



**T.C.**

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**KLİNİK EKZOM DİZİLEME YAPILAN HASTALARDA  
İKİNCİL BULGULARIN RETROSPEKTİF OLARAK  
TARANMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Büşra ÖZGÜÇ ÇALIŞKAN**

**KAYSERİ, 2025**



**T.C.**

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**KLİNİK EKZOM DİZİLEME YAPILAN HASTALARDA  
İKİNCİL BULGULARIN RETROSPEKTİF OLARAK  
TARANMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Büşra ÖZGÜÇ ÇALIŞKAN**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Munis DÜNDAR**

**KAYSERİ, 2025**

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının hazırlanması sürecinde bana destek olan ve katkı sağlayan tüm kişi ve kurumlara teşekkürlerimi sunmak istiyorum.

Öncelikle, bilgi ve tecrübeleriyle tezime yön veren, bana rehberlik eden, değerli danışman hocam Prof. Dr. Munis DÜNDAR'a

Eğitim sürecim boyunca bilgilerimi benimle paylaşan ve desteklerini esirmeyen bölümümüzün değerli hocaları Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL'a, Doç. Dr. Aslıhan KIRAZ'a ve Öğr. Gör. Dr. Hilal AKALIN'a;

Eğitimim boyunca beraber çalıştığım tıbbi sekreterlerimize ve bölümümüzün tüm laboratuvar çalışanlarına;

Bu süreçte bana her anlamda destek olan, bilgi ve deneyimlerini paylaşarak çalışmamın her aşamasında yanımda olan, sadece akademik anlamda değil, aynı zamanda motivasyonumu yüksek tutmamı sağlayarak bu süreci daha keyifli ve anlamlı hale getiren değerli asistan doktor arkadaşlarıma;

Asistanlık sürecim boyunca bir çalışma arkadaşından öte bir anne şefkatiyle yaklaşan kıymetli hemşiremiz Selma ÜSTÜNEL'e;

Son olarak bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan ve uzakta da olsa manevi desteklerini her daim yanımda hissettiren sevgili annem Hava ÖZGÜÇ'e ve sevgili babam Murat ÖZGÜÇ'e, değerli ablalarım, neşe kaynağım yeğenlerime ve özellikle göstermiş olduğu sabır ve anlayışla bu süreçte en büyük destekçim olan kıymetli hayat arkadaşım Dr. Alican Enver ÇALIŞKAN'a;

Teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

Bu çalışmada, 2383 hastanın Kapsamlı Ekzom Dizileme (KED) verileri retrospektif olarak analiz edilerek ikincil bulgular incelenmiştir. Hem ACMG kılavuzu v3.2'deki 81 gen hem de kılavuz dışı eyleme geçirilebilirliği olan 23 gen değerlendirilmiştir. Çalışma, Türk popülasyonunda ikincil bulguların ele alındığı en kapsamlı çalışma olmasının yanı sıra, kılavuz dışı tesadüfi bulguların incelendiği ilk çalışmadır. Tek nükleotid varyantları analiz edilmiş ve kopya sayısı değişiklikleri kapsam dışında tutulmuştur. ACMG kılavuzundaki genlerde %4,49, kılavuz dışı genlerde ise %7,55 oranında raporlanabilir varyant saptanmıştır. Kılavuz dışı genlerde taşıyıcılık oranı %22,2 gibi yüksek bir değer göstermiştir. ACMG genleri için en sık ikincil bulgu saptanan grup kardiyovasküler hastalık fenotipiyle ilişkili genlerdir (%60). Kılavuz dışı genlerde ise en sık kanser fenotipi ile ilgili genlerin olduğu grupta ikincil bulgu saptanmıştır (%34). Çalışmada ACMG kılavuzundaki 17 gende 29 varyant, kılavuz dışı 9 gende 13 varyant olmak üzere toplam 26 gende 42 yeni varyant tespit edilmiştir.

