, mutasyonu saptanmış ailelerdeki genetik risklerin semptomlar başlamadan önce belirlenerek uygun tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlamak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmasında 53 erkek (%57,61) 39 kadın (%42,39) olmak üzere toplam 92 uzun QT hastası çalışılmıştır, tüm hastaların yaş ortalaması 9,25±5,623 olup hastalık başlangıç yaşı belirtilen 91 hastaya ait hastalık başlangıç yaş ortalaması ise 7,368±4,982'dir. QTc mesafesi bildirilen toplam 89 bireyin ortalama QTc aralığı 480,14±57,335 ms'dir. Hastaların 44'ünde (%47,8) EKG'de QTc uzamasıyanında Torsade de pointes, ventriküler taşikardi, sinüs taşikardi/bradikardi, AV blok gibi ek EKG bulguları eşlik etmektedir. Hastaların 41'inde (%44,6) senkop öyküsü mevcuttur. Kardiyak arrest öyküsü, çalışmaya dahil edilen 92 UQT hastasının 14'ünde (%15,2) görülürken 6 tanesinde (%6,5) sağırlık öyküsü, 10 tanesinde (%10,9) nöbet ya da epilepsi öyküsü, 4'ünde ise (%4,3) çarpıntı öyküsü mevcuttur. Çalışılan 92 hastanın 16'sında (%17,4) hastalık seyri hızlıyken 24'ünde (%26,1) hastalık seyri stabil, 52'sinde ise (%56,5) hastalık seyri yavaştır. Hastalarda cinsiyete göre kantitatif değer olan yaş, hastalık başlangıç yaşı ve QTc mesafesi açısından ya da kategorik değişkenler (Diğer EKG bulgusu eşliği, senkop, kardiyak arrest, sağırlık, nöbet/epilepsi, çarpıntı ve hastalık seyri) açısından fark gözlenmemiştir. Yani hiçbir klinik bulgu için, kadın erkek arasında farklılık tespit edilmemiştir ($p>\alpha=0,05$).

Yapılan çalışmada 92 hastada toplam 195 varyant belirlenmiş olup bunların ancak 79 tanesi (%40.51) uzun QT ile İlgili OMIM'de bildirilmiş olan 12 gende *(KCNQ1, KCNH2, SCN5A, ANK2, KCNE1, KCNE2, KCNJ2, CACNA1C, CAV3, AKAP9, SNTA1 ve CALM2)* tespit edilmiştir, geri kalan 116 tanesi (%59.49) ise literatürde diğer kardiyolojik ritm bozukluklarıyla ilişkilendirilmiş paneldeki 42 gen + 4 yeni ekzom geninde tespit edilmiştir. İlgili genlerde saptanan 195 varyantın 168 tanesi (%86) yanlış

anlamlı, 11'i (%6) splice bölge varyantı, 4'ü (%2'si) çerçeve kayması delesyon, 6'sı (%3) çerçeve içi delesyon, 2'si (%1) anlamsız dur kodonu ve 4'ü (%2) UTR varyantıdır. Literatürde birbiriyle akraba ilişkisi olmayan 262 UQTS hastasında *KCNQ1, KCNH2,SCN5A, KCNE1* ve *KCNE2* genlerinde yapılan genetik çalışmada yanlış anlamlı mutasyonların oranı %72, çerçeve kayması ve çerçeve içi delesyonların %10, anlamsız mutasyonların %5, splice bölge mutasyonlarının ise %7 görüldüğü bildirilmiştir (Splawski ve ark., 2000).

UQT ile ilişkili bildirilmiş olan *SCN4B, KCNJ5 ve CALM1* genlerinde varyant belirlenmemiştir. Literatürde UQTS'de *SCN4B, KCNJ5* ve *CALM1* geni mutasyonlarının nadiren görüldüğü bilinmektedir (Erişim tarihi: http: //www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1129/, Erişim tarihi: 23.03.2016).

Tüm hastalarda belirlenen varyantların 26'sı (%13,33'ü) *KCNQ1* geninde saptanmıştır. 92 Hastanın 25 tanesinde *KCNQ1* mutasyonu mevcuttur (%27,17). 1 hastada *KCNQ1* geninde 2 varyant tespit edilmiştir. UQT2 alttipi ile ilişkilendirilen *KCNH2* geni varyantı ise tespit edilen 195 varyantın sadece 5'ini (%2,56) içermektedir. 92 hastanın 5'inde *KCNH2* varyantı mevcuttur (%5,43). UQT3 alttipi ile ilişkilendirilen *SCN5A* geni varyantı ise 92 hastanın 4'ünde tespit edilmiştir (%4,35). Belirlenen 195 varyantın 4'ünü *SCN5A* geni varyantı oluşturmaktadır (%2,05). Özetlersek, çalışmamızda *KCNQ1*, *KCNH2*ve *SCN5A* genlerinde belirlenen 35 varyant, saptanan tüm varyantların (195 varyantın) sadece %17,94'ünü teşkil etmektedir ve 92 UQT vakasının 34'ünde (%37) İlgili genlerde varyant belirlenmiştir. Literatürde ise *KCNQ1, KCNH2 ve SCN5A* geni mutasyonlarının UQT tanısı almış vakaların %60-75'inden sorumlu olduğu bildirilmiştir. *KCNQ1* geni patojenik mutasyonları vakaların %30-35'inde bildirilmiştir. *KCNH2* geni mutasyonları %25-30, *SCN5A* geni mutasyonları ise %5-10 sıklıkta bildirilmiştir (Splawski ve ark., 2000; Napolitano ve ark., 2005; Kapplinger ve ark., 2009). Tez çalışmasında *KCNH2* varyantı sıklığı, literatürde bildirildiğinin (%25-30) aksine düşük oranda rastlanmıştır (%5,43). Belki de diğer toplumların aksine *KCNH2* varyantları, Türk toplumunda yaygın olarak

bulunmamaktadır. Diğer *KCNQ1* ve *SCN5A* varyantları sıklığı ise literatürdekine benzerdir.

Çalışılan 92 hastanın 10'unda incelenen panel genlerinde herhangi bir varyanta rastlanmamıştır. Çalışmada varyant belirlenmeyen hasta yüzdesi (%11'dir). Çalışmada sadece uzun QT genleri (15 gen) açısından bir değerlendirme yapılırsa 92 hastanın 58'inde (%63) UQT genlerinde bir varyanta rastlanmıştır. UQTS gen varyantı taşımayan hasta sayısı ise 34'dür (%37). Literatürde ise klinik olarak UQTS tanısıyla takip edilen hastaların %20-25'inde çalışılan 15 UQT genlerinden herhangi birinde varyanta rastlanmadığı bildirilmiş ve 15 UQT geni dışında henüz tanımlanmamış başka gen varyantlarının da hastalık etiyolojisinde etkili olabileceği belirtilmiştir (http: //www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1129/, Erişim Tarihi: 17.06.2016).

Tez çalışmasında çalışılan 92 hastanın 10'unda varyant saptanmamış olup geriye kalan 82 hastanın 58'inde (%70,73) UQT genlerinden en az birinde bir varyant saptanmış olup 20 hastada (%24,39) sadece en az 1 UQT geni bulunmaktadır. Hastaların 38'i (%46,34) hem UQT gen varyantı yanısıra en az diğer bir gen varyantını beraber taşıyorken (ortak kesişim kümesi) 24 hastada (%29,27) ise UQT genlerinde varyant bulunmayıp sadece diğer genlerde varyant saptanmıştır. Bu bulgular, sadece uzun QT genlerinin değil, kardiyolojik ritm bozukluklarıyla İlgili diğer genlerin de hastalık etiyolojisinde etkili olduğunu desteklemektedir. Çalışmada, uzun QT genleriyle beraber diğer genler beraber değerlendirildiğinde, çalışılan 92 hastanın sadece 10'unda (%10,86) genetik etken tespit edilememiştir. %10,86'lık tayin edilemeyen kısım, çalışılan genlerdeki olası büyük delesyon/duplikasyonlar ya da çalışılmamış yeni genlerin varlığı nedeniyledir. Literatüre göre açıklanamayan %20-25'lik açık kısım, yaptığımız tez çalışması ile %10,86'ya düşmüştür.

Tez çalışmamızda tayin edilen 91 hastaya ait 192 varyant üzerinden hesaplanan ortalama başlangıç yaşı 6,857±4,7607'dir. Varyantların 87'si kadınlarda (%44,6) 108'i ise erkeklerde (%55,4) tespit edilmiştir. QTc mesafesi dökümente edilen 89 hastaya ait toplam 186 varyant üzerinden hesaplanan ortalama QTc mesafesi 480,320±56,92'dir.

Çalışılan 195 varyantın 160 tanesi otozomal dominant, 5'i otozomal resesif olarak kalıtılmakta olup 7 tanesi için de-novo kalıtım belirlenmiştir, 26 varyant için kalıtım kalıbı bilinmemektedir. Belirlenen 7 de-novo varyantlar *KCNQ1, CACNA1C, RYR1, CALM2 ve SCN5A* genlerinde tespit edilmiştir.

Çalışılan 92 UQT hastasında rastlanan sıklığı en yüksek varyant *KCNQ1* genindeki c.1097G>A (p.Arg366Gln) mutasyonu olup 4 hastada belirlenmiştir (H14, H44, H86 ve H90) (Çalışılan hastaların %4,35'inde görülmüştür). Hastalarda *KCNQ1* mutasyonuna başka belirlenen varyant/varyantlar eşlik etmektedir. İlgili mutasyon literatürde daha önce patojenik mutasyon olarak bildirilmiş olup tanımlandığı çalışmada 262 UQT hastasının sadece 1'inde tespit edilmiştir (Splawski ve ark., 2000). Daha sonra bildirilen bir yayında çalışılan 294 UQT hastasının 2'sinde görüldüğü bildirilmiştir (Zareba ve ark., 2003). Literatür taramalarında varyantın sıklığının bizim çalışmamızdaki kadar yüksek görüldüğü bir yayına rastlanmamıştır. Bu nedenle Türkiye toplumuna özgü kurucu mutasyon olma ihtimali yüksektir.

Çalışmada sıklığı yüksek olarak belirlenen diğer bir varyant, 3 hastada (H32, H45 ve H70) *AKAP9* geninde saptanan c.5369T>G (p.Val1790Gly) splice bölge varyantı olup patojenitesi literatürde tartışmalıdır (ClinVar#180263). Toplumlarda görülme sıklığı oldukça düşük olarak bildirilmiştir (MAF:0,0009) (Exac Browser). H32 hastasında İlgili varyanta önemi belirsiz *KCNH2* ve *MYL3* varyantları eşlik etmektedir. H45 hastasında, klinik önemi bilinmeyen *KCNE1* ve *KCND3* varyanları ile beraber bulunmaktadır. H70 hastasında ise, patojeniteleri tartışmalı *CACNA1S, DSP, DSC2* ve *RYR1* geni varyantlarıyla biraradadır. İlgili *AKAP9* varyantı, çalışmadaki sıklığı yüksek olarak belirlenmiş ve muhtemel patojenik olma ihtimali yüksek bir varyanttır. Mutlaka ileri fonksiyon çalışmaları planlanmalıdır.

ANK2 geninde belirlenen c.9854T>C (p.Ile3285Thr) varyantı çalışmamızda 4 hastada belirlenmiş olup (H3, H42, H64 ve H51) literatürde zararsız/muhtemel zararsız olarak bildirilmiştir, ayrıca toplum çalışmalarında sıklığı nispeten yüksektir (MAF: 0,0082) (dbSNP#rs36210417). Türk toplum frekansı ise %4.9 olarak belirlenmiştir

(Tübitak-Bilgem sorgusu ile 1230 bireyin 60 tanesinde tespit edildiği belirlenmiştir). İlgili varyant H3 hastasında etkisi bilinmeyen *KCNE3* varyantı ile birlikte, H42 hastasında literatüre bildirilmemiş ve klinik etkisi bilinmeyen *KCNQ1* 3'UTR varyantı ile, H64 hastasında patojenik *SCN5A* mutasyonu ile, H51 hastasında ise önemi belirsiz RYR2 varyantı ve literatüre daha önce bildirilmemiş *MYH7* varyantıyla birlikte saptanmıştır. Bu nedenle patojenitesi hakkında yorum yapılamamaktadır. Tek başına etkisini yorumlayamamaktayız. Mutlaka ileri fonksiyon çalışmaları planlanmalıdır.

Çalışmada, varyasyonsuz, tek varyasyonlu ve > 1 varyasyonlu hastalarda sırasıyla hastalık başlangıç yaşı, cinsiyet, semptom (+)'liği, aile öyküsü (+)'liği ve ortalama QTc mesafesi uzunluğu ve ek EKG bulgusu eşliği karşılaştırılmıştır. Hastalık başlangıç yaşı bakımından varyasyonsuz grup ile ≥ 1 varyasyonu olan grup arasındaki fark anlamlıdır ($p<0,05$). Yani, varyasyonsuz bireylerin hastalık başlangıç yaşı ortalaması (10,3±4,11) varyasyon taşıyan bireylerin hastalık başlangıç yaşı ortalamasına (6,907±5,00) göre daha yüksektir. Varyasyonsuz bireylerin ortalama QTc mesafesi olan 458,5±41,15, varyasyon taşıyan bireylerin ortalama QTc mesafesine (482,8±58,70) göre nispeten kısa gibi gözükse de istatistiksel açıdan %95 güven düzeyinde aralarında fark gözlenmemiştir ($p>\alpha=0,05$).

Çalışmada, tek varyasyonlu ve >1 varyasyonlu bireyler cinsiyetlerine göre de karşılaştırılmıştır. Çalışılan 92 bireyden 24'ünde (%26,09) tek varyant mevcut olup bunlardan 16'sı erkek, 8'i kadındır. 27 kadın ve 31 erkek toplam 58 bireyde (%63,05) 1'in üzerinde varyant taşıcılığı gözlenmiştir. Çalışılan 92 UQT hastasının 4'ü kadın 6'sı erkek toplam 10 bireyde (%10,87) ise varyant tespit edilmemiştir. Erkek ve kadın arasında mutasyonsuz, tek varyasyon ve çoklu varyasyon sayıları açısından fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Tez çalışmasında, QTc mesafesi <500 olan hasta sayısı 69 olup, 9'u mutasyonsuz, 16'sı tek varyasyonlu, 44'ü ise >1 varyasyon taşımaktadır. QTc mesafesi ≥500 olan hasta sayısı ise 20 olup bu hastaların 1'i mutasyonsuz, 8'i tek varyasyonlu, 11'i ise >1 varyasyon taşımaktadır. QTc mesafesi açısından her iki grup birleştirildiğinde ise

ortalama QTc mesafe bilgisi dökümente olan 89 hastanın 10'unda (%11,23) mutasyon belirlenmemiş olup 24'ünde (%26,97) tek varyasyon taşıyıcılığı, 55'inde (%61,80) ise >1 varyasyon taşıyıcılığı mevcuttur. QTc mesafesi <500 ve ≥500 olan hastalarda mutasyonsuz bireylerle ≥1 varyasyonu olan bireyler karşılaştırıldığında fark anlamlı bulunmamıştır (p=>0,05).

Tez çalışmasında saptanan toplam 195 varyantın 108'i erkeklerde, 87'si kadınlarda tespit edilmiştir. Varyantların 26'sı (%13,3) literatüre patojenik/muhtemel patojenik olarak bildirilmiştir. 40'ı (%20,5) tartışmalı patojeniteli, 65'i (%33,3) klinik önemi belirsiz, 38'i (%19,5) literatüre bildirilmemiş yeni varyant, 26'sı (%13,3) ise zararsız/muhtemel zararsız varyanttır. Erkek ve kadında patojenik alt sınıfların karşılaştırıldığı zaman aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0,05).

Çalışılan 7 hasta sadece 1 patojenik varyant taşırken (3 *KCNQ1,* 1 *SCN5A,* 1 *KCNH2,* 1 *GDP1L ve* 1 *CALM2) KCNQ1, SCN5A, KCNE1, CACNA1C, RYR2, JUP, LMNA, GPD1L ve CASQ2* genlerinde tespit edilen diğer 17 hastada belirlenen patojenik mutasyonlar en az 1 diğer kanalopati varyantıyla beraber saptanmıştır. Literatürde, UQTS hastalarının %4-9'unun aynı gende ya da farklı genlerde 2 ya da daha fazla patojenik varyant taşıdığı bildirilmiştir. Bu bulgu, hastalık şiddetinin ikinci bir vuruşla modüle edilebileceği ihtimalini güçlendirmektedir (Napolitano ve ark., 2015).

Çalışmamızda, QTc mesafesi <500 ve ≥500 ms olan 89 hastaya ait 186 varyantın patojenik alt sınıflarına göre karşılaştırıldığı zaman QTc mesafesi <500 ms olan bireylerde saptanan 146 varyantın 19 tanesi patojenik/muhtemel patojenik alt sınıfa aitken; 29'u tartışmalı patojeniteli, 47'si önemi belirsiz, 20'si zararsız/muhtemel zararsız, 31'i ise bidirilmemiş yeni varyanttır. QTc mesafesi ≥500 ms olan bireylerde ise saptanan 40 varyanttan 7'si patojenik/muhtemel patojenik alt sınıfa aitken, 7'si tartışmalı patojeniteli, 12'si önemi belirsiz, 6'sı zararsız/muhtemel zararsız sınıfa aitken 8'i bildirilmemiş yeni varyanttır. UQT mesafesi <500 ve ve ≥500 ms olan hastalar arasında patojenik alt sınıflar açısından istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir (p>0,05).

Uzun QT sendromunda en sıklıkla mutasyonların meydana geldiği ilk 3 gende (*KCNQ1, KCNH2* ve *SCN5A*) protein pozisyonlarına göre varyant sayılarıincelendiğinde saptanan 195 varyantın 35'i (%17,95) İlgili genlerde saptanmıştır. *KCNQ1* geninin hücre dışı kısmında 1 (%2,9) , transmembran domaininde 9 (%25,7) por kısmında 1(%2,9) ve hücre içi kısmında 15 (%42,9) olmak üzere toplam 26 varyant (%74,3) saptanmış olup, *KCNH2* geninde belirlenen 5 varyantın 1 tanesi (%2,9)transmembran domaininde, 4'ü (%11,4) ise genin hücre içi kısmında meydana gelmiştir. 4 *SCN5A* varyantından 2'si (%5,7) transmembran domaininde, 2'si (%5,7) ise hücre içi kısımda bulunmaktadır. *KCNQ1, KCNH2* ve *SCN5A* genlerinde meydana gelen varyasyonların büyük çoğunluğu %60'ı (21) hücre içinde, %34,3 (12)'ü ise transmembran domaininde görülmüştür. Hücre dışı ve por bölgesinde varyantlar nadiren gorülmüştür, saptanan 35 varyantın sadece 2 tanesi (%5,8) bu bölgelerde bulunmuştur. Literatürde *KCNQ1, HERG, SCN5A, KCNE1* ve *KCNE2* genlerinde yapılan genetik çalısmada mutasyonların çoğunun (%52) tez çalışmamıza benzer şekilde hücre içi kısımda meydana geldiği, mutasyonların %30'unun transmembran domaininde, %12'sinin por bölgesinde, %6'sının ise hücre dışı segmentlerde oluştuğu bildirilmiştir (Splawski ve ark., 2000). Literatürde, *KCNQ1, KCNH2* ve *SCN5A* genlerinde transmembran ve por domaininde mutasyon taşıyan bireylerde hastalık şiddetinin N ya da C-terminal domaininde mutasyonu olan bireylere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Argelia ve ark., 2007).

Yapılan tez çalışmamızda, *RYR2* geninde 1'i patojenik, 3'ü klinik önemi belirsiz, 1'i zararsızve 4'ü bildirilmemiş/yeni varyant olmak üzere toplam 9 varyant (%4,62) belirlenmiştir. 92 uzun QT hastasının 9 tanesinde (%9,78) *RYR2* varyantı görülmekte olup UQT patogenezinde önemli bir yer tuttuğu düşünülmektedir. Çalışmamızda, 6 hastada en az 1 UQT gen varyantıyla birarada, 1 hastada *DSP* geni varyantıyla birlikte de-novo olarak, 1 hastada patojenik *GPD1L* ve klinik etkisi bilinmeyen *MYH6* varyantıyla birarada, 1 hastada ise literatüre bildirilmemiş *BAG3* gen varyantı ile birarada zararsız varyant olarak belirlenmiştir. Son zamanlarda *RYR2* geninde saptanan patojenik mutasyonların, uzun QT sendromu, katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi, aritmojenik sağ ventriküler displazi tip 2 ve ani bebek ölüm sendromu gibi

birtakım aritmi hastalıklarıyla ilişkisi gösterilmiştir (Shigemizu ve ark., 2015). *RYR2* geni, kardiyak kas sarkoplazmik retikulumunda bulunan bir ryanodin reseptörünü kodlar. Ryanodin proteini, kalsiyum kanalının bir komponenti olup, sarkoplazmik retikulumdan sitoplazmaya Ca^{2+} salınımı ve kardiyak kas kontraksiyonunun tetiklenmesinde rol oynamaktadır (http: //www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=RYR2, Erişim tarihi: 17.06.2016). *RYR2* geni, henüz resmi olarak UQTS genleri arasında yer almamaktadır. Fakat tez çalışmamız da *RYR2* geninin güçlü bir aday gen olduğunu desteklemektedir, yakın zamanda İlgili genin yeni bir UQT alttipi olarak literatüre geçeceğini düşünmekteyiz.

Yapılan çalışmamızda, çalışılan 92 UQT hastasının 5'inde (H6, H26, H60, H82 ve H92) *TRPM4* varyantı belirlenmiş olup bu varyantlardan 3'ü klinik önemi belirsiz (1 tane çerçeve içi delesyon, 1 tane çerçeve kayması delesyon, 1 tane yanlış anlamlı varyant) 2'si ise bildirilmemiş yanlış anlamlı yeni varyanttır. H6 hastasında belirlenen *TRPM4* geni varyantı tek başına gözlenmiştir, H26 ve H82 hastasında*KCNQ1* varyantıyla birarada, H60 hastasında *AKAP9* ve *VCL* varyantıyla birlikte, H92 hastasında ise *KCNJ2* ve *DSC2* varyantlarıyla birarada bulunmaktadır. *TRPM4* geni literatürde progresif ailesel kalp bloğu tip 1 ve izole kardiyak iletim bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir (Stallmeyer ve ark., 2012). *TRPM4* geninin UQT sendromu ile ilişkisi daha önce literatüre bildirilmemiştir. *TRPM4* geni, kalsiyumla aktive olan, monovalent katyonların geçişine olanak vererek membran depolarizasyonunda rol oynayan bir kanal proteinini (melastatin-4) kodlamaktadır. *TRPM4* geni heterozigot mutasyonları literatürde Progresif Familyal Kalp Bloğu Tip IB ile ve Brugada sendromu ile ilişkilendirilmiştir (OMIM#604559). Çalışmamızda *TRPM4* geni UQTS ile ilişkisi muhtemel, güçlü bir aday gendir.

MYH6 geni, çalışmamızda, 7 hastada belirlenmiş olup saptanan varyantlardan 3'ü tartışmalı patojenite, 2'si klinik önemi belirsiz, 1'i muhtemel zararsız, 1 tanesi ise yeni bildirilmemiş varyanttır. Hastaların 2 tanesinde *MYH6* geni varyantı tek başına saptanmıştır (1'i muhtemel zararsız, diğeri klinik önemi belirsiz). Hastaların 3'ünde en az diğer bir UQTS geni ile beraber bulunmaktadır, geri kalan 2 hastadan birinde klinik

etkisi bilinmeyen *CTNNA3* ve L*DB3* gen varyantlarıyla birarada, diğerinde ise *GPD1L* patojenik mutasyonu ve *RYR2* klinik önemi belirsiz varyantı ile birlikte bulunmaktadır. Son hastada belirlenen *MYH6* geni p.Asp208Asn varyantının klinik önemi bilinmemekle beraber babada da İlgili varyant için taşıyıcılık saptanması (amcada ani kalp ölümü öyküsü, baba ve dedede bayılma öyküsü mevcut) nedeniyle uzun QT için güçlü bir aday gendir. Varyantın minör allel frekansı 0,005 olarak bildirilmiştir (dbSNP# rs142027794). Hastada saptanan diğer *GPD1L* patojenik mutasyonu ve *RYR2* bilinmeyen varyantı ise anne tarafından kalıtılmıştır. *MYH6* geni, primer olarak atriyal dokularda ATP hidrolizi, aktin bağlama ve kinetik enerji iletiminde bir motor proteini olarak görev alan miyozin proteininin alfa ağır zincirini (alfa-MHC) kodlamaktadır. Literatürde, *MYH6* mutasyonları, atriyal septal defekt, dilate kardiyomiyopati, ailesel hipertrofik kardiyomiyopati ve hasta sinüs sendromu ile ilişkilendirilmiştir (OMIM#160710) (http: //www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MYH6, Erişim tarihi: 17.06.2016). *MYH6* geninin UQTS ile ilişkisi daha önce bildirilmemiştir. Fakat tez çalışmasında tek başına ya da diğer artimi genleriyle birlikte hastalarda gözlenmesi nedeniyle uzun QT sendromu için klinik önemi yüksek bir gendir.

Çalışmamızda 3 UQT hastasında *GPD1L* geninde varyant belirlenmiştir. Hastaların 2'sinde aynı p.Ala280Val mutasyonu olup birisinde tek başına, diğerinde ise klinik etkisi bilinmeyen *RYR2* ve *MYH6* gen varyantları ile birlikte gözlenmiştir. İlgili p.Ala280Val mutasyonu daha önce Brugada sendromlu geniş bir ailede tanımlanmış olup İlgili değişikliğin kalıtsal aritmilerle ilişkili olduğu bildirilmiş ve mutasyon etkisiyle kardiyak hücrelere Na^+ girişinin azaldığı fonksiyonel çalışmalarla gösterilmiştir (London ve ark., 2007). İlgili mutasyon dbSNP ve ClinVar veritabanlarında patojenik allel olarak kayıtlıdır (rs72552291) (ClinVar#786). *GPD1L* geni, Gliserol-3-Fosfat Dehidrogenaz 1 benzeri protein olarak adlandırılan bir protein sentezlemektedir. Sentezlenen protein, sitoplazmada bulunur ve plazma membranı ile ilişkili olarak voltaj kapılı tip V sodyum kanalı alfa alt ünitesi (SCN5A)'ne bağlanmaktadır (http: //www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GPD1L&keywords=GPD1L, Erişim Tarihi: 18.06.2016). Gen

mutasyonları, OMIM'de Brugada sendromu tip 2 ile ilişkilendirilmiştir (OMIM# 611778).

Yapılan çalışmamızda aynı Brugada mutasyonunun birbiriyle akrabalık ilişkisi bulunmayan iki UQTS hastasında da belirlenmiş olması, aynı mutasyonun fenotipik çeşitliliğini ve UQTS genetik tanısında diğer kardiyolojik ritm bozukluğu genlerinin çalışılmasının da önemini vurgulamaktadır. İlgili *GPD1L* geni, UQTS patogenezinde önemi yüksek güçlü bir aday gendir. Sonuncu hastada belirlenen *GPD1L* p.Ala227Valvaryantı ise literatüre daha önce bildirilmemiştir ve klinik etkisi bilinmemektedir. İlgili varyant hastada, klinik etkisi bilinmeyen DPP6 geni p.Val417Ile ve *MYBPC3* geni p.Ser217Gly varyantları ile beraber bulunmaktadır. Her iki varyantın minör allel frekansları sırasıyla 0,0002 ve 0,0023 olarak bildirilmiştir (dbSNP#rs536301648 ve rs397514251). Hastanın aile öyküsünde, annenin ani kalp ölümü nedeniyle 26 yaşında ex olduğu, ex olan anne, teyze ve kardeşte ise bayılma öyküsü olduğu bildirilmiştir. Kardeş, baba ve teyzede yapılan taşıyıcılık çalışmasında, *GPD1L* geninde rastlanan varyant için babada, *MYBPC3* geni varyantı için babada ve kardeşte, *DPP6* geni varyantı için ise teyzede ve kardeşte taşıyıcılık belirlenmiştir. Ex olan anne *DPP6* geni varyantı için zorunlu taşıyıcıdır. Klinik-fenotip birarada değerlendirildiğinde anne tarafında etken olan varyant *DPP6* olarak görünmektedir. Bu sonuç, *DPP6* geninin UQTS patogenezisinde etkili olabilecek güçlü bir aday gen olabileceğini desteklemektedir. Fakat bu durum, *GPD1L* ve *MYBPC3* geni varyantlarının etkisini tamamıyla dışlamaz. Çünkü her 3 varyantın hastada birlikteliği klinik fenotipi aditif olarak ağırlaştırıyor olabilir.

DPP6 geni ise serin proteazların peptidaz S9B üyesi ve tek-geçişli tip II membran proteini olan dipeptidil peptidaz 6 proteinini sentezlemektedir. Proteinde, normalde serin proteazların katalitik domainlerinde bulunan serin rezidüleri yer almadığı için gözlenebilir bir proteaz aktivitesine rastlanmamıştır. Bununla beraber, proteinin voltaj kapılı potasyum kanallarına bağlanarak onların ekspresyonunu ve biyofiziksel özelliklerini değiştirdikleri belirlenmiştir (http: //www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DPP6, Erişim tarihi: 18.06.2016). Gende meydana gelen

mutasyonlar OMIM'de otozomal dominant mental reterdasyon 33 ve ailesel paroksismal ventriküler fibrilasyon 2 ile ilişkilendirilmiştir (OMIM# 126141).

Çalışmamızda, klinik önemi bilinmeyen *DPP6* (p.Lys571Gln) varyantı, 2 UQTS hastasında daha belirlenmiştir. Hastalardan birinde (H68) klinik önemi belirsiz *SCN3B*(p.Glu67Lys) ve *MYBPC3* (p.Val189Ile) varyantları ile birarada bulunmaktadır, diğerinde ise (H75) patojenik *CASQ2* mutasyonu (p.Arg33Ter) klinik etkisi bilinmeyen *DSP* (p.Val30Met) *TRDN* (p.Glu135Lys) ve *CACNB2* (p.Thr504Ile) varyantları ile birlikte saptanmıştır. Saptanan tüm varyantlar için bildirilen popülasyon frekansları %1'in çok altındadır. H68 hastası, 2 ablasını ani kalp ölümü nedeniyle kaybetmiş fakat anne ve baba tarafında bilinen herhangi bir aile öyküsü mevcut değildir. Yapılan taşıyıcılık analizinde 3 varyant için de annede taşıyıcılık belirlenmiştir. Fakat annede ya da akrabalarında herhangi bir klinik septom bildirilmemiştir. Buna rağmen, kardiyolojik ritim bozukluklarının tanısında bilinmesi gereken en büyük zorluklardan birisi septomsuz mutasyon taşıyıcılarının azımsanamayacak oranda yüksek olmasıdır. Literatürde, UQTS hastalarının yaklaşık % 50'sinde belirgin bir QT uzaması görülmeyip (Sy ve ark., 2011) sessiz gen taşıyıcılarının (dinlenme sırasında normal QTc) UQT1 için %36, UQT2 için %19 ve UQT3 için %10 olduğu bildirilmiştir (Priori ve ark., 2003). Bu nedenle, semptomlar başlamadan önce hastaların tayin edilmesi ve gizli taşıyıcıların belirlenmesi, uygun tedavi seçenekleri ile ani kalp ölümlerinin en aza indirilmesini sağlayacaktır. Kanalopati olguları sıklıkla 1-35 yaşlarında ani olarak ölen, öncesinde herhangi bir sağlık problemi olmayan son derece sağlıklı bireylerdir. Ani ölüm, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı problemidir öyle ki ABD'de her yıl 250.000-400.000 erişkinin altta yatan bir kalp hastalığına bağlı olarak ani öldüğü bildirilmektedir (Oliva ve ark., 2001).

H75 hastasında belirlenen heterozigot *CASQ2* p.Arg33Ter mutasyonu daha önce literatürde CPVT kliniği ile ilişkilendirilmiştir. CPVT, otozomal resesif olarak kalıtıldığı biliniyor olsa bile heterozigot taşıyıcılarda da düşük penetrans ile hastalık belirtileri görüldüğü bildirilmiş ve hastalığın oligogenik kalıtımının mümkün olabileceği ve pozitif aile öyküsünün olmaması dolayısıyla tanının zorlaştığı vurgulanmıştır (Postma ve ark.,

2002). Hastamızda *CASQ2* varyantı, klinik etkisi bilinmeyen *DSP* (p.Val30Met) *TRDN* (p.Glu135Lys) *DPP6* (p.Lys571Gln) ve *CACNB2* (p.Thr504Ile) varyantları ile birlikte saptanmıştır. Aile öyküsünde annenin dedesinde konjenital sağırlık bildirilmiştir. *CASQ2* ve *DSP* varyantları için anne, *TRDN* ve *DPP6* varyantları için baba taşıyıcı konumdadır. Varyantların birlikteliğininin fenotipe etkisi bilinmemektedir. Fakat tez çalışmamız, *CASQ2* patojenik varyantının CPVT yanısıra bir UQTS hastasında daha belirlendiği ilk çalışmadır.

Tez çalışmamızda klinik önemi belirsiz diğer *CASQ2* varyantı (p.Ala292Ser) patojenik *KCNQ1* mutasyonu (p.Asp202Asn) bildirilmemiş bir *RBM20* varyantı (p.Met905Ile) ve yine klinik önemi belirsiz *MYH7* varyantını (p.Arg1277Gln) taşıyan UQTS hastasında (H39) daha saptanmıştır. H39 hastasında klinik bulgular ağır olup EKG'deki QTc mesafesi 495 ms ve 1. derece AV Blok öyküsü mevcuttu. Kalpte mitral kapak prolapsusu ve orta dereceli mitral yetersizlik, Baba tarafında epilepsi öyküsü ile beraber baba ve babaannede bayılma öyküsü bulunmaktaydı.*KCNQ1* genindeki heterozigot splice bölge varyantı (p.Asp202Asn) daha önce UQTS ile ilişkilendirilmiş patojenik varyantlardan birisidir (Wang ve ark., 2002). *MYH7* varyantı literatürde hipertrofik kardiyomiyopati ile ilişkilendirilmiş olsa da (Zou ve ark., 2013) klinik önemi belirsizdir (dbSNP#rs397516195). Hastada saptanan *RBM20* varyantı ise literatüre daha önce bildirilmemiştir. *RBM20* geni, 'RNA bağlanma proteini-20 olarak adlandırılan ve kardiyak gelişiminde rol oynayan birtakım genlerin mRNA splicing aşamasında regülatörü olarak görev alan (TTN-Titin splicing'inin regülasyonu) bir protein kodlamaktadır (http: //www.uniprot.org/uniprot/Q5T481, Erişim Tarihi: 18.06.2016). R*BM20* geni mutasyonları, OMIM'de Dilate Kardiyomiyopati ile ilişkilendirilmiştir (OMIM#613172). Hastada *KCNQ1* mutasyonu ile beraber diğer klinik önemi belirsiz varyantların birlikteliği klinik fenotipi ağırlaştırıyor olabilir.

Çalışmamızda, *RBM20* geni varyantı belirlenen 2 hasta daha mevcuttur. H59 hastasında belirlenen *RBM20* varyantı (p.His797Leu) literatüre daha önce bildirilmemiştir ve varyant hastada tek başına mevcut olup annede de taşıyıcılık belirlenmiştir. Hastadaki QTc mesafesi 480 ms olarak bildirilmiş ve EKG'de yanısıra

sinüs taşikardisi ve ek bulgu olarak göğüs ağrısı öyküsü mevcuttur, hastanın semptomatik olduğu ve teyzede bayılma öyküsü ve annenin kuzeninin ani kardiyak ölüm nedeniyle ex olduğu bilgisi iletilmiştir. Hastada çalışılan panel genlerinden sadece *RBM20* geninde şüpheli varyantın belirlenmesi ve annede herhangi bir semptom bilgisi olmamasına rağmen aile öyküsü nedeniyle *RBM20* geninin de UQTS patogenezisinde rol oynayan önemli genlerden birisi olduğunu düşünmekteyiz. Diğer hastada (H34) saptanan *RBM20* geni varyantı (p.Gly259Val) daha önce literatüre bildirilmemiştir ve *KCNQ1* geni patojenik de-novo mutasyonu (p.Gly314Ser) (HGMD#CM960902) ve LDB3 geni literatüre bildirilmemiş p.Thr492Lys varyantı ile birarada saptanmıştır. Hastanın EKG'de ölçulen QTc mesafesi 480 ms olupek bulgu olarak ventriküler fibrilasyon, sinüs bradikardi ve göğüs ağrısı ve bayılma öyküsü mevcuttur. Hasta semptomatik olup hastalık seyrinin hızlı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, hastanın aile öyküsünde amcanın bebeklik döneminde nedeni bilinmeyen ani ölüm sebebiyle ex olduğu bilgisi iletilmiştir. *KCNQ1* geni mutasyonu hastada de-novo olarak bulunmuştur. Bu nedenle amcadaki ölüm sebebi olduğunu düşünmemekteyiz. *RBM20* ve *LDB3* geni varyantları ise literatüre daha önce bildirilmemiş olup her iki varyant için de babada taşıyıcılık belirlenmiştir. *KCNQ1* de-novo mutasyonu ile beraber *RBM20* geni ve *LDB3* geni varyantlarının birlikteliği nedeniyle hastada klinik fenotipin ağırlaştığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda *LDB3* geni varyantları, H34 hastası dışında 4 hastada daha belirlenmiştir. H14 hastasında klinik etkisi bilinmeyen *LDB3* varyantı (p.Ala248Thr) patojenik *KCNQ1* p.Arg366Gln mutasyonu (HGMD# CM002330) ve klinik önemi belirsiz *SCN1B* varyantlarıyla beraber saptanmıştır. *LDB3* geni ve *SCN1B* geni varyantlarının popülasyon frekansları %1'in altında bildirilmiştir (rs369419493 ve rs66876876). Hastada EKG'de QTc mesafesi 490 ms olarak bildirilmiş olup ek bulgu olarak nadir izole VES'leri (Ventriküler ekstrasistol) ve çarpıntısı mevcuttur. Hastalık seyrinin ise yavaş olduğu belirtilmiştir. *LDB3* geni, LIM Domain 3 olarak adlandırılan ve PDZ domaini içeren bir protein sentezlemektedir. PDZ motifleri, 80-120 amino asit rezidüleri halinde bulunan modüler protein-protein etkileşim domainleridir. PDZ

domaini içeren proteinler hücre iskeletinin bütünlüğünün sağlanmasında birbirleriyle ya da membran proteinlerinin hedeflenmesi ve kümelenmesinde rol oynayan proteinlerle etkileşirler. *LDB3* geni mutasyonları, OMIM'de dilate kardiyomiyopati, hipertrofik kardiyomiyopati, sol ventriküler noncompaction ve miyofibriller miyopati ile ilişkilendirilmiştir (OMIM#605906).