KED testinin hem ACMG kılavuzundaki hem de kılavuz dışı genlerde ikincil bulguların tespiti açısından verimli bir yöntem olduğu bulunmuştur. Bu bulguların bildirilmesi, erken tanı ve tedavi imkânı sağlayarak hastaların prognozunu iyileştirebilir ve genetik danışmanlık yoluyla aile bireylerinin risk değerlendirmesine olanak tanıyabilir. Çalışmada tespit edilen yüksek taşıyıcılık oranları, akraba evliliği sıklığına bağlı genetik hastalık riskine dikkat çekmektedir. Sonuçlar, popülasyon genetiği farklılıklarının dikkate alınarak tarama programlarının düzenlenmesinin önemini vurgulamaktadır. Çalışmamız, kılavuzda yer almayan bazı genlerin Türk popülasyonu için ikincil bulgu değerlendirmesinde gözden geçirilmesinin fayda sağlayabileceğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** İkincil bulgular; ACMG v3.2; Eyleme geçilebilir genler; Yeni nesil dizileme

## ABSTRACT

This study retrospectively analysed the Comprehensive Exome Sequencing (CES) data of 2383 patients and examined secondary findings, evaluating 81 genes in the ACMG guideline v3.2 and 23 genes with non-guideline actionability. Notably, this study is the most comprehensive examination of secondary findings in the Turkish population and the first to investigate incidental non-guideline findings. The analysis encompassed single nucleotide variants, while copy number alterations were excluded from the study. The presence of reportable variants was detected in 4.49% of ACMG guideline genes and 7.55% of non-guideline genes. Notably, the carrier rate for non-guideline genes reached as high as 22.2%. For ACMG genes, the most prevalent group associated with secondary findings was that of genes linked to cardiovascular phenotype (60%). In the case of non-guideline genes, secondary findings were most frequently detected in the group of genes associated with cancer phenotype (34%). The study identified 42 novel variants in a total of 26 genes, including 29 variants in 17 genes in the ACMG guidelines and 13 variants in 9 genes outside the guidelines.

The CES test was found to be an efficient method for the detection of secondary findings in both ACMG guideline and non-guideline genes. Reporting these findings may improve the prognosis of patients by enabling early diagnosis and treatment and may enable risk assessment of family members through genetic counselling. The high carrier rates detected in the study draw attention to the risk of genetic diseases associated with the frequency of consanguineous marriage, and the results emphasise the importance of organising screening programs taking into account population genetic differences. The study suggests that certain genes may be considered as candidate genes for secondary finding evaluation for the Turkish population.

**Keywords:** Secondary findings; ACMG v3.2; Actionable genes; Next generation sequencing

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ .....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. İNSAN GENOMU PROJESİ.....	3
2.2. YENİ NESİL DİZİLEME .....	4
2.2.1. Yeni nesil dizileme teknolojisinin gelişimi .....	4
2.2.2. Yeni nesil dizileme teknolojilerinin uygulama alanları ve nadir hastalıkların tanısındaki yeri.....	6
2.3. ACMG VARYANT SINIFLANDIRMA KRİTERLERİ VE BİYOİNFORMATİK ANALİZ.....	8
2.4. TESADÜFİ/ İKİNCİL BULGULAR VE ACMG ÖNERİLERİ.....	9
<b>3.GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>15</b>
3.1.ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN BİREYLERİN VERİLERİNİN TOPLANMASI .....	15
3.2. ACMG KILAVUZU v3.2'DEKİ GENLER İÇİN PANEL OLUŞTURMA ....	16
3.3.ACMG KILAVUZ DIŞI GENLERDEKİ TESADÜFİ BULGULAR İÇİN PANEL OLUŞTURMA.....	16
3.4.YENİ NESİL DİZİLEME, VARYANT ANALİZİ VE SINIFLANDIRILMASI .....	18
<b>4.BULGULAR.....</b>	<b>22</b>
4.1.HASTALARIN DEMOGRAFİK VERİLERİ .....	22
4.2.ACMG KILAVUZU v3.2'YE GÖRE TESPİT EDİLEN VARYANTLAR.....	25
4.2.1.Kanser fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar.....	26
4.2.2.Kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar .....	32
4.2.3. Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar .....	42
4.2.4. Diğer fenotipler ile ilgili genlerdeki varyantlar .....	46
4.2.5. ACMG İkincil Bulgular Kılavuzunda Önerilen Genlerdeki Yeni Varyantlar .....	51
4.2.6. ACMG İkincil Bulgular Kılavuzunda Önerilen Genlerdeki Bulguların Yaygınlığı.....	55

4.3. KILAVUZ DIŞI GENLERDEKİ TESADÜFİ BULGULARA GÖRE TESPİT EDİLEN VARYANTLAR .....	58
4.3.1. Kanser Fenotipleri ile İlgili Kılavuz Dışı Genlerdeki Varyantlar .....	58
4.3.2. Kalıtsal Metabolik Hastalık Fenotipleri ile İlgili Kılavuz Dışı Genlerdeki Varyantlar .....	66
4.3.3. Hematolojik Hastalık Fenotipleri ile İlgili Kılavuz Dışı Genlerdeki Varyantlar .....	78
4.3.4. Diğer fenotipler ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar .....	84
4.3.5. Kılavuz Dışı Genlerdeki Yeni Varyantlar .....	90
4.3.6. Kılavuz Dışı Genlerdeki İkincil Bulguların Yaygınlığı .....	92
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>95</b>
<b>5.1. ACMG KILAVUZU v3.2'YE GÖRE İKİNCİL BULGULAR .....</b>	<b>96</b>
5.1.1. ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar .....	100
5.1.2. ACMG v3.2'ye göre kanser fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar ..	100
5.1.3. ACMG v3.2'ye göre metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar .....	102
5.1.4. ACMG v3.2'ye Göre Diğer Hastalık Fenotipleri ile İlgili Genlerdeki Varyantlar .....	102
<b>5.2. KILAVUZ DIŞI GENLERDEKİ TESADÜFİ BULGULAR .....</b>	<b>103</b>
5.2.1. Kanser fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar .....	104
5.2.2. Hematolojik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar .....	105
5.2.3. Metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar .....	107
5.2.4. Diğer Hastalık Fenotipleri ile İlgili Kılavuz Dışı Genlerdeki Varyantlar ..	110
<b>6. SONUÇLAR .....</b>	<b>113</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>115</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

$\beta$ -tal: Beta Talasemi

XB: X'e bağılı

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ACMG: Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Koleji

AF: Allel frekansı

AMP: Moleküler Patoloji Derneği

APC: Aktive protein C

BCL: Baz çağrılıları

BMD: Becker Musküler Distrofisi

CCMG: Kanada Tıbbi Genetikçiler Koleji

CK: Kreatin kinaz

CNV: Kopya sayısı varyantları (Copy Number Variation)

dbSNP: Tek nükleotid polimorfizmi veritabanı (The Single Nucleotide Polymorphism database)

DD: Digenik dominant

DMD: Duchenne Musküler Distrofisi

DNA: Deoksiribonükleik asit

DOE: Enerji Bakanlığı

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ESHG: Avrupa İnsan Genetiği Derneği

FASTQ: Hızlı kalite dosyası (Fast Adaptive Shrinkage Thresholding Algorithm and Quality)

FKÜ: Fenilketonüri

FMF: Ailevi Akdeniz Ateşi

G6PD: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz

HBYS: Hastane Bilgi Yönetim Sistemi

HFA: Hiperfenilalaninemi

IGV: Entegre Genomik Görüntüleyici (Integrative Genomics Viewer)

İGP: İnsan Genom Projesi

KED: Klinik Ekzom dizileme

KF: Kistik Fibrozis

KVH: Kardiyovasküler hastalık

LoF: Fonksiyon kaybı

LP: Olası patojenik

MAF: Minör Allel Frekansı

MODY: Gençlerde diyabetin olgunluk başlangıcı (maturity-onset diabetes of the young )