H20 hastasında, klinik önemi belirsiz ve toplum frekansları %1'in altında olan *LDB3* geni varyantı (p.Val118Met) ve *TNNI3* geni varyantı (p.Thr119Asn) bir arada saptanmıştır. Hastada epinefrin testi ile QTc mesafesi 440 ms olarak ölçülmüş, EKG'de yanısıra çentikli T dalgası, 1 adet VES ve sinüs bradikardi tespit edilmiş olup hastada bayılma ve epilepsi öyküsü, el ve ayaklarda kasılma mevcuttur. Ebeveynlere ait materyal gönderilmediği için taşıyıcılık bakılamamıştır. *TNNI3* geni, primer olarak kardiyak kas hücrelerinde eksprese olan ve Troponin kompleksinin 3 alt ünitesinden biri olan Troponin 1 proteinini kodlamaktadır. Troponin 1, çizgili kaslarda, ince filament regülatör kompleksinde, bir inhibitör olarak aktin-miyozin interaksiyonunu bloke eden ve bu sayede çizgili kasların gevşemesini sağlayan bir proteindir (http: //www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TNNI3, Erişim Tarihi: 18.06.2016). *TNNI3* geni mutasyonları literatürde, dilate kardiyomiyopati- 1FF ve 2A, ailesel hipertrofik kardiyomiyopati-7 ve ailesel restriktif kardiyomiyopati-1 ile ilişkilendirilmiştir (OMIM#613286 , 611880, 613690 ve 115210). Çalışmamızda diğer çalışılan hastalarda *TNNI3* geninde varyasyona rastlanmamıştır. *TNNI3* geninin UQTS ile ilişkisi bilinmemektedir. Literatürde, UQTS sendromunu da içeren kardiyolojik ritim bozuklukları ile ilişkili olan genlerde meydana gelen mutasyonların epileptik bulguların da nedeni olabileceğine dair yayınlar ekzom çalışmalarıyla beraber giderek artmaktadır (Richard ve ark., 2016).

Çalışmamızda H66 hastasında, *LDB3* geninde literatürde bildirilmemiş bir varyant (p.Trp490Arg) *CTNNA3* geninde literatüre bildirilmemiş bir çerçeve kayması varyant (p.Arg54Glufs*6) ve popülasyon frekansı sınırda bir değerde olan diğer bir yanlış anlamlı *CTNNA3* varyantı (p.Ser160Thr) ve *MYH6* geninde yine önemi belirsiz p.Asp208Asn varyantıyla beraber saptanmıştır. *CTNNA3* geni ve *LDB3* varyantları

anneden, *MYH6* geni varyantları ise babadan kalıtılmaktadır. *CTNNA3* genindeki heterozigot p.Arg54Glufs*6 delesyonu sonucu cDNA'da 160. nükleotid olan A delesyona uğramıştır, delesyon sonucunda ilk etkilenen amino asit 54. pozisyondaki arjinin (AGA)'dir. Arjinin, glutamik aside (GAG) dönüşmüş ve devamındaki dizide çerçeve kayması sonucu protein 6 amino asit sonra UAG (stop kodon) ile sonlanmıştır. Delesyon sonucu, 895 amino asitlik protein yerine 58 amino asitlik kısa bir protein ürünü oluşmaktadır. Tüm varyantların birlikteliğinde klinik fenotip ağırlaşıyor olabilir.

H80 hastasında ise, zararsız/muhtemel zararsız bildirilen *LDB3* varyantı (p.Val118Met) UQTS genleri arasında yer alan tartışmalı patojeniteli *SCN5A* geni varyantı (p.Ala572Asp) literatüre bildirilmemiş *AKAP9* geni varyantı (p.Arg454Lys) önemi belirsiz *SCN4A* geni varyantı (p.Glu908Lys) ile önemi belirsiz *RYR2* (p.Ser2683Leu) *DSP* (p.Arg1579Trp) ve *MYBPC3* (p.Glu119Lys) geni varyantlarıyla birlikte bulunmaktadır. Literatüre bildirilmemiş *AKAP9* dışındaki varyantlar için nadir allel frekansı %1'in altında bildirilmiştir. Hasta yenidoğan olup EKG'de QTc değeri 470 ms'dir, EKG'de ek olarak VES'leri mevcuttur. Ebeveynlerde hastalık için aile öyküsü belirtilmemiştir. Yapılan taşıyıcılık analizinde *SCN5A* ve *RYR2* geni varyantlarının anneden, *LDB3, AKAP9, SCN4A* ve *DSP* varyantlarının ise babadan kalıtıldığı saptanmıştır. Anneden ve babadan kalıtılan varyantların hastada bir arada bulunması kliniği ağırlaştırıyor olabilir.

MYBPC3 geni, sarkomerik bir protein olan miyozin bağlanma proteini C'yi kodlamaktadır. Literatürde *MYBP3* geni mutasyonları, dilate ve hipertrofik kardiyomiyopati ve sol ventriküler noncompaction ile ilişkilendirilmiştir (OMIM# 615396, 115197 ve 615396).

MYBPC3 geninin UQTS ile ilişkisi literatürde gösterilmemiştir. Çalışmamızda da ilişkisine dair herhangi güçlü bir bulguya rastlanmamıştır. 3 hastada daha klinik önemi bilinmeyen *MYBPC3* varyantı belirlenmiş olup 1 hastada literatüre bildirilmemiş *AKAP9* gen varyantı ile 1 hastada literatüre bildirilmemiş *GPD1L* ve önemi belirsiz DPP6

varyantı ile diğer hastada ise önemi belirsiz *SCN3B* ve *DPP6* varyantları ile birarada belirlenmiştir.

DSP geni varyantları ise çalışılan 92 hastanın 8'inde (%8,7) saptanmış olup belirlenen varyantların tamamı klinik önemi bilinmeyen ve toplum çalışmalarında görülme sıklığı %1'in altında olan varyantlardır. *DSP* varyantı, H75 ve H80 hastası dışında, H21 hastasında patojenik de-novo *RYR2* varyantı ile beraber, H36'da de-novo *KCNQ1* ve klinik önemi belirsiz *KCNQ1, KCNJ8, MYH6* ve *ANK2* varyantları ile birarada, H70'de klinik etkisi bilinmeyen ve görülme sıklıkları %1'in altında olan *CACNA1S, AKAP9, DSC2* ve *RYR1* varyantları ile birarada bulunmaktadır. H71 hastasında ise babadan kalıtılan *DSP* varyantı, klinik önemi belirsiz anneden kalıtılan *GNAI2* varyantı ile birlikte bulunmaktadır. Hastanın aile öyküsünde baba tarafında ani ölüm öyküsü nedeniyle babadan kalıtılan bir varyantın hastalık etkeni olması daha muhtemeldir. Bu nedenle *DSP* varyantı da UQTS kliniği için yeni aday genlerimizden birisidir. Bunu destekler şekilde, H54 hastasında da sadece *DSP* varyantı saptanmıştır. Panel kapsamında çalışılan diğer genlerde varyant belirlenmemiştir. *DSP* (desmoplakin) geni tarafından sentezlenen desmoplakin, ara filamentleri desmozomal plaklara bağlayan bir proteindir. Desmozomlar, komşu iki hücre arasındaki düğme şeklindeki sıkı bağlantılardır. Gende meydana gelen heterozigot mutasyonlar OMIM'de, aritmojenik sağ ventriküler displazi 8 ve dilate kardiyomiyopati (yün saç, keratoderma, diş agenezi ile beraber seyreden) ilişkilendirilmiştir (OMIM# 125647).

Tez çalışmasında Timothy Sendrom şüphesiyle yönlendirilen 2 bireyde de (H28 ve H79) CACNA1C geninde fenotiple uyumlu 2 varyant tespit edilmiştir. Her iki hastanın ortak özelliği EKG'de QTc uzaması dışında sindaktili bulgusudur. Timothy Sendromu, AKÖ için büyük risk teşkil eden belirgin QTc uzaması yanısıra sindaktili, konjenital kalp hastalığı, otizm ve diğer dismorfik özelliklerle karakterize olan bir hastalıktır (Splawski ve ark., 2004). H28 hastasında, de-novo tespit edilen p.Ala1521Gly mutasyonu daha önce literatüre bildirilmiş patojenik bir mutasyondur (Gillis ve ark., 2012) ve hastada tartışmalı patojeniteli p.Glu3931Lys varyantı ile beraber saptanmıştır. p.Glu3931Lys varyantı, HGMD'de kardiyak aritmisi ile ilişkisi bildirilmiş (Mohler ve

ark., 2004) olsa da ClinVar veritabanında patojenitesi tartışmalıdır (http: //www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/18060/, Erişim Tarihi: 18.06.2016). H79 hastasında belirlenen de-novo p.Cys1041Arg varyantı ise *CACNA1S* geninde belirlenen ve babadan kalıtılan c.5244_5244delC (p.Ser1749Profs*39) varyantı ile birarada bulunmaktadır. Saptanan delesyon daha önce literatüre bildirilmemiştir ve yapılan büyük toplum çalışmalarında da bildirilmemiştir. Delesyon sonucu cDNA'da 5244. pozisyondaki sitozin nükleotidi delesyona uğramıştır. Delesyon sonucunda ilk etkilenen amino asit 1749. pozisyondaki serin (TCC)'dir. Serin, prolin (CCA) amino asitine dönüşmüş ve devamındaki dizide çerçeve kayması sonucu protein 39 amino asit sonra tga (stop kodon) ile sonlanmıştır. Normalde 1873 amino asit sentezlenmesi gereken protein yerine, delesyon sonucu 1786 amino asitlik bir protein ürünü oluşmaktadır. *CACNA1C* ve *CACNA1S* varyantları literatüre daha önce bildirilmemiş ve ilk defa tez çalışmamızda tayin edilmişlerdir. H79 hastasının aile öyküsünde halada da bayılma öyküsü bildirilmiş ve hastada nöbet hikayesi bildirilmiştir. Bu nedenle *CACNA1C* geni yanısıra *CACNA1S* geninde belirlenen çerçeve kayması tipte belirlenen varyantın da UQTS patogenezinde rol oynayan etkili bir varyant olduğunu düşünmekteyiz. *CACNA1S* geninin UQTS ile ilişkisi daha önce literatüre bildirilmemiştir. *CACNA1C* geni, voltaj kapılı kalsiyum kanalının alfa-1 alt ünitesini kodlamaktadır. Kalsiyum kanalları, membran polarizasyonunun sağlanmasında, kalsiyum iyonlarının hücre içine girişine aracılık ederler. *CACNA1C* geni mutasyonları, OMIM'de Timothy Sendromu ve Brugada Sendromu 3 ile ilişkilendirilmiştir (OMIM#601005 ve 611875).*CACNA1S* geni, iskelet kas hücrelerinde, yavaş inaktive olan L-tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanalının alfa 1S alt ünitesini sentezlemektedir. *CACNA1S* geni mutasyonları OMIM'de hipokalemik peryodik paraliz (HPP) ve malign hipertermi duyarlılığı ve tirotoksik peryodik paraliz duyarlılığı ile ilişkilendirilmiştir (OMIM# 114208).

Çalışmamızda CACNA1S geni varyantları çalışılan 3 hastada daha belirlenmiştir (H11, H43 ve H70). H11 hastasında saptanan tanımlanmamış *CACNA1S* p.Asn1027Ile varyantı, *KCNQ1'*de literatüre bildirilmemiş p.Leu156Pro varyantı ile beraber saptanmıştır. H43 hastasında belirlenen literatüre bildirilmemiş p.Met493Thr varyantı,

zararsız/muhtemel zararsız olarak bildirilen *ANK2* p.Ile3285Thr varyantı ile bir arada saptanmıştır. Anne tarafında ani ölüm öyküsü mevcuttur ve H43'deki varyantların ikisi de anne tarafından kalıtılmaktadır. Bu sonuç, *CACNA1S* geninin yeni bir UQTS aday geni olduğunu desteklemektedir.

Çalışmamızda, *TMPO* geninde tanımlanmamış heterozigot varyantı (p.Ser415Ala) 1 hastada tek başına saptanmıştır. Hastada varyantın tek başına bulunması, *TMPO* geninin yeni bir UQTS aday geni olduğunu desteklemektedir. Çalışmada, H86 hastasında ise önemi belirsiz *TMPO* varyantı, patojenik *KCNQ1* ve tartışmalı patojeniteli *DSG2* varyantıyla beraber belirlenmiştir. *TMPO* geni, nükleer laminanın bütünlüğünün korunmasında önemi olan ve nükleusta yerleşimli bir timopoietin proteinini (LAP2α) kodlamaktadır (OMIM#188380). *TMPO* geni heterozigot mutasyonları OMIM'de dilate kardiyomiyopati ilişkilendirilmiştir (OMIM#613740).

Literatürde, genoma dayalı asosiyasyon çalışmaları, *NOS1AP* geninin genel bir popüasyonda QTc aralığının uzamasında modifiye edici bir gen olduğunu ve UQTS'li hastalarda ani ölüm riskini etkilediği bildirilmiştir (Crotti ve ark., 2009; Kolder ve ark., 2015). Fakat çalışmamızda panel kapsamında yer almasına rağmen *NOS1AP* geninde herhangi bir varyanta rastlanmamıştır.

Genetik alanındaki son yıllarda yeni nesil sekanslama teknolojilerindeki ilerlemeler kardiyolojik hastalıkların moleküler mekanizmalarının çözümlenmesine büyük oranda katkı sağlamıştır. Uzun QT sendromu sıklığı 1/2000 ile 1/5000 arasında değişen (Priori ve ark., 2013) ve yaşamı tehdit eden aritmiler ve ani kardiyak ölüm riskleri nedeniyle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı problemidir. Hastalık, bir ve/veya birden fazla farklı genlerdeki mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Aynı genetik değişiklik, hastalar arasında bile değişken fenotip oluşturabilmektedir (Priori ve ark., 1999). UQTS'nin hastalar arasında değişken ifadesi ve hastalığın heterogenik kalıtımı çoğu zaman, risk sınıfı belirteçlerinin tayinini oldukça güçleştirmektedir. Ayrıca, hastalık için herhangi bir klinik belirti göstermeyen ya da sınırda QTc mesafesi taşıyan olguların sayısı nispeten yüksektir (%10-35). Vakaların

%4-6'sı ise birbirleriyle akraba olmayan ve hastalık belirtisi göstermeyen ya da hastalığının farkında olmayan ebeveynlerden, iki bağımsız mutasyonu kalıtabilmektedir (Napolitano ve ark., 2005). Genetik testler, klinik olarak etkilenmiş hastanın tanısını koymada yararlanılan en önemli araçlardan birisidir. Bu gibi hastalıklarda başarılı bir tedavi için altta yatan genetik bozukluğun belirlenmesi hastaya yaklaşımda en önemli basamaklardan biridir. UQTS için şimdiye kadar 15 gen tanımlanmış olmasına rağmen, hastalığın heterojen kalıtımı nedeniyle halen açıklanamayan ve herhangi bir mutasyonun belirlenmediği %20-25'lik bir açık bulunmaktadır (Schwartz ve ark., 2013a). Yapılan tez çalışmamızda gerçekleştirilen kardiyolojik ritm bozukluklarıyla ilişkili 68 genlik hedef panelimiz ile yeni aday UQTS genlerini belirleyip, varyant saptanmayan birey oranını %10,89'a indirgeyebildik. Ayrıca, çalışmamızda hasta ve ailelerde kalıtılan ve hastalık etkeni olan patojenik ya da şüpheli varyantlar tespit edilerek raporlandırılmış ve sonuçlar hasta ailesi ve hekimleriyle paylaşılmıştır. Bu sayede, hastalığın iyon kanal bozukluğuna özgü uygun tedavi seçenekleriyle kontrol altına alınması, hasta ve ailelerdeki risk altındaki gizli taşıyıcıların belirlenerek ani ölüm gerçekleşmeden önlem alınması ve hastalığın mevcut tedavi seçenekleriyle kontrol altına alınması sağlanmıştır. Hastalığın genetik mekanizmalarının aydınlatılmasının en önemli hedeflerinden birisi de bireye özgü tedavi stratejilerinin geliştirilebilmesidir. Hastaya özgü tedavi seçeneği sunabilmek ve kısa sürede tedavisini sağlayabilmek için iyi bir modele ihtiyaç vardır. Hastaya özgül uyarılmış pluripotent kök hücrelerden (UPKH) farklılaştırılmış kardiyomiyositler, son yıllarda uzun QT sendromunu da içine alan kalıtsal kardiyak aritmilerin ve bazı kardiyomyopatilerin modellemesinde kullanılmaktadırlar (Itzhaki ve ark., 2013). UPKH'lere dayalı genetik kardiyak hastalıkların modellenmesi hastalık fizyopatolojisi, kişisel tedavi ve ilaç taramaları için yeni bir çağ açmıştır (Passier ve ark., 2016).

UQTS probandının akrabalarındaki risk profillerinin de belirlenmesi de oldukça önemlidir. Nihai hedef, gelecekteki ters klinik bulguların önüne geçerek yaşayan akrabalarda ani kardiyak ölümlerin önüne geçebilmektir (Yukiko ve ark., 2016). Ani kardiyak ölüm vakalarında, post mortem olarak ölüm nedeni açıklanamıyorsa, özelleşmiş multidisipliner bir klinik yaklaşımla post-mortem kandan yapılan genetik

çalışma ile etken varyantların tespiti, ölüm nedeninin %30'unu açıklayabilmektedir (Semsarian ve ark., 2015).