NCBI: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi

NCCN: Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı

NMGG: Nöromotor gelişim geriliği

OD: Otozomal dominant

OR: Otozomal resesif

P: Patojenik

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)

TED: Tüm Ekzom dizileme

TGD: Tüm Genom Dizileme

VCF: Varyant çağırma dosyası (Variant Calling File)

VUS: Önemi bilinmeyen varyant

vWH: von Willebrand hastalığı

YND: Yeni Nesil Dizileme

## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo 2.1.</b> ACMG kılavuzu v3.2’de rapor edilmesi önerilen genler (12).....	11
<b>Tablo 3.1.</b> Kılavuz dışı ikincil bulguların değerlendirileceği 23 genin listesi.....	17
<b>Tablo 4.1.</b> Çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş ve cinsiyete göre dağılımı .....	22
<b>Tablo 4.2.</b> Çalışmaya dahil edilen bireylerin başvuru endikasyonlarına göre sayıları .....	23
<b>Tablo 4.3.</b> ACMG v3.2’ye göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantlar .....	28
<b>Tablo 4.4.</b> ACMG v3.2’ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar .....	34
<b>Tablo 4.5.</b> ACMG v3.2’ye göre kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar .....	44
<b>Tablo 4.6.</b> ACMG v3.2’ye göre diğer hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar .....	48
<b>Tablo 4.7.</b> ACMG kılavuzu v3.2’de yer alan genlerdeki yeni varyantlar.....	52
<b>Tablo 4.8.</b> Kanser fenotipleriyle ilişkilendirilmiş kılavuz dışı genlerde saptanan ikincil varyantlar .....	61
<b>Tablo 4.9.</b> Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar .....	69
<b>Tablo 4.10.</b> Hematolojik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar .....	80
<b>Tablo 4.11.</b> Diğer hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar .....	86
<b>Tablo 4.12.</b> Kılavuz Dışı Genlerdeki Yeni Varyantlar .....	91
<b>Tablo 5.1.</b> Farklı çalışmalardan elde edilen ikincil bulgu oranlarının karşılaştırılması .....	98

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 4.1.</b> Çalışmaya dahil edilen bireylerin başvuru endikasyonlarına göre oranı... 24	
<b>Şekil 4.2.</b> ACMG v3.2'ye göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan kişi sayıları..... 27	
<b>Şekil 4.3.</b> ACMG v3.2'ye göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı..... 31	
<b>Şekil 4.4.</b> ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları..... 33	
<b>Şekil 4.5.</b> ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı..... 41	
<b>Şekil 4.6.</b> ACMG v3.2'ye göre metabolik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları ..... 43	
<b>Şekil 4.7.</b> ACMG v3.2'ye göre metabolik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı..... 45	
<b>Şekil 4.8.</b> ACMG v3.2'ye göre diğer hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları ..... 47	
<b>Şekil 4.9.</b> ACMG v3.2'ye göre diğer hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı..... 50	
<b>Şekil 4.10.</b> Çalışmada ACMG v3.2 genlerinde birincil varyant, raporlanabilir ikincil varyant ve taşıyıcılık tespit edilen toplam kişi sayıları ..... 56	
<b>Şekil 4.11.</b> Raporlanabilir ikincil varyant saptanan 107 kişinin fenotip gruplarına göre dağılımı ..... 57	
<b>Şekil 4.12.</b> Kılavuz dışı incelenen genlere göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları ..... 60	
<b>Şekil 4.13.</b> Kılavuz dışı incelenen genlere göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı..... 65	