Tez çalışmasında belirlenen tüm varyantlar, Türk toplumundaki görülme sıklıklarının belirlenmesi için Tübitak-Bilgem'den sorgulanmıştır. Tübitak'ta yapılan ekzom çalışmaları sonucu değerlendirilen 1230 bireyde İlgili varyantların taşıyıcılık durumları, hasta kimlikleri ve endikasyon bilgileri gizli tutularak tez çalışmamız için paylaşılmıştır. Tez çalışmamızda değerlendirilen 68 panel geni + 4 ekzom geninde belirlenen toplam 172 farklı tipte varyantın 65 tanesi, Tübitak-Bilgem sorgusunda tespit edilmiştir. *ANK2* geninde belirlenen ve diğer toplumlarda sıklığı 0,0082 olarak bildirilen c.9854T>C (p.Ile3285Thr) varyantı, Türk toplumunda taranan 1230 bireyin 60 tanesinde tespit edilmiş olup toplumumuza özgü frekansı %4,9'dür. Aynı şekilde, *AKAP9* geninde belirlenen tartışmalı patojeniteli c.10459G>A (p.Glu3487Lys) varyantı için, diğer toplumlarda 0,0005 olarak bildirilen görülme sıklığı, toplumuzda nispeten daha yüksektir (%1,2). *DSP* genindeki patojenitesi tartışmalı olan c.88G>A (p.Val30Met) varyasyonu da diğer toplumlarda %0,3, toplumuzda ise %1,9 sıklıkta tespit edilmiştir. Uzun QT genleri arasında yer alan *KCNQ1* genindeki patojenitesi kesin olmayan c.1179G>T (p.Lys393Asn) varyantı için diğer populasyonlardaki minör allel frekansı 0,0011 olarak bildirilmiş olup, toplumumuzda % 1,7 sıklıkta belirlenmiştir. *KCNE2* geninde saptanan c.22A>G (p.Thr8Ala) varyantı için de toplumumuzdaki görülme sıklığı % 1,9 olarak belirlenmiştir (Diğer toplumlardaki minör allel frekansı 0,0038). *CAV3* geninde tespit edilen patojenitesi tartışmalı c.233C>T (p.Thr78Met) varyantı da Türk toplumunda çalışılan 1230 bireyin 18'inde (%1,4) bildirilmiştir (Diğer toplumlarda bildirilen sıklık %0,3'tür). *KCNJ8* geninde tayin edilen önemi belirsiz c.263C>G varyantı, toplumumuzda %1,8 sıklıkta görülüyorken diğer toplumlarda %0,03 sıklıkla bildirilmiştir. Diğer toplumlarda görülme sıklığı %1,1 olarak bildirilen *CTNNA3* geni c.478T>A (p.Ser160Thr) varyantı için toplumumuzda belirlenen sıklık %8,6'dır (Tübitak sorgusunda incelenen 1230 bireyin 107'sinde İlgili varyant taşıyıcılığı saptanmıştır). *DSP* geni c.6208G>A (p.Asp2070Asn) varyantı da toplumuzda %3 sıklıkla görülen fakat diğer toplumlarda %0,39 sıklıkla bildirilmiş olan bir varyanttır.

TMPO geni c.1957C>T (p.Leu653Phe) varyantı da toplumuzda diğer toplumlara kıyasla nispeten yüksek görülen bir varyanttır (Tübitak-Bilgem sorgusunda %1,3 sıklıkla belirlenmiş olan varyant literatürde %0,06 sıklıkla tanımlanmıştır). Diğer toplumlarda %0,1 sıklıkla bildirilen *DSC2* geni c.1787C>T (p.Ala596Val) varyantının da toplumumuzda %2,3 sıklıkla görüldüğü tespit edilmiştir. İlginç şekilde, tez çalışmamızda *SLMAP* geninde saptanan c.432_437delACCATT (p.Pro145_Leu146del) varyantı, literatürde daha önce bildirilmemiş ve varyanta özgü toplum çalışması bildirilmemiştir. Fakat Tübitak-Bilgem sorgusunda incelenen 1230 bireyin 8'inin ilgili varyant için taşıyıcı olduğu gözlenmiştir (%0,65). Tez çalışmamızda tespit edilen ve Tübitak'ta sıklıkları sorgulanan diğer varyantların görülme sıklıkları ise, diğer toplumlarla karşılaştırıldığında nispeten benzerdir.

Tez çalışmamızla belirlenen şüpheli varyantların mutasyonel etkilerinin belirlenmesi ve fenotiple kesin olarak ilişkilendirilebilmesi için fizyopatogenezinin ortaya konması ve bir model oluşturulması gerekli ve elzemdir. Genotip-fenotip ilişkilerinin tam olarak aydınlatılabilmesi için, gelişmiş translasyonel araştırma çalışmaları gerekmektedir ve bir sonraki aşama olarak çalışma grubumuz tarafından planlanmıştır.

Bu bilgiler ışığında, çok yakın bir gelecekte hastaya uygulanacak genotip spesifik ya da mutasyon spesifik farmakolojik tedavilerin uygulanmasıyla hastalığın büyük oranda kontrol altına alınması sağlanabilecektir.

UQTS'nin genetik karmaşıklığı, multigenik kalıtımı, hastalık nedeni açıklanamayan ve çalışılan UQTS genlerinde mutasyonu rastlanmayan birey oranının yüksek olması (%20-25) dolayısıyla, yapılan genetik testlerin sadece güncel 15-20 UQTS geniyle sınırlandırılmayıp literatürde diğer kalıtsal kanalopatilerle ilişkilendirilmiş olan genlerde de genetik test yapılmasının elzem ve gerekli olduğunu düşünmekteyiz. Yapılan tez çalışmasında kullanılan 68 genlik panelimiz ile hastalık etkeni bulunamayan birey oranı %10,89'da düşmüştür. Çalışılan kardiyak panel oldukça özgündür, tanı hassasiyeti çok yüksektir. Yapılan tez çalışması, UQTS hastalarında Türkiye'de bu derece özgün ve

büyük bir panel ile yapılan ilk çalışmadır. Bulgularımız, hastalığın patogenezinin anlaşılmasında literatüre önemli katkılar sağlamaktadır; ayrıca ileri fonksiyon çalışmaları ve kişiye özgü tedavi yaklaşımları için öncül nitelik taşımaktadır.

8. KAYNAKLAR

Abbott GW, Sesti F, Splawski I, Buck ME, Lehmann MH, Timothy KW, Keating MT, and Goldstein SAN. MiRP1 Forms IKr Potassium Channels with HERG and Is Associated with Cardiac Arrhythmia. Cell.1999;97(2): 175–187.

Abbott GW. The KCNE2 K(+) channel regulatory subunit: Ubiquitous influence, complex pathobiology. Gene. 2015;569(2): 162-72.

Ackerman MJ, Tester DJ, Porter CJ. Swimming, a gene-specific arrhythmogenic trigger for inherited uzun QT syndrome. MayoClin Proc. 1999;74: 1088–94.

Ackerman MJ, Khositseth A, Tester DJ, Hejlik JB, Shen WK, Porter CB. Epinephrine-induced QT interval prolongation: a gene-specific paradoxical response in congenital long QT syndrome. MayoClin Proc. 2002;77: 413–21.

Ahern GP, Hsu SF, Klyachko VA, Jackson MB. Induction of persistent sodium current by exogenous and endogenous nitric oxide. J Biol Chem. 2000;275: 28810–28815.

Ahn AH, Freener CA, Gussoni E, Yoshida M, Ozawa E, Kunkel LM. The three human syntrophin genes are expressed in diverse tissues, have distinct chromosomal locations, and each bind to dystrophin and its relatives. J BiolChem. 1996;271(5): 2724–30.

Anderson CL, Delisle BP, Anson BD, Kilby JA, Will ML, Tester DJ, Gong Q, Zhou Z, Ackerman MJ, January CT. Most LQT2 mutations reduce Kv11.1 (hERG) current by a class 2 (trafficking-deficient) mechanism. Circulation. 2006;113(3): 365–373.

Antzelevitch C. Molecular genetics of arrhythmias and cardiovascular conditions associated with arrhythmias. J Cardiovasc Electrophysiol. 2003;14: 1259–1272.

Ashford ML, Bond CT, Blair TA, Adelman JP. Cloning and functional expression of a rat heart KATP channel. Nature.1994;370: 456-459.

Aziz PF, Wieand TS, Ganley J, Henderson J, Patel AR, Iyer VR, Vogel RL, McBride M, Vetter VL, Shah MJ. Genotype- and mutation site-specific QT adaptation during exercise, recovery, and postural changes in children with long-QT syndrome. Circ Arrhythm Electrophysiol. 2011;4: 867–873.

Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, Tabor HK, Emond MJ, Nickerson DA, Shendure J. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. Nat Rev Genet. 2011;12(11): 745–755.

Barros F, Domínguez P. and Pilar de la Peña. Cytoplasmic Domains and Voltage-Dependent Potassium Channel Gating Front Pharmacol. 2012;3: 49.

Barsheshet A, Goldenberg I, O-Uchi J, Moss AJ, Jons C, Shimizu W, Wilde AA, McNitt S, Peterson DR, Zareba W, Robinson JL, Ackerman MJ, Cypress M, Gray DA, Hofman N, Kanters JK, Kaufman ES, Platonov PG, Qi M, Towbin JA, Vincent GM, Lopes CM. Mutations in cytoplasmic loops of the KCNQ1 channel and the risk of life-threatening events: implications for mutation-specific response to b-blocker therapy in type 1 long-QT syndrome. Circulation. 2012;125: 1988–1996.

Baskar S, Aziz PF. Genotype-phenotype correlation in long QT syndrome. Global Cardiology Science and Practice. 2015: 26.

Becker DE. Fundamentals of Electrocardiography Interpretation. Anesthesia Progress. 2006;53(2): 53–64.

Bektaşoğlu G, Yılmaz MB, Turgut OO, Tandoğan İ. Uzun QT sendromları. Cumhuriyet Tıp Dergisi. 2009;31: 487-501.

Bennett PB, Yazawa K, Makita N, George AL Jr. Molecular mechanism for an inherited

cardiac arrhythmia. Nature. 1995;376: 683-685.

Berchtold MW, Egli R, Rhyner JA., Hameister H, Strehler EE. Localization of the human bona fide calmodulin genes CALM1, CALM2, and CALM3 to chromosomes 14q24-q31, 2p21.1-p21.3, and 19q13.2-q13.3. Genomics. 1993;16: 461-465.

Berger SM, Bartsch D.The role of L-type voltage-gated calcium channels Cav1.2 and Cav1.3 in normal and pathological brain function. Cell and Tissue Research. 2014;357(2): 463-76.

Bianchi L, Shen Z, Dennis AT, Priori SG, Napolitano C, Ronchetti E, Bryskin R, Schwartz PJ, Brown AM. Cellular dysfunction of LQT5-minK mutants: abnormalities of IKs, IKr and trafficking in long QT syndrome. Hum Mol Genet. 1999;8(8): 1499-1507.

Biesecker LG, Shianna KV, Mullikin JC. Exome sequencing: the expert view, Genome Biol. 2011 Sep 14;12(9): 128.

Bossuyt J, Taylor BE, James-Kracke M, Hale CCEvidence for cardiac sodium-calcium exchanger association with caveolin-3. FEBS Lett. 2002;511(1-3): 113-7.

Blumenstein Y, Kanevsky N, Sahar G, Barzilai R., Ivanina T, Dascal N. A novel long N-terminal isoform of human L-type Ca(2+) channel is up-regulated by protein kinase C. J. Biol. Chem. 2002;277: 3419-3423.

Brink PA, Crotti L, Corfield V, Goosen A, Durrheim G, Hedley P, Heradien M, Geldenhuys G, Vanoli E, Bacchini S, Spazzolini C, Lundquist AL, Roden DM, George AL Jr, Schwartz PJ. Phenotypic Variability and Unusual Clinical Severity of Congenital Long-QT Syndrome in a Founder Population. Circulation.2005;112(17): 2602–2610.

Catterall WA, Perez-Reyes E, Snutch TP, Striessnig J. International Union of

Pharmacology XLVIII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated calcium channels. Pharmacological Reviews. 2005;57(4): 411–25.

Chen L, Marquardt ML, Tester DJ, Sampson KJ, Ackerman MJ, Kass RS. Mutation of an A-kinase-anchoring protein causes long-QT syndrome. ProcNatlAcadSci U S A. 2007;104(52): 20990-5.

Chern-En Chiang Congenital and acquired Long QT Syndrome: Current Concepts and Management. Cardiology in Review. 2004;12: 222-34.

Chevillard C, Attali B, Lesage F, Fontes M, Barhanin J, Lazdunski M, Mattei MG Localization of a potassium channel gene (KCNE1) to 21q22.1-q22.2 by in situ hybridization and somatic cell hybridization. Genomics. 1993;15(1): 243-5.

Chial H. DNA sequencing technologies key to the Human Genome Project. Nature Education. 2008;1(1): 219.

Chin D, Means AR. Calmodulin: a prototypical calcium sensor. Trends Cell Biol. 2000;10(8): 322–8.

Chockalingam P, Crotti L, Girardengo G, Johnson JN, Harris KM, van der Heijden JF, Hauer RNW, Beckmann BM, Spazzolini C, Rordorf R, Rydberg A, Clur SAB, Paed FCP, Fischer M, van den Heuvel F, Kaab S, Blom NA, Ackerman MJ, Schwartz PJ, Wilde AAM. Not all beta-blockers are equal in the management of long QT syndrome types 1 and 2: higher recurrence of events under metoprolol. J Am Coll Cardiol. 2012;2092: 2099.

Choi M, Scholl UI, Ji W, Liu T, Tikhonova IR, Zumbo P, Nayir A, Bakkaloğlu A, Ozen S, Sanjad S, Nelson-Williams C, Farhi A, Mane S, Lifton RP. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing Proc Natl Acad Sci U S A.2009;106 (45): 19096-19101.

Christel C, Lee A. Ca2+-dependent modulation of voltage-gated Ca2+ channels.

Biochimica Et BiophysicaActa. 2012;1820(8): 1243–52.

Clancy CE. Inherited and Acquired Vulnerability to Ventricular Arrhythmias: Cardiac Na+ and K+ Channels. Physiological Reviews.2005;85(1): 33-47.

Cohen AW, Hnasko R, Schubert W, Lisanti MP. Role of caveolae and caveolins in health and disease. Physiological Reviews. 2004;84(4): 1341-79.

Cronk LB, Ye B, Kaku T, Tester DJ, Vatta M, Makielski JC, Ackerman MJ. Novel mechanism for sudden infant death syndrome: persistent late sodium current secondaryto mutations in caveolin-3. Heart Rhythm. 2007;4(2): 161-166.

Crotti L, Monti MC, Insolia R, Peljto A, Goosen A, Brink PA, Greenberg DA, Schwartz PJ, George AL Jr. NOS1AP is a genetic modifier of the long-QT syndrome. Circulation. 2009 Oct 27;120(17): 1657-63.

Crotti L, Johnson CN, Graf E, De Ferrari GM, Cuneo BF, Ovadia M, Papagiannis J, Feldkamp MD, Rathi SG, Kunic JD et al. Calmodulin mutations associated with recurrent cardiac arrest in infants. Circulation. 2013;127: 1009–1017.

Cunha SR, Le Scouarnec S, Schott JJ, Mohler PJ. Exon organization and novel alternative splicing of the human ANK2 gene: implications for cardiac function and human cardiac disease. Journal of molecular and cellular cardiology. 2008;45(6): 724-34.

Curran ME, Splawski I, Timothy KW, Vincent GM, Green ED, Keating MT. A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. Cell.1995;80(5): 795-803.

Davies NP, Imbrici P, Fialho D, Herd C, Bilsland LG, Weber A, Mueller R, Hilton-Jones D, Ealing J, Boothman BR, Giunti P, Parsons LM, Thomas M, Manzur AY, Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F, Chinnery PF, Rose M, Kullmann DM, Hanna MG

Andersen-Tawil syndrome: new potassium channel mutations and possible phenotypic variation. Neurology. 2005; 65: 1083-1089.

Derst C, Karschin C, Wischmeyer E, Hirsch JR, Preisig-Muller R, Rajan S, Engel H, Grzeschik KH, Daut J, Karschin A. Genetic and functional linkage of Kir5.1 and Kir2.1 channel subunits. FEBS Lett. 2001;491: 305-311.

Dixon RE, Moreno CM, Yuan C, Opitz-Araya X, Binder MD, Navedo MF, Santana LF. Graded Ca2+/calmodulin-dependent coupling of voltage-gated CaV1.2 channels. eLife. 2015;4: e05608.

Eber SW, Gonzalez JM, Lux ML, Scarpa AL, Tse WT, Dornwell M, Herbers J, Kugler W, Ozcan R, Pekrun A, Gallagher PG, Schröter W, Forget BG, Lux SE. Ankyrin-1 mutations are a major cause of dominant and recessive hereditary spherocytosis. Nature Genetics.1996;13(2): 214-8.

Einthoven W. The string galvanometer and the measurement of the action currents of the heart. Nobel lecture. Physiology or Medicine. 1925,pp.1922-1941.

Egan AN, Schlueter J, Spooner DM. Applications of next-generation sequencing in plant biology, American Journal of Botany. Am J Bot. 2012 Feb;99(2): 175-85.

Fernandes-Rosa FL, Amar L, Tissier F, Bertherat J, Meatchi T, Zennaro MC, Boulkroun S. Functional histopathological markers of aldosterone producing adenoma and somatic KCNJ5 mutations. Mol Cell Endocrinol. 2015 Jun 15;408: 220-6.

Flynn GE, Johnson JP. &Zagotta WN. Cyclic nucleotide-gated channels: shedding light on the opening of a channel pore. Nat Rev Neurosci. 2001 Sep;2(9): 643-51.

Fulizio L, Nascimbeni AC, Fanin M, Piluso G, Politano L, Nigro V, Angelini C. Molecular and Muscle Pathology in a Series of Caveolinopathy Patients. Hum Mutat. 2005 Jan;25(1): 82-9.

Funasako M, Aiba T, Ishibashi K, Nakajima I, Miyamoto K, Inoue Y, Okamura H, Noda T, Kamakura S, Anzai T, Noguchi T,Yasuda S, Miyamoto Y, Fukushima Kusano K, Ogawa H, Shimizu W. Pronounced Shortening of QT Interval With Mexiletine Infusion Test in Patients With Type 3 Congenital Long QT Syndrome. Circ J. 2016 Jan 25;80(2): 340-5.

Gazzerro E, Sotgia F, Bruno C, Lisanti MP, Minetti C. Caveolinopathies: from the biology of caveolin-3 to human diseases. Eur J Hum Genet. 2010 Feb;18(2): 137-45.

Gavillet B, Rougier JS, Domenighetti AA, Behar R, Boixel C, Ruchat P, Lehr HA, Pedrazzini T, Abriel H. Cardiac sodium channel Nav1.5 is regulated by a multiprotein complex composed of syntrophins and dystrophin. Circ Res. 2006;99: 407–414.

George AL Jr, Varkony TA, Drabkin HA, Han J, Knops JF, Finley WH, Brown GB, Ward DC, Haas M.Assignment of the human heart tetrodotoxin-resistant voltage-gated Na(+) channel alpha-subunit gene (SCN5A) to band 3p21. Cytogenet Cell Genet. 1995;68(1-2): 67-70.

Gillis J, Burashnikov E, Antzelevitch C, Blaser S, Gross G, Turner L, Babul-Hirji R, Chitayat D. Long QT, syndactyly, joint contractures, stroke and novel CACNA1C mutation: expanding the spectrum of Timothy syndrome. Am J Med Genet A. 2012 Jan;158A(1): 182-7.

Gima K, and Rudy Y. Ionic Current Basis of Electrocardiographic Waveforms: a Model Study. Circ Res. 2002 May 3;90(8): 889-96.

Glaaser IW, Kass RS, Clancy CE. Mechanisms of Genetic Arrhythmias: From DNA to ECG.” Prog Cardiovasc Dis. 2003 Nov-Dec;46(3): 259-70.

Goldenberg I, Moss AJ, Zareba W, McNitt S, Robinson JL, Qi M, Towbin JA, Ackerman MJ, Murphy L.Clinical Course and Risk Stratification of Patients Affected with the Jervell and Lange-Nielsen Syndrome. J Cardiovasc Electrophysiol. 2006 Nov;17(11): 1161-8.

Goldenberg I, Zareba W, Moss AJ. Long QT Syndrome. Current Problems in Cardiology. 2008 Nov;33(11): 629–694.

Gratton JP, Bernatchez P, Sessa WC. Caveolae and caveolins in the cardiovascular system. Circ. Res. 2004;94(11): 1408–17.

Hashemi SM, Hund TJ, Mohler PJ. Cardiac ankyrins in health and disease. J Mol Cell Cardiol. 2009 Aug;47(2): 203-9.

He C, Yan X, Zhang H, Mirshahi T, Jin T, Huang A, Logothetis DE. Identification of critical residues controlling G protein-gated inwardly rectifying K+ channel activity through interactions with the beta-gamma subunits of G proteins. J Biol Chem. 2002 Feb 22;277(8): 6088-96.

Hedley PL, Jørgensen P, Schlamowitz S, Wangari R, Moolman-Smook J, Brink PA, Kanters JK, Corfield VA, Christiansen M. The Genetic Basis of Long QT and Short QT Syndromes: A Mutation Update. Hum Mutat. 2009 Nov;30(11): 1486-511.

Hibino H1, Inanobe A, Furutani K, Murakami S, Findlay I, Kurachi Y. Inwardly Rectifying Potassium Channels: Their Structure, Function, and Physiological Roles. Physiol Rev. 2010 Jan;90(1): 291-366.

Imboden M, Swan H, Denjoy I, Van Langen IM, Latinen-Forsblom PJ, Napolitano C, et al. Female predominance and transmission distortion in the long-QT syndrome. N

Engl J Med. 2006 Dec 28;355(26): 2744-51.

Itoh T, Tanaka T, Nagai R, Kamiya T, Sawayama T, Nakayama T, Tomoike H, Sakurada H, Yazaki Y, Nakamura Y. Genomic organization and mutational analysis of HERG, a gene responsible for familial long QT syndrome. Hum Genet. 1998 Apr;102(4): 435-9.

Itzhaki I, Maizels L, Huber I, Zwi-Dantsis L, Caspi O, Winterstern A, Feldman O, Gepstein A, Arbel G, Hammerman H, Boulos M, Gepstein L. Modelling the long QT syndrome with induced pluripotent stem cells. Nature. 2011 Mar 10;471(7337): 225-9.

Jervell A, Lange-Nielsen F. Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the Q-T interval and sudden death. Am Heart J. 1957 Jul;54(1): 59-68.

Jiang C1, Atkinson D, Towbin JA, Splawski I, Lehmann MH, Li H, Timothy K, Taggart RT, Schwartz PJ, Vincent GM, et al. Two long QT syndrome loci map to chromosomes 3 and 7 with evidence for further heterogeneity. Nat Genet. 1994 Oct;8(2): 141-7.

Johnson JN, Ackerman MJ. Return to play? Athletes with congenital long QT syndrome. Br J Sports Med. 2013;47: 28–33.

Jongbloed RJE, Wilde AAM, Doevendans PA, Düren DR, Hauer RN, van Langen IM, et al. Auditory stimuli as a trigger for arrhythmic events differentiate HERG-related (LQTS) patients from KVLQT1-related patients (LQTS). J Am Coll Cardiol. 1999;33: 327–32.

Kapplinger JD, Tester DJ, Salisbury BA, Carr JL, Harris-Kerr C, Pollevick GD, Wilde AA, Ackerman MJ. Spectrum and prevalence of mutations from the first 2,500 consecutive unrelated patients referred for the FAMILION long QT syndrome genetic test. Heart Rhythm. 2009;6: 1297–303.

Kass RS, and Moss AJ. Mutation-specific pharmacology of the long QT syndrome. In Basis and treatment of cardiac arrhythmias. Handbook of Experimental Pharmacology, R.S. Kass and C.E. Clancy, editors. Springer-Verlag, Berlin. 2006;171: 287–304.

Khositseth A, Tester DJ, Will ML, Bell CM, Ackerman MJ. Identification of a common genetic substrate underlying postpartum cardiac events in congenital long QT syndrome. Heart Rhythm. 2004;1: 60–64.

Kim EY, Rumpf CH, Van Petegem F, Arant RJ, Findeisen F, Cooley ES, Isacoff EY, Minor DL. Multiple C-terminal tail Ca(2+)/CaMs regulate Ca(V) 1.2 function but do not mediate channel dimerization. The EMBO Journal. 2010 Dec; 29(23): 3924–38.

Kitamoto T, Suematsu S, Matsuzawa Y, Saito J, Omura M, Nishikawa T. Comparison of cardiovascular complications in patients with and without KCNJ5 gene mutations harboring aldosterone-producing adenomas. J Atheroscler Thromb. 2015;22(2): 191-200.

Kline CF1, Mohler PJ. Weighing in on molecular anchors: the role of ankyrin polypeptides in human arrhythmia. Expert Rev Cardiovasc Ther. 2006 Jul;4(4): 477-85.

Klug WS and Cummings MR, Concept of Genetics, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 2000, pp.745.

Knief C. Analysis of plant microbe interactions in the era of next generation sequencing technologies. Front Plant Sci. 2014; 5: 216.

Kolder IC, Tanck MW, Postema PG, Barc J, Sinner MF, Zumhagen S, Husemann A, Stallmeyer B, Koopmann TT, Hofman N, Pfeufer A, Lichtner P, Meitinger

T, Beckmann BM, Myerburg RJ, Bishopric NH, Roden DM, Kääb S, Wilde AA, Schott JJ, Schulze-Bahr E,Bezzina CR. Analysis for Genetic Modifiers of Disease Severity in Patients With Long-QT Syndrome Type 2. Circ Cardiovasc Genet. 2015 Jun;8(3): 447-56.

Krumerman A, Gao X, Bian JS, Melman YF, Kagan A, McDonald TV. An LQT mutant minK alters KvLQT1 trafficking Am J Physiol Cell Physiol. 2004;286(6): C1453–C1463.

Kubo Y, Adelman JP, Clapham DE, Jan LY, Karschin A, Kurachi Y, Lazdunski M, Nichols CG, Seino S, Vandenberg CA. International Union of Pharmacology. LIV. Nomenclature and molecular relationships of inwardly rectifying potassium channels. Pharmacol Rev. 2005 Dec;57(4): 509–26.

Larsen LA, Andersen PS, Kanters J, et al. Screening for mutations and polymorphisms in the genes KCNH2 and KCNE2 encoding the cardiac HERG/MiRP1 ion channel: implications for acquired and congenital long Q-T syndrome. Clin Chem. 2001;47(8): 1390–1395.

Lehmann MH, Timothy KW, Frankovich D, Fromm BS, Keating M, Locati EH, Taggart RT, Towbin JA, Moss AJ, Schwartz PJ, Vincent GM. Age-gender influence on the rate-corrected QT interval and the QT-heart rate relation in families with genotypically characterized long QT syndrome. J Am coll Cardiol 1997;29: 93-9.

Levine E, Rosero SZ, Budzikowski AS, Moss AJ, Zareba W, Daubert JP. Congenital long QT syndrome: considerations for primary care physicians. Cleve Clin J Med. 2008 Aug;75(8): 591-600.

Li RG, Wang Q, Xu YJ, Zhang M, Qu XK, Liu X, Fang WY, Yang YQ. Mutations of the SCN4B-encoded sodium channel β4 subunit in familial atrial fibrillation. Int J Mol Med. 2013 Jul;32(1): 144-50.

Li Z, Huang J, Zhao J, Chen C, Wang H, Ding H, Wang DW1, Wang DW. Rapid

molecular genetic diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy by semiconductor sequencing J Transl Med. 2014 Jun 17;12: 173.

Liao P, Yong TF, Liang MC, Yue DT, Soong TW. Splicing for alternative structures of Cav1.2 Ca2+ channels in cardiac and smooth muscles. Cardiovasc Res. 2005 Nov 1;68(2): 197-203.

Lin JW, Wyszynski M, Madhavan R, Sealock R, Kim JU, Sheng M.Yotiao, a novel protein of neuromuscular junction and brain that interacts with specific splice variants of NMDA receptor subunit NR1. J Neurosci. 1998 Mar 15;18(6): 2017-27.

Lin MT, Mosier SL, Thiess M, Beierl KF, Debeljak M, Tseng LH, Chen G, Yegnasubramanian S, Ho H, Cope L, Wheelan SJ, Gocke CD, Eshleman JR. Clinical validation of KRAS, BRAF, and EGFR mutation detection using next-generation sequencing. Am J Clin Pathol. 2014 Jun;141(6): 856-66.

Lipscombe D, Helton TD, Xu W. L-type calcium channels: the low down. Journal of Neurophysiology. 2004 Nov; 92(5): 2633–41.

Locati EH, Zareba W, Moss AJ, Schwartz PJ, Vincent GM, Lehmann MH, Towbin JA, Priori SG, Napolitano C, Robinson JL, Andrews M, Timothy K, Hall WJ. Age- and sex-related differences in clinical manifestations in patients with congenital long-QT syndrome. Findings from the international LQTS registry. Circulation. 1998;97: 2237-44.

London B, Michalec M, Mehdi H, Zhu X, Kerchner L, Sanyal S, Viswanathan PC, Pfahnl AE, Shang LL, Madhusudanan M, Baty CJ, Lagana S, Aleong R,Gutmann R, Ackerman MJ, McNamara DM, Weiss R, Dudley SC Jr. Mutation in Glycerol-3-Phosphate Dehydrogenase 1–Like Gene (GPD1-L) Decreases Cardiac Na+ Current and Causes Inherited Arrhythmias. Circulation. 2007 November 13; 116(20): 2260–2268.

Lopes CM, Zhang H, Rohacs T, Jin T, Yang J, Logothetis DE. Alterations in conserved Kir channel-PIP(2) interactions underlie channelopathies. Neuron. 2002 Jun 13;34(6): 933-44.

Lopes LR, Syrris P,Guttmann OP, O'Mahony C, Tang HC, Dalageorgou C, Jenkins S, Hubank M, Monserrat L, McKenna WJ, Plagnol V, Elliott PM. Novel genotype-phenotype associations demonstrated by high-throughput sequencing in patients with hypertrophic cardiomyopathy. Heart. 2015 Feb;101(4): 294-301.

Lu Y, Mahaut-Smith MP, Huang CL, Vandenberg JI. Mutant MiRP1 subunits modulate HERG K+ channel gating: a mechanism for pro-arrhythmia in long QT syndrome type 6. J Physiol. 2003;551(Pt 1): 253–262.

Lupoglazoff JM, Denjoy I, Berthet M, Neyroud N, Demay L, Richard P, Hainque B, Vaksmann G, Klug D, Leenhardt A, Maillard G, Coumel P, Guicheney P. Notched T waves on Holter recordings enhance detection of patients with LQT 2 (HERG) mutations. Circulation 2001;103: 1095-101.

Makita N, Yagihara N, Crotti L, Johnson CN, Beckmann BM, Roh MS, Shigemizu D, Lichtner P, Ishikawa T, Aiba T, Homfray T, Behr ER, Klug D, Denjoy I,Mastantuono E, Theisen D, Tsunoda T, Satake W, Toda T, Nakagawa H, Tsuji Y, Tsuchiya T, Yamamoto H, Miyamoto Y, Endo N, Kimura A, Ozaki K, Motomura H,Suda K, Tanaka T, Schwartz PJ, Meitinger T, Kääb S, Guicheney P, Shimizu W, Bhuiyan ZA, Watanabe H, Chazin WJ, George AL Jr. Novel calmodulin mutations associated with congenital arrhythmia susceptibility. Circ Cardiovasc Genet. 2014 Aug;7(4): 466-74.

Malo MS, Srivastava K, Ingram VM. Gene assignment by polymerase chain reaction: localization of the human potassium channel ISK gene to the Down's syndrome region of chromosome 21q22.1-q22.2. Gene. 1995 Jul 4;159(2): 273-5.

Marbán E. Cardiac Channelopathies. Nature.2002 Jan 10; 415(6868): 213–218.

Marguiles M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, Bemben LA et al.Genom sequencing in microfabricated high density picolitre reactors. Nature. 2005 Sep 15; 437(7057): 376–380.

Maxam A. and Gibert W., A new method of sequencing DNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 1977 Feb;74(2): 560-4.

McNally EM, de Sá Moreira E, Duggan DJ, Bönnemann CG, Lisanti MP, Lidov HG, Vainzof M, Passos-Bueno MR, Hoffman EP, Zatz M, Kunkel LM. Caveolin-3 in muscular dystrophy. Hum Mol Genet. 1998 Aug;7(5): 871–7.

McPherson JD., Hickie RA, Wasmuth JJ, Meyskens FL, Perham RN, Strehler EE, Graham MT. Chromosomal localization of multiple genes encoding calmodulin. (Abstract) Cytogenet. Cell Genet. 1991;58: 1951.

Medeiros-Domingo A, Kaku T, Tester DJ, Iturralde-Torres P, Itty A, Ye B, Valdivia C, Ueda K, Canizales-Quinteros S, Tusié-Luna MT, Makielski JC, Ackerman MJ. SCN4B-encoded sodium channel beta-4 subunit in congenital long-QT syndrome. Circulation. 2007Jul 10;116(2): 134-42.

Millat G, Chanavat V, Rousson R. Evaluation of a new NGS method based on a custom AmpliSeq library and Ion Torrent PGM sequencing for the fast detection of genetic variations in cardiomyopathies. Clin Chim Acta. 2014 Jun 10;433: 266-71.

Milnes JT, Crociani O, Arcangeli A, Hancox JC, Witchel HJ. Blockade of HERG potassium currents by fluvoxamine: incomplete attenuation by S6 mutations at F656 or Y652. Br. J. Pharmacol. 2003;139(5): 887–98.

Minetti C, Sotgia F, Bruno C, Scartezzini P, Broda P, Bado M, Masetti E, Mazzocco M, Egeo A, Donati MA, Volonte D, Galbiati F, Cordone G, Bricarelli FD, Lisanti MP, Zara F. Mutations in the caveolin-3 gene cause autosomal dominant limb-girdle muscular dystrophy. Nat Genet 1998 Apr;18(4): 365–8.

Mohler PJ, Gramolini AO, Bennett V. Ankyrins. Journal of Cell Science.2002a Apr 15; 115(Pt 8): 1565–6.

Mohler PJ, Gramolini AO, Bennett V. The ankyrin-B C-terminal domain determines activity of ankyrin-B/G chimeras in rescue of abnormal inositol 1,4,5-trisphosphate and ryanodine receptor distribution in ankyrin-B (-/-) neonatal cardiomyocytes. J Biol Chem. 2002b Mar 22;277(12): 10599-607.

Mohler PJ, Schott JJ, Gramolini AO, Dilly KW, Guatimosim S, duBell WH, Song LS, Haurogné K, Kyndt F, Ali ME, Rogers TB, Lederer WJ, Escande D, Le Marec H, Bennett V. Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death. Nature. 2003 Feb 6;421(6923): 634-9.

Mohler PJ, Splawski I, Napolitano C, Bottelli G, Sharpe L, Timothy K, Priori SG, Keating MT, Bennett VA. Cardiacarrhythmia syndrome caused by loss of ankyrin-B function. Proc Nat Acad Sci. 2004;101: 9137–9142.

Mohler, PJ. Ankyrins and human disease: what the electrophysiologist should know. J Cardiovasc Electrophysiol. 2006 Oct;17(10): 1153-9.

Mohler PJ, Wehrens XH. Mechanisms of human arrhythmia syndromes: abnormal cardiac macromolecular interactions. Physiology (Bethesda). 2007 Oct;22: 342-50.

Moric E, Herbert E, Trusz-Gluza M, Filipecki A, Mazurek U, Wilczok T. The implications of genetic mutations in the sodium channel gene (SCN5A). Europace. 2003 Oct;5(4): 325-34.

Moric-Janiszewska E, Markiewicz-Łoskot G, Loskot M, Weglarz L, Hollek A, Szydlowski L. Challenges of diagnosis of long-QT syndrome in children. Pacing ClinElectrophysiol.2007;30(9): 1168–1170.

Moss AJ, Schwartz PJ, Crampton RS, Tzivoni D, Locati EH, MacCluer J, Hall WJ,

Weitkamp L, Vincent GM, Garson A Jr. The long QT syndrome. Prospective longitudinal study of 328 families. Circulation 1991;84: 1136-44.

Moss AJ, Zareba W, Benhorin J, Locati EH, Hall WJ, Robinson JL, Schwartz PJ, Towbin JA, Vincent GM, Lehmann MH. ECG T-wave patterns in genetically distinct forms of the hereditary long QT syndrome. Circulation. 1995;92: 2929–2934.

Moss AJ, Robinson JL, Gessman L,Gillespie R, ZarebaW, Schwartz PJ, et al. Comparison of clinical and genetic variables of cardiac events associated with loud noise versus swimming among subjects with the long QT syndrome. Am J Cardiol. 1999;15: 876–9.

Moss AJ.Long QT syndrome. Curr treat options Cardiovasc Med 2000; 2: 317-22.

Moss AJ, Zareba W, Kaufman ES, Gartman E, Peterson DR, Benhorin J, Towbin JA, Keating MT, Priori SG, Schwartz PJ, Vincent GM, Robinson JL, Andrews ML, Feng C, Hall WJ, Medina A, Zhang L, Wang Z. Increased risk of arrhythmic events in long-QT syndrome with mutations in the pore region of the human ether-a-go-go-related gene potassium channel. Circulation. 2002 Feb 19;105(7): 794-9.

Moss AJ; Schwartz PJ. 25th Anniversary of the International Long-QT Syndrome Registry. Circulation 2005; 111(9): 1199–1201.

Moss AJ, Zareba W, Schwarz KQ, Rosero S, McNitt S, Robinson JL. Ranolazine shortens repolarization in patients with sustained inward sodium current due to type-3 long-QT syndrome. J Cardiovasc Electrophysiol. 2008;19: 1289–1293. □

Mullally J, Goldenberg I, Moss AJ, Lopes CM, Ackerman MJ, Zareba W, McNitt S, Robinson JL, Benhorin J, Kaufman ES, Towbin JA, Barsheshet A. Risk of life-threatening cardiac events among patients with long QT syndrome and multiple

mutations. Heart Rhythm. 2013;10: 378–382.

Mustapha Z, Pang L, Nattel S. Characterization of the cardiac KCNE1 gene promoter. Cardiovasc Res. 2007 Jan 1;73(1): 82-91.

Napolitano C, Priori SG, Schwartz PJ, Bloise R, Ronchetti E, Nastoli J, Bottelli G, Cerrone M, Leonardi S. Genetic testing in the long QT syndrome: development and validation of an efficient approach to genotyping in clinical practice. JAMA. 2005;294: 2975–80.

Napolitano C, Novelli V, Francis MD, Priori SG. Genetic modulators of the phenotype in the long QT syndrome: state of the art and clinical impact. Curr Opin Genet Dev. 2015 Aug;33: 17-24.

Nattel S, Maguy A, Le BS, &Yeh YH. Arrhythmogenic ion-channel remodeling in the heart: heart failure, myocardial infarction, and atrial fibrillation. Physiol Rev. 2007; 87,425-456.

Nerbonne JM &Kass RS. Molecular physiology of cardiac repolarization. Physiol Rev. 2005; 85,1205-1253.

Ng SB; Turner EH, Robertson PD, Flygare SD, Bigham AW, Lee C, Shaffer T, Wong M, Bhattacharjee A, Eichler EE, Bamshad M, Nickerson DA, Shendure J. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. Nature.2009 Sep 10; 461(7261): 272–276.

Nyegaard M1, Overgaard MT, Søndergaard MT, Vranas M, Behr ER, Hildebrandt LL, Lund J, Hedley PL, Camm AJ, Wettrell G, Fosdal I, Christiansen M, Børglum AD. Mutations in calmodulin cause ventricular tachycardia and sudden cardiac death. Am J Hum Genet. 2012 Oct 5;91(4): 703-12.

Oceandy D, Cartwright EJ, Emerson M, Prehar S, Baudoin FM, Zi M, Alatwi N, Venetucci L, Schuh K, Williams JC, Armesilla AL, Neyses L. Neuronal nitric oxide

synthase signaling in the heart is regulated by the sarcolemmal calcium pump 4b. Circulation. 2007;115: 483–492.

Olesen MS, Jespersen T, Nielsen JB, Liang B, Møller DV, Hedley P, Christiansen M, Varró A, Olesen SP, Haunsø S, Schmitt N, Svendsen JH. Mutations in sodium channel β-subunit SCN3B are associated with early-onset lone atrial fibrillation. Cardiovasc Res. 2011 Mar 1;89(4): 786-93.

Oliva A, Brugada R, Aloja ED, Boschi I, Partemi S, Brugada J, Pascali VL. (2011) State of the art in forensic İnvestigation of sudden cardiac death. Am J Forensic Med Pathol. 32: 1-16.

Pinnell J, Turner S, and Howell S. Cardiac Muscle Physiology. Contin Educ Anaesth Crit Care Pain. 2007; 7(3): 85-88.

Passier R, Orlova V, and Mummery C. (2016) Complex Tissue and Disease Modeling using hiPSCs. Cell Stem Cell, Mar 3;18(3): 309-21.

Plant LD, Xiong D, Dai H, Goldstein SA. Individual IKs channels at the surface of mammalian cells contain two KCNE1 accessory subunits. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2014 Apr; 111(14): E1438–46.

Pongs O, Schwarz JR. Physiol Rev. Ancillary subunits associated with voltage-dependent K+ channels. 2010 Apr;90(2): 755-96.

Postma AV, Denjoy I, Hoorntje TM, Lupoglazoff JM, Da Costa A, Sebillon P, Mannens MM, Wilde AA, Guicheney P. Absence of calsequestrin 2 causes severe forms of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. Circ Res. 2002 Oct 18;91(8): e21-6.

Priori SG, Napolitano C, Schwartz PJ. Low penetrance in the long-QT syndrome: clinical impact. Circulation.1999;99: 529–533.

Priori SG, Schwartz PJ, Napolitano C, et al. Risk stratification in the long-QT syndrome. N Engl J Med. 2003;348(19): 1866–1874.

Priori SG, Napolitano C, Schwartz PJ, Grillo M, Bloise R, Ronchetti E, Moncalvo C, Tulipani C, Veia A, Bottelli G, Nastoli J. Association of long QT syndrome loci and cardiac events among patients treated with beta- blockers. JAMA. 2004;292: 1341-1344.

Priori SG, Wilde AA, Horie M et al.: HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes: document endorsed by HRS, EHRA, and APHRS in May 2013 and by ACCF, AHA, PACES, and AEPC in June 2013. Heart Rhythm 2013, 10: 1932-1963.

Ravens U &Cerbai E (2008). Role of potassium currents in cardiac arrhythmias. Europace. 2008 Oct;10(10): 1133-7.

Reardon M, Malik M. QT interval change with age in an overtly healthy older population. ClinCardiol 1996;19: 949-52.

Rhyner JA, Ottiger M, Wicki R, Greenwood TM, Strehler EE. Structure of the human CALM1 calmodulin gene and identification of two CALM1-related pseudogenes CALM1P1 and CALM1P2. Europ. J. Biochem. 1994;225: 71-82.

Bagnall RD, Crompton DE, Petrovski S, Lam L, Cutmore C, Garry SI, Sadleir LG, Dibbens LM, Cairns A, Kivity S, Afawi Z, Regan BM, Duflou J, Berkovic SF, Scheffer IE, Semsarian C. Exome-based analysis of cardiac arrhythmia, respiratory control, and epilepsy genes in sudden unexpected death in epilepsy. Ann Neurol. 2016 Apr;79(4):522-34.

Robert D. Burgoyne. Neuronal calcium sensor proteins: generating diversity in neuronal Ca2+ signalling Nat Rev Neurosci. 2007 Mar; 8(3): 182–193.

Romano C, Gemme G, Pongiglione R. Rare cardiac arrythmias of the pediatric age. II. Syncopal attacks due to paroxysmal ventricular fibrillation (in Italian). Clin Pediatr (Bologna). 1963 Sep;45: 656-83.

Ruan Y, Liu N, Bloise R, Napolitano C, Priori SG. Gating properties of SCN5A mutations and the response to mexiletine in long-QT syndrome type 3 patients. Circulation. 2007;116: 1137–1144.

Saenen JB &Vrints CJ. Molecular aspects of the congenital and acquired Long QT Syndrome: clinical implications. J Mol Cell Cardiol.2008;44: 633-646.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain- terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci U S A. 1977 Dec;74(12): 5463-7.

Sanguinetti MC, Curran ME, Zou A, Shen J, Spector PS, Atkinson DL, Keating MT. Coassembly of K(V)LQT1 and minK (IsK) proteins to form cardiac I(Ks) potassium channel.Nature. 1996 Nov 7;384(6604): 80-3.

Sanguinetti MC, Tristani-Firouzi M. hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. Nature. 2006 Mar 23;440(7083): 463-9.

Schott JJ, Charpentier F, Peltier S, Foley P, Drouin E, Bouhour, JB, Donnelly P, Vergnaud G, Bachner L, Moisan JP, Le Marec H, Pascal O. Mapping of a gene for long QT syndrome to chromosome 4q25-27. Am J Hum Genet. 1995 Nov;57(5): 1114–1122.

Schulze Bahr, E. Long QT Syndromes: Genetic Basis. Cardiac Electrophysiology Clinics. 2012;4(1): 1–16.

Schultz D, Mikala G, Yatani A, Engle DB, Iles DE, Segers B, Sinke RJ, Weghuis DO, Klöckner U, Wakamori M, et al. Cloning, chromosomal localization, and functional expression of the alpha 1 subunit of the L-type voltage-dependent calcium channel from normal human heart.Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Jul 1;90(13): 6228-32.

Schwartz PJ. İdiopathic long QT syndrome: progress and questions. Am Heart J 1985; 109: 399-411.

Schwartz PJ, Moss AJ, Vincent GM, Crampton RS. Diagnostic criteria for the long QT syndrome. An update. Circulation. 1993;88(2): 782–4.

Schwartz PJ, Priori SG, Spazzolini C, Moss AJ, Vincent GM, Napolitano C, et al. Genotype–phenotype correlation in the long QT syndrome. Specific triggers for life-threatening arrhythmias. Circulation. 2001;103: 89–95.

Schwartz PJ. Management of long QT syndrome. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2005 Jul;2(7): 346-51.

Schwartz PJ, Spazzolini C, Crotti L, Bathen J, Amlie JP, Timothy K, Shkolnikova M, Berul CI, Bitner-Glindzicz M, Toivonen L, Horie M, Schulze-Bahr E, Denjoy I.The Jervell and Lange-Nielsen syndrome: natural history, molecular basis, and clinical outcome.2005;2: 346–351. Circulation. 2006 Feb 14;113(6): 783-90.

Schwartz PJ, Vanoli E, Crotti L, Spazzolini C, Ferrandi C, Goosen A, Hedley P, Heradien M, Bacchini S, Turco A, La Rovere MT, Bartoli A, George AL Jr, Brink PA. Neural control of heart rate is an arrhythmia risk modifier in long QT syndrome.J Am Coll Cardiol. 2008 Mar 4;51(9): 920-9.

Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Crotti L, Pedrazzini M, Besana A, Bosi G, et al. Prevalence of the congenital long-QT syndrome. Circulation. 2009;120: 1761–7.

Schwartz PJ, Spazzolini C, Priori SG, Crotti L, Vicentini A, Landolina M, Gasparini M, Wilde AAM, Knops RE, Denjoy I, Toivonen L, Mo¨nnig G, Al-Fayyadh M, Jordaens L, Borggrefe M, Holmgren C, Brugada P, De Roy L, Hohnloser SH, Brink PA. Who are the long-QT syndrome patients who receive an implantable cardioverter defibrillator and what happens to them? Data from the European long-QT syndrome implantable cardioverter-defibrillator (LQTS ICD) Registry. Circulation. 2010;122: 1272–1282.

Schwartz PJ, Crotti L, Insolia R, Long QT. syndrome: from genetics to management. Circ Arrhythm Electrophysiol. 2012;5: 868–877.

Schwartz PJ, Ackerman MJ, George AL Jr, Wilde AA. Impact of genetics on the clinical management of channelopathies. J Am Coll Cardiol. 2013a;62: 169–180.

Schwartz PJ, Ackerman MJ. The long QT syndrome: a transatlantic clinical approach to diagnosis and therapy. Eur Heart J. 2013b;34: 3109–3116.

Schwartz PJ. Cardiac sympathetic denervation to prevent life-threatening arrhythmias. Nat Rev Cardiol. 2014;11: 346–353.

Seebohm G, Strutz-Seebohm N, Ureche ON, Henrion U, Baltaev R, Mack AF, Korniychuk G, Steinke K, Tapken D, Pfeufer A, Kääb S, Bucci C, Attali B, Merot J, Tavare JM, Hoppe UC, Sanguinetti MC, Lang F. Long QT syndrome-associated mutations in KCNQ1 and KCNE1 subunits disrupt normal endosomal recycling of IKs channels". Circulation Research. 2008 Dec;103(12): 1451–7.

Semsarian, C., Ingles, J. & Wilde, A. A. Sudden cardiac death in the young: themolecular autopsy and a practical approach to surviving relatives. Eur. Heart J. 2015;36:1290–1296.

Sesti F, Abbott GW, Wei J, Murray KT, Saksena S, Schwartz PJ, et al. A common polymorphism associated with antibiotic-induced cardiac arrhythmia. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2000;97,10613–10618.

Shendure J and Ji H, Next-generation DNA sequencing Nature Biotechnology, 2008;26: 1135–1145.

Shigemizu D, Aiba T, Nakagawa H, Ozaki K, Miya F, Satake W, Toda T, Miyamoto Y, Fujimoto A, Suzuki Y, Kubo M, Tsunoda T, Shimizu W,Tanaka T. Exome Analyses of Long QT Syndrome Reveal Candidate Pathogenic Mutations in Calmodulin-Interacting Genes. PLoS One. 2015 Jul 1;10(7): e0130329.

Shimizu W, Antzelevitch C. Sodium channel block with mexiletine is effective in reducing dispersion of repolarization and preventing torsade des pointes in LQT2 and LQT3 models of the long-QT syndrome. Circulation. 1997 Sep 16;96(6): 2038-47.

Shimizu W, Horie M, Ohno S, Takenaka K, Yamaguchi M, Shimizu M, Washizuka T, Aizawa Y, Nakamura K, Ohe T, Aiba T, Miyamoto Y, Yoshimasa Y, Towbin JA, Priori SG, Kamakura S. Mutation site-specific differences in arrhythmic risk and sensitivity to sympathetic stimulation in the LQT1 form of congenital long QT syndrome: multicenter study in Japan. J Am Coll Cardiol. 2004 Jul 7;44(1): 117-25.

Shinnawi R, Gepstein L. iPS Cell Modeling of Inherited Cardiac Arrhythmias. Curr Treat Options Cardiovasc Med. 2014 Sep;16: 331.

Simbolo M, Mafficini A, Agostini M, Pedrazzani C, Bedin C, Urso ED, Nitti D, Turri G, Scardoni M, Fassan M, Scarpa A. Next-generation sequencing for genetic testing of familial colorectal cancersyndromes. Hered Cancer Clin Pract. 2015 Aug 21;13(1): 18.

Smith LM, Sanders JZ, Kaiser RJ, Hughes P, Dodd C, Connell CR, Heiner C, Kent SB, Hood LE. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. Nature. 1986 Jun 12-18;321(6071): 674-9.

Soldatov NM. Genomic structure of human L-type Ca(2+) channel. Genomics 1994;22: 77-87.

Splawski I, Timothy KW, Vincent GM, Atkinson DL, Keating MT. Molecular basis of the long-QT syndrome associated with deafness. N Engl J Med. 1997;336: 1562–7.

Splawski I, Shen J, Timothy KW, Vincent GM, Lehmann MH, Keating MT. Genomic structure of three long QT syndrome genes: KVLQT1, HERG, and KCNE1.Genomics. 1998 Jul 1;51(1): 86-97.

Splawski I, Shen J, Timothy KW, Lehmann MH, Priori S, Robinson JL, Moss AJ, Schwartz PJ, Towbin JA, Vincent GM, Keating MT. Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes. KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2.Circulation. 2000 Sep 5;102(10): 1178-85.

Splawski I, Timothy KW, Sharpe LM, Decher N, Kumar P, Bloise R, Napolitano C, Schwartz PJ, Joseph RM, Condouris K, Tager-Flusberg H, Priori SG, Sanguinetti MC, Keating MT. Ca(V) 1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. Cell. 2004 Oct 1;119(1): 19-31.

Stallmeyer B, Zumhagen S, Denjoy I, Duthoit G, Hébert JL, Ferrer X, Maugenre S, Schmitz W, Kirchhefer U, Schulze-Bahr E, Guicheney P, Schulze-Bahr E. Mutational spectrum in the Ca(2+)--activated cation channel gene TRPM4 in patients with cardiac conductance disturbances. Hum Mutat. 2012 Jan;33(1): 109-17.

Stevens FC. Calmodulin: an introduction. Can. J. Biochem. Cell Biol. 1983;61(8): 906-10.

Strutz-Seebohm N, Pusch M, Wolf S, Stoll R, Tapken D, Gerwert K, Attali B, Seebohm G. Structural basis of slow activation gating in the cardiac I Ks channel complex. Cellular Physiology and Biochemistry 2011;27(5): 443–52.

Su Z, Ning B, Fang H, Hong H, Perkins R, Tong W, Shi L. Next-generation sequencing and its applications in molecular diagnostics. Expert Rev Mol Diagn. 2011 Apr;11(3): 333-43.

Swan H, Toivonen L, Viitasalo M. Rate adaptation of QT intervals during and after exercise in children with congenital long QT syndrome. Eue Heart J. 1998; 19: 508-13.

Sy RW, van der Werf C, Chatta IS, Chockalingam P, Adler A, Healey JS, Perrin M, Gollob MH, Skanes AC, Yee R, Gula LJ, Leong –Sit P, Viskin S, Klein GJ, Wilde

AA, Krahn AD. Derivation and validation of a simple exercise-based algorithmfor prediction of genetic testing in relatives of LQTS probands. Circulation. 2011;124: 2187–2194.

Tan HL, Kupershmidt S, Zhang R, Stepanovic S, Roden DM, Wilde AA, Anderson ME, Balser JR. A calcium sensor in the sodium channel modulates cardiac excitability.Nature. 2002 Jan 24;415(6870): 442-7.

Terrenoire C, Wang K, Tung KW, Chung WK, Pass RH, Lu JT, Jean JC, Omari A, Sampson KJ, Kotton DN, Keller G, Kass RS. Induced pluripotent stem cells used to reveal drug actions in a long QT syndrome family with complex genetics. J Gen Physiol. 2013;Jan;141(1): 61-72.

Tawil R, Ptacek LJ, Pavlakis SG, et al. Andersen's syndrome: potassium-sensitive periodic paralysis, ventricular ectopy, and dysmorphic features. Ann Neurol. 1994;35(3): 326–330.

Tester DJ, Ackerman MJ. Genetics of Long QT syndrome. Methodist Debakey Cardiovasc J. 2014;10: 29–33.

Torekov SS1, Iepsen E, Christiansen M, Linneberg A, Pedersen O, Holst JJ, Kanters JK, Hansen T. KCNQ1 long QT syndrome patients have hyperinsulinemia and symptomatic hypoglycemia. Diabetes. 2014 Apr;63(4): 1315-25.

Toutenhoofd SL, Foletti D, Wicki R, Rhyner JA, Garcia F, Tolon R, Strehler EE. Characterization of the human CALM2 calmodulin gene and comparison of the transcriptional activity of CALM1, CALM2 and CALM3.Cell Calcium. 1998 May;23(5): 323-38.

Tranebjaerg L1, Bathen J, Tyson J, Bitner-Glindzicz M.Jervell and Lange-Nielsen syndrome: a Norwegian perspective. Am J Med Genet. 1999 Sep 24;89(3): 137-46.

Tristani-Firouzi M1, Jensen JL, Donaldson MR, Sansone V, Meola G, Hahn A,

Bendahhou S, Kwiecinski H, Fidzianska A,Plaster N, Fu YH, Ptacek LJ, Tawil R. Functional and clinical characterization of KCNJ2 mutations associated with LQT7(Andersen syndrome). J Clin Invest. 2002;110: 381–388.

Tsuboi M, Antzelevitch C. Cellular basis for electrocardiographic and arrhythmic manifestations of Andersen-Tawil syndrome (LQT7). Heart Rhythm. 2006;3(3): 328–335.

Ueda K, Valdivia C, Medeiros-Domingo A, et al. Syntrophin mutation associated with long QT syndrome through activationof the nNOS-SCN5A macromolecular complex. ProcNatlAcadSci USA. 2008;105(27): 9355–9360.

Van den Berg MH, Wilde AA, de Medina EO Robles, et al. The long QT syndrome: a novel missense mutation in the S6 region of the KVLQT1 gene. Hum Genet. 1997;100(3-4): 356–361.

van OortRJ, Altamirano J, Lederer WJ, Wehrens XH. Alternative splicing: a key mechanism for ankyrin-B functional diversity?". J Mol Cell Cardiol. 2008 Dec; 45(6): 709–711.

Vatta M, Ackerman MJ, Ye B, Makielski JC, Ughanze EE, Taylor EW, Tester DJ, Balijepalli RC, Foell JD, Li Z, Kamp TJ, Towbin JA. Mutant caveolin-3 induces persistent late sodium current and is associated with long-QT syndrome.Circulation. 2006 Nov 14;114(20): 2104-12.

Vincent GM, Timothy KW, Leppert M, Keating M. The spectrum of symptoms and QT intervals in carriers of the gene for the long-QT syndrome. N Engl J Med. 1992;327: 846–52.

Vincent GM. The molecular genetic of the long QT syndrome: genes causing fainting and sudden death. Annu Rev Med. 1998;49: 263-74.

Vorgerd M. Chapter 9: Caveolin-3, Caveolae, and Hereditary Muscle Disease, Advances

in Molecular and Cell Biology. In: Bittar E.E, Frank P.G., Lisanti M.P., eds. Caveolae and Lipid Rafts: Roles in Signal Transduction and the Pathogenesis of Human Disease Volume 36., 2005,p: 173.

Wang Q, Shen J, Splawski I, et al. SCN5A mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. Cell. 1995;80(5): 805–811.

Wang Q, Curran ME, Splawski I, Burn TC, Millholland JM, VanRaay TJ, Shen J, Timothy KW, Vincent GM, de Jager T, Schwartz PJ, Toubin JA, Moss AJ, Atkinson DL, Landes GM, Connors TD, Keating MT. Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias.Nat Genet. 1996 Jan;12(1): 17-23.

Wang Z, Li H, Moss AJ, Robinson J, Zareba W, Knilans T, Bowles NE, Towbin JA. Compound heterozygous mutations in KvLQT1 cause Jervell and Lange-Nielsen syndrome. Mol Genet Metab. 2002 Apr;75(4): 308-16.

Ward, OC. A new familial cardiac syndrome in children. Journal of the Irish Medical Association 1964 Apr;54: 103–106.

Warmke JW, Ganetzky B. A family of potassium channel genes related to eag in Drosophila and mammals. ProcNatlAcadSci USA. 1994;91(8): 3438–3442

Westenskow P, Splawski I, Timothy KW, Keating MT, Sanguinetti MC. Compound mutations: a common cause of severe long-QT syndrome. Circulation. 2004 Apr 20;109(15): 1834-41.

Wilde AAM, Jongbloed RJE, Doevendans PA, Düren DR, Hauer RN, van Langen IM, et al. Auditory stimuli as a trigger for arrhythmic events differentiate HERG-related (LQTS) patients from KVLQT1-related patients (LQTS). J Am CollCardiol. 1999;33: 327–32.

Williams JC, Armesilla AL, Mohamed TM, Hagarty CL, McIntyre FH, Schomburg S,

Zaki AO, Oceandy D, Cartwright EJ, Buch MH, Emerson M, Neyses L. The sarcolemmal calcium pump, alpha-1 syntrophin, and neuronal nitric-oxide synthase are parts of a macromolecular protein complex. J Biol Chem. 2006;281: 23341–23348.

Willis BC, Ponce-Balbuena D, Jalife J. Protein assemblies of sodium and inward rectifier potassium channels control cardiac excitability and arrhythmogenesis. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2015 Jun 15;308(12): H1463-73.

Witczak O, Skålhegg BS, Keryer G, Bornens M, Taskén K, Jahnsen T, Orstavik S.Cloning and characterization of a cDNA encoding an A-kinase anchoring protein located in the centrosome, AKAP450.EMBO J. 1999 Apr 1;18(7): 1858-68.

Wrobel E, Tapken D, Seebohm G. The KCNE Tango - How KCNE1 Interacts with Kv7.1. Front Pharmacol. 2012 Aug 2;3: 142.

Wu HC1, Yamankurt G2, Luo J3, Subramaniam J1, Hashmi SS4, Hu H3, Cunha SR5.Identification and characterization of two ankyrin-B isoforms in mammalian heart. Cardiovasc Res. 2015 Sep 1;107(4): 466-77.

Yang WP, Levesque PC, Little WA, Conder ML, Shalaby FY, Blanar MA. KvLQT1, a voltage-gated potassium channel responsible for human cardiac arrhythmias. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997 Apr 15;94(8): 4017–4021.

Yang P, Kanki H, Drolet B, Yang T, Wei J, Viswanathan PC, Hohnloser SH, Shimizu W, Schwartz PJ, Stanton M, Murray KT, Norris K, George AL Jr, Roden DM.Allelic variants in long-QT disease genes in patients with drug-associated torsades de pointes. Circulation. 2002 Apr 23;105(16): 1943-8.

Yang Y, Yang Y, Liang B, Liu J, Li J, Grunnet M, Olesen SP, Rasmussen HB, Ellinor PT, Gao L, Lin X, Li L, Wang L, Xiao J, Liu Y, Liu Y, Zhang S, Liang D, Peng L, Jespersen T, Chen YH. Identification of a Kir3.4 mutation in congenital long QT syndrome. Am J Hum Genet. 2010 Jun 11;86(6): 872-80.

Yu FH1, Westenbroek RE, Silos-Santiago I, McCormick KA, Lawson D, Ge P, Ferriera H, Lilly J, DiStefano PS, Catterall WA, Scheuer T, Curtis R.Sodium channel beta4, a new disulfide-linked auxiliary subunit with similarity to beta2.J Neurosci. 2003 Aug 20;23(20): 7577-85.

Yukiko N and Wataru S.Genetics of long-QT syndrome. Journal of Human Genetics. 2016; 61: 51–55.

Zareba W, Moss AJ, Schwartz PJ, Vincent GM, Robinson JL, Priori SG, Benhorin J, Locati EH, Towbin JA, Keating MT, Lehmann MH, Hall WJ. Influence of genotype on the clinical course of the long-QT syndrome. International Long-QT Syndrome Registry Research Group.NEngl J Med. 1998;339: 960–5.

Zareba W, Moss AJ, Sheu G, Kaufman ES, Priori S, Vincent GM, Towbin JA, Benhorin J, Schwartz PJ, Napolitano C, Hall WJ, Keating MT, Qi M, Robinson J,Andrews ML;Location of mutation in the KCNQ1 and phenotypic presentation of long QT syndrome. J Cardiovasc Electrophysiol. 2003 Nov;14(11): 1149-53.

Zareba W. Genotype-specific ECG patterns in long QT syndrome. J Electrocardiol. 2006;39: S101–S106.

Zou Y, Wang J, Liu X, Wang Y, Chen Y, Sun K, Gao S, Zhang C, Wang Z, Zhang Y, Feng X, Song Y, Wu Y, Zhang H, Jia L, Wang H, Wang D, Yan C, Lu M,Zhou X, Song L, Hui R. Multiple gene mutations, not the type of mutation, are the modifier of left ventricle hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. Mol Biol Rep. 2013 Jun;40(6): 3969-76.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	BURCU	**Soyadı**	TÜRKGENÇ
Doğum Yeri	GİRESUN	**Doğum Tarihi**	25.10.1981
Uyruğu	T.C.	**Tel**	05052676640
E-mail	burcu.turkgenc@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**MezuniyetYılı**
Doktora/Uzmanlık	Marmara Üniversitesi	2016
YüksekLisans	Hacettepe Üniversitesi	2007
Lisans	Hacettepe Üniversitesi	2003
Lise	Aydın Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı Lise)	1999

İş Deneyimi

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
	Moleküler Biyolog (Süpervisör)	Acıbadem Genetik Tanı Merkezi	2010- Halen
	Uzman Biyolog	Genklinik Genetik Tanı Merkezi	2007-2010
	Proje Asistani	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Gen Haritalama Laboratuvarı	2004- 2007

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
Ingilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi

Yabancı Dil Sınav Notu#								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	82.5							

	Sayısal	**EşitAğırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	77.140	78.672	80.412
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft Office	Çok iyi

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.**

10. ULUSLARARASI KONGRE BİLDİRİLERİ

A) Tez çalışması 18-22 Ekim 2016 tarihinde Vancouver, Kanada'da düzenlenecek olan ASHG (The American Society of Human Genetics) kongresinde poster sunumu olarak kabul edilmiştir (Poster No: 1601202900, PgmNr 638/T:).

'Targeted gene panel for cardiac ion channelopathies reveals candidate pathogenic mutations in Long QT syndrome'

B. Turkgenc[1,2], S.G. Temel[3,4], O. Karadag[5], H.H. Aykan[6], F. Uysal[7], I. Yildirim Bastuhan[8], A. Sulu[9], S. Ugan Atik[10], B. Cinar[10], R. Dedeoglu[10], E. Gunay[11], M. Ramoglu[12], E. Cilsal[13], M. Sahin[14], T. Mese[15], O. Ciftci[16], F. Oztunc[10], T. Karagoz[6], O. Baspinar[9], O.M. Bostan[7], F. Akalin[11], M. Kervanoglu[9], C. Ayabakan[17], Y. Alanay[18], A. Celiker[19,8], S.A. Ozer[1], M.C. Yakicier[20]

1) Department of Medical Biology and Genetics, Marmara University, Istanbul, Turkey; 2) Acibadem Genetic Diagnostic Center, Istanbul, Turkey; 3) Uludag University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey; 4) Near East University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Lefkosa, North Cyprus; 5) Hacettepe University, Department of Statistics, Ankara, Turkey; 6) Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Ankara, Turkey; 7) Uludag University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Bursa, Turkey; 8) Koç University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Istanbul, Turkey; 9) Gaziantep University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Gaziantep, Turkey; 10) Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Pediatric Cardiology, Gaziantep, Turkey; 11) Marmara University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Istanbul, Turkey; 12) Ankara University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Ankara, Turkey; 13) Adana Numune Hospital, Pediatric Cardiology, Adana, Turkey; 14) Acibadem International Hospital, Pediatric Cardiology, Istanbul, Turkey; 15) Izmir Dr. Behcet Uz Pediatrics Hospital, Pediatric Cardiology, Izmir, Turkey; 16) Kartal Kosuyolu Training and Research Hospital, Istanbul, Turkey; 17) Baskent University Istanbul Hospital, Department of Pediatric Cardiology, Istanbul, Turkey; 18) Acibadem Maslak Hospital, Department of Pediatric Genetic, Istanbul, Turkey; 19) VKV American Hospital, Department of Pediatric Cardiology, Istanbul, Turkey; 20) Acibadem University, Faculty of Science, Molecular Biology and Genetic, Istanbul, Turkey

Abstract: Long QT syndrome is characterized by prolongation of the QT interval on electrocardiogram and associated with a high risk of sudden death. To date, mutations in 15 LQTS-susceptibility genes have been implicated. However, the genetic cause for

approximately 20-25 % of LQTS patients remains elusive. We sought to add new channelopathy genes data to the existing knowledge of genetic mutations underlying LQTS to both expand our understanding of its genetic basis and assess the value of genetic testing in clinical decision-making We screened for 68 cardiac arrhythmia genes among 92 unrelated LQT cases (9,66±5,602, 53 male and 8,69±5,676, 39 female) from Turkey. Cardiac symptoms were present in 52% of LQTS patients. Mean age of onset was 7,368±4,982. Mean QTc interval was 480,14±57,335. Targeted sequencing on ion PGM using Custom Panel revealed that known 15 LQT gene variants (79) acounted for 40,5% of the cases, while the remaining gene variants (116) accounted for 59,5% of the cases. 168 missense, 11 splice site, 4 frameshift, 6 inframe deletions, 2 nonsense and 4 UTR variants have been identified in the study. 39 (20%) of these variants were novel, 26 (%13,35) of these variants were reported as pathogenic/probably pathogenic, 40 (%20,5) of these had conflicting interpretations of pathogenicity, 64 (%32,8) of these were classified as unknown significance/nonidentified/untested and the remaining 26 (%13,35) were reported as benign/likely benign in public databases. Family segregations investigated 7 de-novo missense variants in KCNQ1, CACNA1C, RYR1, CALM2 and SCN5A genes. While 7 patients were carrying only one pathogenic variant (3 KCNQ1, 1 SCN5A, 1 KCNH2, 1 GDP1L and 1 CALM2) the other pathogenic mutations (in KCNQ1, SCN5A, KCNE1, CACNA1C, RYR2, JUP, LMNA, GPD1L, CASQ2 genes) were together with at least one other channelopathy variants. Any suspicious variant has not be detected in the remaining 10 (10,9%) patients. Age of onset was higher in those noncarriers (10,3±4,11 years) when compared to ≥ 1 variant carriers (6,90±5,00 years) (t test, p>0,05). It must be emphasized that the genetic complexity of cLQTS, currently makes it necessary to screen the other cardiac genes besides 15 LQT genes before the molecular-genetic workup is finished. We believe our findings will be an anchor point for finding novel pathogenesis of this disorder. Acknowledgements: Inherited arrhythmia panel project is supported by grant from SANTEZ (0253. STZ.2013-2) Turkey.

B) Tez çalışmasında çalışılan 12 hasta ve ailesine ait veriler ve uygulanan kardiyak panelin önemine dair hazırlanan poster 6-10 Ekim 2015 tarihinde Baltimore, A.B.D'de düzenlenen ASHG (The American Society of Human Genetics) kongresinde sunulmuştur(The American Society of Human Genetics 65th Annual Meeting Abstracts, 2015, Baltimore, A.B.D. Topic: Clinical Genetic Testing, 2039T, page 699).

Ion Ampliseq Custom Arrhythmia Panel" comprising 68 cardiac channelopathy genes is a gold standard for the rapid and sensitive detection of novel genes and variations in Long QT (LQT) syndrome'.

B. Turkgenc[1,2], S. G. Temel[3,4], H. H. Aykan[5], A. Sulu[6], M. G. Ramoglu[7], F. Uysal[8], O. M. Bostan[8], T. Karagoz[5], F. Akalin[9], O. Baspinar[6], Y. Alan- ay[10,11], A. Celiker[12], S. A. Ozer[2], M. C. Yakicier[13].

1) Acibadem Genetic Diagnostic Center, Istanbul, Turkey; 2) Marmara University, Department of Medical Biology and Genetic, Istanbul, Turkey; 3) Near East University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Lefkosa, North Cyprus; 4) Uludag University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey; 5) Hacettepe University, Fac- ulty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Ankara, Turkey; 6) Gaziantep University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Gaziantep, Turkey; 7) Ankara University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Ankara, Turkey; 8) Uludag Universi- ty, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Bursa, Tur- key; 9) Marmara University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Cardiology, Istanbul, Turkey; 10) Acibadem Maslak Hospital, Department of Pediatric Genetic, Istanbul, Turkey; 11) Acibadem University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Genetic, Istanbul, Turkey; 12) VKV Amerikan Hastanesi, Istanbul, Turkey; 13) Acibadem University, Faculty of Science, Melocular Biology and Genetic, Istanbul, Turkey.

Background: Long QT (LQT) syndrome is a genetically heterogeneous disease with high frequence predicted between 1/2000 and 1/5000 and associated with a high risk of sudden death. It has been informed 14 different genes for LQTs until now. Approximately 25% of LQT families don't have detectable mutations in reported 14 LQT genes. The identi- fication of the other genes responsible of LQT has a big importance on specification of molecular and diagnostic approaches. **Purpose:** Aim of our study is to investigate new cardiac channelopathy gene mutations underlying LQT's by using extremely sensitive and specific detection method "custom AmpliSeqTM panel". **Methods:** Whole blood was ob- tained from the proband and family members with informed consent. Genomic DNA was isolated by usingWizard® Genomic DNA Purification Kit, Promega. Targeted sequencing was performed on ion Personel Ge- nome Machine using Custom Ion Ampliseq Panel comprising 68 genes known to be associated with cardiological arrhythmias. Data analysis was performed using Torrent

Suite Software. The missense mutations were confirmed by GenomeLabTM GeXP Genetic Analysis System, Beckman Coulter. **Results:** We identified 28 different mutations (26 mis- sense, 1 insertion and 1inframe deletion) among 12 unrelated Turkish families with LQTs. 8 of these were novel, 7 of these were reported as pathogenic alleles, the remaining 13 were reported as ‘’unknown’’ allele with MAF<0. 01%. We identified 1 novel and 3 reported KCNQ1 muta- tions, 1 ANK2 mutation and 2 AKAP9 variations as expected for LQTs. KCNQ1, ANK2 and AKAP9 variants were together with at least one other channelopathy variants (RYR1, CACNA1S, LDB3, SCN1B, CACNA2D1, CACNB2, BAG3, TRPM4, RBM20, MYH7, CASQ2, PKP2, DSG2 and RYR2). TRPM4, HCN4 and TNII3 variants were identified in other LQT families, separately. One case had a de-novo RYR2 and germline DSP mutation. Last patient had MYH6 and TCAP gene variations together. **Conclusion:** Our 68 gene panel for inherited *arrhythmias*identifies novel candidate genes responsible for LQTS and it’s a gold standard on mo- lecular diagnosis of the disease. Our study highlights that LQT panel should not be limited with only 14 gene, but also should be investigated other cardiac channelopathy genes. For future directions functional anal- ysis of variations are under estimated. **Acknowledgements:** Inherited *arrhythmia panel is* supported by grant from SANTEZ Project (0253. STZ. 2013-2) Turkey.

11. ETİK KURUL ONAYI

T.C.

ACIBADEM ÜNİVERSİTESİ

TIBBİ ARAŞTIRMALARI DEĞERLENDİRME KOMİSYONU

SAYI:B.30.2.ACÜ.0.00.00.050-06/538

18 Mart 2013

KONU: ATADEK 2013-469

Sayın Prof.Dr. M.Cengiz Yakıcıer

ATADEK 2013-469 kodlu, Prof Dr. M. Cengiz Yakıcıer, Prof. Dr. Alpay Çeliker, Doç. Dr. Yasemin Alanay ve Burcu Türkgenç Moleküler Biyolog tarafından yürütülecek olan **"LQT tanısı almış hastalarda yeni nesil sekanslama teknolojileri ile hastalıkla ilişkili mutasyonların ve yeni genlerin tesbit edilmesi"** başlıklı projesi Etik Kurulumuzun 12 Mart 2013 tarihli 74. toplantısında incelenmiş; etik açıdan uygun bulunmuştur. **(Karar No: 2013-469)**

Saygılarımızla,

Prof. Dr. İsmail Hakkı Ulus
Başkan

Doç. Dr. Yeşim Işıl Ülman
Başkan Yardımcısı

Gülsuyu Mah. Fevzi Çakmak Cad. Divan Sok. No: 1 34848 Maltepe/İstanbul
Tel: 216 458 08 08 Faks: 216 589 84 85
www.acibadem.edu.tr

T.C.

ACIBADEM ÜNİVERSİTESİ

TIBBİ ARAŞTIRMALARI DEĞERLENDİRME KOMİSYONU

Prof. Dr. İsmail Hakkı Ulus (Başkan)

Doç.Dr. Yeşim Işıl Ülman (Başkan Yardımcısı)

Prof.Dr. İbrahim Ünsal

Prof. Dr. Güldal Süyen

Prof. Dr. Murat Saruç

Prof. Dr. Mert Ülgen

Prof. Dr. Fevzi Toraman

Doç. Dr. Yasemin Alanay

Doç.Dr. Nadi Bakırcı

Yrd. Doç.Dr. Emre Dorman

Dr. Sertaç UZEL

Dr. Nalan Karadağ

Av. Ferda Kaya Öztürk

Gülsuyu Mah. Fevzi Çakmak Cad. Divan Sok. No: 1 34848 Maltepe/İstanbul
Tel: 216 458 08 08 Faks: 216 589 84 85
www.acibadem.edu.tr

12. KLİNİK BİLGİ FORMU

ACIBADEM LABGEN

KALITSAL ARİTMİ HASTA BİLGİ FORMU

Hasta Adı :
Doğum Tarihi :_____
Adres : _____
_____

Cinsiyet :
Telefon : _____
Alternatif Telefon: _____
e-mail: _____

Ön Tanı:Kalıtsal Aritmi

☐ **Long QT Sendromu (Romano Ward):**
☐ KCNQ1 (LQT1) ☐ CAV3 (LQT9)
☐ KCNH2 (LQT2) ☐ SCN4B (LQT10)
☐ KCNE1 (LQT3) ☐ AKAP9 (LQT11)
☐ ANK2 (LQT4) ☐ SNTA1 (LQT12)
☐ SCN5A (LQT5) ☐ KCNJ5 (LQT13)
☐ KCNE2 (LQT6) ☐ Diğer (Belirtiniz):

☐ **Andersen-Tawil Sendromu (Peryodik paraliz ve dismorfik bulgularla seyreden Long QT Sendromu):**
☐ KCNJ2 (LQT7)

☐ **Timothy Sendromu (Sindaktili ile seyreden Long QT Sendromu):**
☐ CACNA1C (LQT8)

☐ **Jervell-Lange Nielsen Sendromu (Bilateral Konjenital Sağırlıkla Seyreden LQT Resesif Formu):**
☐ JLNS1 *(KCNQ1)*
☐ JLNS2 *(KCNE1)*

☐ **Kısa QT Sendromu (SQT):**
☐ KCNH2 ☐ CACNA1C
☐ KCNJ2 ☐ CACNA2D1
☐ KCNQ1 ☐ CACNB2

☐ **Ani Ölüm:**
☐ RYR2 ☐ KCND3
☐ SCN3B ☐ Diğer (Belirtiniz)

☐ **Ani Bebek Ölüm Sendromu:**
☐ CAV3 ☐ KCNJ8
☐ GPDIL ☐ SCN4B
☐ KCND3 ☐ SCN5A
☐ KCNH2 ☐ SNTA1

☐ **İdiyopatik Ventriküler Fibrilasyon (IVF):**
☐ KCNE5 ☐ SCN3B
☐ KCNJ8 ☐ SCN5A
☐ SCN1B ☐ SLMAP

☐ **Progresif Kardiyak İletim Bozukluğu (PCCD):**
☐ SCN5A ☐ ANK2 ☐ LMNA
☐ SCN1B ☐ NKX2.5 ☐ MYH6
☐ TRPM4 ☐ TBX5 ☐ HCN4
☐ GJA5 ☐ PRKAG2 ☐ Diğer

☐ **Katekolaminerjik PolimorfikVentriküler Taşikardi (CPVT)**
☐ RYR2 ☐ CASQ2
☐ ANK2 ☐ KCNJ2
☐ CALM1 ☐ TRDN

☐ **Brugada Sendromu** (SCN5A) (16 gen)
☐ SCN5A ☐ KCNE3
☐ ANK2 ☐ KCNH2
☐ CACNA1C ☐ KCNJ8
☐ CACNA2D1 ☐ RANGRF (MOG1)
☐ CACNB2 ☐ SLMAP
☐ CAV3 ☐ SCN1B
☐ GPD1L ☐ SCN3B
☐ HCN4 ☐ KCND3

☐ **Ventriküler Taşikardi (VT):**
HCN4

☐ **Aritmojenik sağ ventriküler displazi:**
☐ PKP2 PLN CTNNA3
☐ DSG2 RYR2 DES
☐ DSP TGFB3 JUP
☐ DSC2 TMEM43 LDB3
LMNA

☐ **Hipertrofik Kardiyomyopati (HCM):**
☐ MYBPC3 ☐ TNNI3 ☐ CAV3
☐ MYH7 ☐ TPM1 ☐ Diğer (Belirtiniz)
☐ TNNT2 ☐ MYL3

☐ **Dilate Kardiyomypoati (DCM):**
☐ TTN ☐ TNNT2 ☐ TCAP
☐ LMNA ☐ BAG3 ☐ VCL
☐ MYH7 ☐ ANKRD ☐ TPM1
☐ MYH6 ☐ RBM20 ☐ TNNI3
☐ SCN5A ☐ TMPO ☐ TNNC1
☐ MYBPC3 ☐ LDB3 ☐ Diğer (Belirtiniz)

☐ **İlaçla Tetiklenen Aritmi:**
☐ CACNA1C ☐ KCND3 ☐ KCNJ2
☐ CACNA2D1 ☐ KCNE5 ☐ KCNQ1
☐ CACNB2 ☐ KCNE3 ☐ RANGRF
☐ GPD1L ☐ KCNH2 ☐ SCN1B
☐ SCN3B ☐ Diğer (Belirtiniz)

☐ **DİĞER (Belirtiniz):**

1

Acıbadem Genetik Tanı Merkezi
Fahrettin Kerim Gökay Cad. No: 49. Altunizade, Üsküdar, İstanbul. Tel: 0216-544 38 45 Faks:0216-3407712

12. KLİNİK BİLGİ FORMU (DEVAMI)

ACIBADEM LABGEN

HASTA SEMPTOMATİK Mİ? : ☐ EVET ☐ HAYIR

HASTALIK SEMPTOMLARI:

☐ **SENKOP**
- ☐ STRES İLE
- ☐ STRESSİZ

☐ **NÖBET**

☐ **RİTM BOZUKLUĞU (ARİTMİ):**
- ☐ TORSADE DE POINTES (TdP)
- ☐ VENTRİKÜLER FİBRİLASYON (VF)
- ☐ VENTRİKÜLER FLUTTER
- ☐ ATRİYAL FİBRİLASYON
- ☐ SİNÜS TAŞİKARDİ
- ☐ SİNÜS BRADİKARDİ
- ☐ DİĞER (Belirtiniz)_____
- ☐ VENTRİKÜLER TAŞİKARDİ (VT) (Belirtiniz)_____
- ☐ VENTRİKÜLER PREMATÜRE ATIM (VPS)
- ☐ SİNÜS TAŞİKARDİ
- ☐ ATRİYAL FLUTTER
- ☐ SUPRAVENTRİKÜLER TAŞİKARDİ (SVT)
- ☐ PREMATURE ATRİYAL KONTRAKSİYON (PAC)

☐ **EKG ANOMALİSİ**

EKG'DE ORTALAMA QTc (Ms) (Belirtiniz): _____

EKG'DE ST-T DALGA MORFOLOJİSİ (Belirtiniz): _____

DİĞER EKG ANOMALİSİ (Belirtiniz): _____

☐ **EFOR (TREADMİL) TESTİ POZİTİFLİĞİ (Belirtiniz):** _____

☐ **HOLTER ANOMALİSİ (Belirtiniz):** _____

☐ **HASTADA İŞİTME KAYBI** (☐ BİLATERAL ☐ UNİLATERAL)

☐ **ANİ KARDİYAK ARREST**

☐ **MYOKARD İNFARKTUS**

☐ **KALPTE EKOKARDİYOGRAFİ/MRI ANOMALİSİ (Belirtiniz):** _____

☐ **NÖROLOJİK SEMPTOMLAR (Belirtiniz):** _____

☐ **DOĞUMSAL KALP HASTALIĞI (Belirtiniz):** _____

☐ **KALP YETMEZLİĞİ**

☐ **NEFES DARLIĞI (DİSPNE)**

☐ **GÖĞÜS AĞRISI**

2

Acıbadem Genetik Tanı Merkezi
Fahrettin Kerim Gökay Cad. No: 49. Altunizade, Üsküdar, İstanbul. Tel: 0216-544 38 45 Faks:0216-3407712

12. KLİNİK BİLGİ FORMU (DEVAMI)

ACIBADEM LABGEN

- ☐ İNME
- ☐ HİPERTANSİYON
- ☐ HİPOTANSİYON
- ☐ KARDİYOMİYOPATİ (Belirtiniz): _____
- ☐ DİYABET
- ☐ KAN ANOMALİSİ (Belirtiniz): _____
- ☐ ELEKTROLİT ANOMALİSİ (Belirtiniz): _____
- ☐ METABOLİK SEMPTOMLAR (Belirtiniz): _____
- ☐ ENDOKRİN SEMPTOMLARI (Belirtiniz): _____
- ☐ KAS-İSKELET SİSTEMİ SEMPTOMLARI (Belirtiniz): _____
- ☐ RENAL SEMPTOMLAR (Belirtiniz): _____
- ☐ DİSMORFİK BULGULAR (Belirtiniz): _____
- ☐ GELİŞİM GERİLİĞİ (Belirtiniz) _____
- ☐ OTİZM
- ☐ ZEKA GERİLİĞİ
- ☐ DİĞER ANOMALİLER (Belirtiniz): _____

KARDİYOLOJİK SEMPTOMLAR HANGİ DURUMDA TETİKLENİYOR?
☐ EKZERSİZ ☐ YÜZME ☐DUYGUSAL ☐KORKU ☐ DİNLENME ☐DİĞER(Belirtiniz)_____

HASTALIK BAŞLANGIÇ YAŞI (Belirtiniz):_____

HASTALIĞIN SEYRİ ; ☐ HIZLI ☐ YAVAŞ

DİĞER BULGULAR:

DÜZENLİ KULLANDIĞI İLAÇLAR :

SİGARA KULLANIMI: ☐ EVET ☐HAYIR

ALKOL KULLANIMI: ☐ EVET ☐HAYIR

UYUŞTURUCU MADDE KULLANIMI: ☐ EVET ☐ HAYIR

3

Acıbadem Genetik Tanı Merkezi
Fahrettin Kerim Gökay Cad. No: 49. Altunizade, Üsküdar, İstanbul. Tel: 0216-544 38 45 Faks:0216-3407712

12. KLİNİK BİLGİ FORMU (DEVAMI)

ACIBADEM LABGEN

ANNE ve BABANIN MEMLEKETİ: _____

ANNE ve BABA AYNI KÖYDEN YA DA KASABADAN MI? (Belirtiniz) _____

ANNE ve BABA AKRABA MI? (Belirtiniz) _____

AİLEDE ŞÜPHELİ/BİLİNEN KALITSAL KALP HASTALIĞA SAHİP BAŞKA BİREY VAR MI? (Belirtiniz)_____

AİLEDE ANİ BAYILMA ÖYKÜSÜ VAR MI? (Belirtiniz)_____

AİLEDE NEDENİ BİLİNMEYEN ANİ, GENÇ YAŞTA ÖLÜM ÖYKÜSÜ OLAN BİREY VAR MI? (Belirtiniz)_____

AİLEDE KONJENİTAL SAĞIRLIK ÖYKÜSÜ VAR MI? (Belirtiniz)_____

AİLEDE DİYABET ÖYKÜSÜ OLAN BİREY VAR MI? (Belirtiniz)_____

İZLEYEN KLİNİSYENİN ADI VE İRTİBAT BİLGİLERİ:

* DNA-LABARATUVAR ÇALIŞANLARI TARAFINDAN DOLDURULACAKTIR.		
	Örnek Ulaşma Tarihi:	
Materyal: ☐ Kan ☐ DNA ☐ Tükürük ☐ Diğer:_____	**DNA İzolasyon Tarihi:**	**Aile numarası:**
	RNA İzolasyon Tarihi:	**DNA-numarası:**

Not: ECG /Echo / MRI sonucu varsa ekleyiniz.

* Hastaya ait 5-12 cc. EDTA'lı tüpte kan bekletilmeden oda ısısında/tercihen +4 C koşulunda materyalin donması engellenecek şekilde laboratuvarımıza gönderilmelidir (Materyallerden RNA izolasyonu da yapılacağı için acil olarak gönderilmelidir).

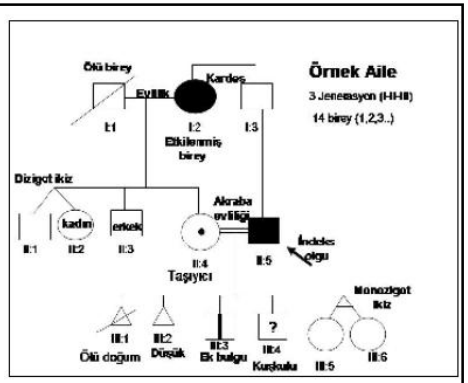
4

Acıbadem Genetik Tanı Merkezi
Fahrettin Kerim Gökay Cad. No: 49. Altunizade, Üsküdar, İstanbul. Tel: 0216-544 38 45 Faks:0216-3407712

12. KLİNİK BİLGİ FORMU (DEVAMI)

ACIBADEM LABGEN

GENETİK UZMANI/HEKİM TARAFINDAN ÇİZİLEN AİLE AĞACI:



Not: Aile ağacı çizimi için yukarıdaki örnek aileden yararlanabilirsiniz. Sorularınız için Prof.Dr. Yasemin Alanay ile irtibata geçiniz. e-mail: yalanay@gmail.com, Tel: 0 2123044117

Acıbadem Genetik Tanı Merkezi
Fahrettin Kerim Gökay Cad. No: 49. Altunizade, Üsküdar, İstanbul. Tel: 0216-544 38 45 Faks:0216-3407712

13. BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

ACIBADEM LABGEN

BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU:

Bay/Bayan……

Kalbin elektriksel akımının bozulması ile karakterize, hem çocukluk hem de erişkin dönemde sıklığı gidetek artan ve eritmilerin hayatı tehdit ettiği ani kardiyak ölümü ile sonuçlanabilen önemli bir hastalık grubu olan kalıtsal eritmili hastalarda, hastalıktan sorumlu olan gen ve mutasyonların tesbit edilerek hastalıkla ilişkili genetik risklerin belirlenmesi ve optimal tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlamak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi **'Kalıtsal artimi tanısı almış hastalarda yeni nesil sekanslama teknolojileri ile hastalıkla ilişkili mutasyonların ve yeni genlerin tesbit edilmesi'** dir.

Araştırmamıza sizi de davet ediyoruz. Araştırmaya davet edilmenizin nedeni sizde/çocuğunuzda/ailenizin bir üyesinde kalıtsal aritmi tanısının olmasıdır. Şu anda bir yakınınız olmasa dahi katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir. Bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Bu çalışmaya katılım nedeniyle size bir ödeme yapılmayacak ve sizden bir ücret talep edilmeyecektir. Dilediğiniz zaman çalışmaya katılmaktan vazgeçebilirsiniz. Reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı geri çekme hakkına sahipsiniz. Bu durumda sizden almış olduğumuz örnek imha edilecektir. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu araştırma, ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yanıtı olacaktır. Hastalığın temelinde yatan neden/nedenler belirlenebilirse ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır. Kalıtsal aritmi tanısı almış hastalarda genetik tanı önemlidir, bu sayede hastalık geliştirme riskinin yüksek olduğu bireyler iyi bir genetik danışma ile erken dönemde tesbit edilebilecek ve semptomlar başlamadan önlem almarak erken dönemde tedavileri mümkün olacaktır. Bu sayede gebelik sırasında prenatal tanı ya da doğumdan önce PGT (Preimplantasyon genetik tanı) yapılması da mümkün olacaktır.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz ilgili hekim tarafından muayene edilecek ve bulgularınız kaydedilecektir. Muayene bulguları protokol numarası verilen hasta dosyanızda saklanacak, bu kayıtlar ileride tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Araştırmacılar kayıtların ve araştırma sonuçlarının gizliliğini sağlayacaktır. Kimlik bilgileriniz gizli tutularak bilgiler bilimsel nitelikte çalışma ve yayınlar dışında herhangi bir amaçla kullanılmayacaktır. Kan örnekleri, Türkiye'deki ya da yurt dışında (gerekirse) genetik laboratuvarlarında çalışılacaktır.

Yapmak istediğimiz araştırmanın size risk getirmesi beklenmemektedir. Bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 5-12 ml. kadar kan alınacaktır. Alınan kandan, genom düzeyindeki çalışmalar için yüksek miktarda DNA materyali ve olası fonksiyonel çalışmalarda kullanılmak üzere RNA materyali izole edilecektir. Kan alınmasının genelde hiçbir zararı olmamasına karşın, nadiren ve çok az kanama ve morarmaya yol açabilir. İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. Düşük bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır. Yapılacak araştırma yüksek kalitede DNA materyali gerektirir. Bazı durumlarda, alınan örnekle ilgili yetersiz bir hacim, kalite ve/ya da durum oluşursa ilave örneğe ihtiyaç duyulabilir, bu gibi durumlarda sizden bir kez daha kan vermeniz istenecektir. Düşük bir ihtimalle yanık içinden aldığınız sürüntü sonrası enfeksiyon gözlenebilir.

Genetik bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Bu nedenle, araştırmanız sonucunda elde edilecek sonuçların sıkı bir güvenlik çerçevesinde korunacağını ve bilgilerinizin gizli tutulacağını taahhüt ederiz.

Araştırmanın sonucunda, sizde/çocuğunuzda görülen hastalığın genetik nedeni tesbit edilemeyebilir ya da yapacağınız testler, sizin veya ailenizin bir fertinin sonraki bir dönemde bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Ayrıca test sonuçlarında evlat edinme ya da biyolojik ebeveyn olmama durumları tesbit edilebilir. Bu nedenle, böyle bir olasılık varsa lütfen bizi bilgilendirmekten kaçınmayınız. Bu bilgi sıkı bir güvenlikle gizli tutulacaktır.

Bahsedilen riskler genetik araştırmalarda yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

Bu araştırmanın sonuçları, istediğiniz takdirde herhangi bir ücret talep edilmeden size bildirilecektir. Ancak bu bilgiyi öğrenmeyi reddetme hakkınız da bulunmaktadır. Sonuçlarla ilgili bilgi almayı istiyorsanız ya da istemiyorsanız lütfen formun en sonunda belirtilen kısmı doldurunuz.

Bu formu imzalamadan önce, çalışmayla ilgili sorularınız varsa lutfen sorunuz. Araştırma sırasında klinik sorularınız için, Prof. Dr. Alpay Çeliker ya da Prof.Dr. Yasemin Alanay'ı 02123044444 numaralı telefondan arayabilirsiniz. Araştırma ile ilgili sorularınız için ise Prof.Dr. M. Cengiz Yakıcıer'i 02165443766 ve tez öğrencisi Burcu Türkgeneç'i ise 02162438465 numaralı telefondan arayabilirsiniz.

*Adres ve telefon numaranız değişirse, bize haber vermenizi rica ederiz.

1

Acıbadem Genetik Tanı Merkezi
Fahrettin Kerim Gökay Cad. No: 49, Altınzade, Üsküdar, İstanbul. Tel: 0216 544 38 45 Faks: 0216 340 7711
E-posta: genetik@acibadem.com.tr, Web: www.acibademgenetik.com.tr

13. BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU (DEVAM)

ACIBADEM LABGEN

ONAMI:

Dr. .....Kalıtsal aritmilerle ile ilgili yapılacak olan genetik araştırma hakkında beni bilgilendirdi. Yukarıda belirtilen ve araştırma prosedürünün muhtemel risk ve faydaları hakkında yeterince bilgilendirildim. Adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer almaı kararını aldım. Bu konuda yapılan daveri büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Burada attığım imza ile genetik araştırmanın yapılması, materyalimin saklanması, gereği halinde kimlik bilgilerim saklı kalmak koşulu ile elde edilen verilerin proje araştırmacıları tarafından bilimsel çalışma ve yayınlarda kullanılmasını kabul ediyorum ve bu onayı verirken yukarıdaki bilgileri okuduğumu, anladığımı ve kabul ettiğimi de tasdik ediyorum. Bu imzalı formun bir kopyası bana verilecektir.

Önemli not:
Zihinsel özürlü kişiler, bilinci kapalı olanlar ve reşit olmayan çocuklar için bu belge velisi veya vasisi tarafından doldurulacaktır.

(Bu belge 3 sayfadan oluşmaktadır).

_____	_____	_____	_____	_____
Tarih	Hasta adı soyadı	Doğum Tarihi	Adres ve telefon	İmza
_____	_____	_____	_____	_____
Tarih	Ebeveyn/Vekil'in adı soyadı	Doğum Tarihi	Adres ve telefon	İmza
_____	_____	_____	_____	_____
Tarih	Şahit (Varsa)	Doğum Tarihi	Adres ve telefon	İmza

AÇIKLAMAYI YAPAN HEKİMİN:

Ad Soyad ve unvanı:

Adres :

Telefon:

Görüşme tarihi.

İmza:

Araştırmanın sonuçlarıyla ilgili bilgi almak..... (istiyorum/istemiyorum).

2

Acıbadem Genetik Tanı Merkezi
Fahrettin Kerim Gökay Cad. No: 49, Altunizade, Üsküdar, İstanbul. Tel: 0216 544 38 40 Faks: 0216 340 77 12
E-posta: genetik@acibadem.com.tr Web: www.acibademgenetik.com.tr