<b>Şekil 4.14.</b> Kılavuz dışı incelenen genlere göre metabolik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları.....	68
<b>Şekil 4.15.</b> Kılavuz dışı incelenen genlere göre metabolik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı.....	77
<b>Şekil 4.16.</b> Kılavuz dışı incelenen genlere göre hematolojik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları .....	79
<b>Şekil 4.17.</b> Kılavuz dışı incelenen genlere göre hematolojik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı .....	83
<b>Şekil 4.18.</b> Kılavuz dışı incelenen genlere göre diğer hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları.....	85
<b>Şekil 4.19.</b> Kılavuz dışı incelenen genlere göre diğer hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı.....	89
<b>Şekil 4.20.</b> Çalışmada kılavuz dışı genlerde birincil varyant, raporlanabilir ikincil varyant ve taşıyıcılık tespit edilen toplam kişi sayıları .....	93
<b>Şekil 4.21.</b> Kılavuz dışı genlerde raporlanabilir ikincil varyant saptanan 179 kişinin fenotip gruplarına göre dağılımı .....	94

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son yıllarda biyoteknoloji ve genetik araştırmalarında yaşanan hızlı ilerlemeler, genetik hastalıkların tanı ve tedavisinde çığır açan yeniliklere zemin hazırlamıştır. Özellikle yeni nesil dizileme (YND) teknolojileri, genomik analizlerde hız ve doğruluk açısından büyük avantajlar sağlayarak genetik araştırmaların temel araçlarından biri haline gelmiştir. Bu teknolojiler, genetik materyalin detaylı bir şekilde incelenmesini mümkün kılmakta ve bireysel genetik varyasyonların daha iyi anlaşılmasına olanak tanımaktadır (1). Yüksek verimli dizileme yöntemleri, geniş ölçekli genomik projelerde ve karmaşık genetik bozuklukların çözümünde önemli bir rol oynamaktadır. Bu bağlamda, tüm genom dizileme (TGD) ve tüm ekzom dizileme (TED) gibi teknikler, genetik hastalıkların tanısında ve genetik varyantların belirlenmesinde kritik öneme sahiptir (2, 3).

YND teknolojilerinin sunduğu geniş veri üretme kapasitesi, kişiselleştirilmiş tıbbın gelişimini desteklerken, genetik hastalıkların tanı ve tedavisinde önemli bir dönüşüm yaratmıştır (4). Bununla birlikte, bu teknolojilerin sunduğu geniş kapsamlı veriler, rastlantısal veya ikincil bulgular olarak adlandırılan, araştırmanın birincil hedefi dışında elde edilen genetik bilgilerin de incelenmesini gündeme getirmiştir. Bu tür bulgular, hastanın farkında olmadığı ya da araştırma sırasında hedeflenmeyen genetik varyasyonları içerebilir ve klinik olarak önemli bilgiler sağlayabilir (5, 6). İkincil bulguların yönetimi ve raporlanması, genetik danışmanlık ve etik yaklaşımlar açısından önemli tartışmalara yol açmıştır. Bu bağlamda, rastlantısal bulguların

hastalara nasıl iletileceği ve klinik m¼dahale gerektirip gerektirmediği gibi konular, genetik uygulamalarda giderek daha fazla ¼nem kazanmaktadır (7, 8).

Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Koleji (ACMG), ikincil bulguların klinik uygulamalardaki rol¼n¼ ve y¼netimini d¼zenlemek amacıyla ¼eşitli kılavuzlar yayınlamıştır (9-12). İlk olarak 2013 yılında yayımlanan kılavuz, belirli genlerin ve varyantların klinik olarak ¼nemli kabul edilmesi durumunda raporlanması gerektiğini belirtmiştir (10). Bu kılavuzda ¼nerilen gen listesi, genetik testler sırasında rastlantısal olarak elde edilen ve sağlık a¼ısından risk teşkil edebilecek bulgulara odaklanmıştır. Takip eden yıllarda yapılan g¼ncellemelerle bu liste genişletilmiş ve genetik danışmanlık s¼re¼lerine y¼nelik daha kapsamlı y¼ntemler ¼nerilmiřtir (13).

2023 yılında yayımlanan son ACMG kılavuzu (v3.2), genetik testler sırasında raporlanması gereken ikincil bulgular listesini 81 gene ¼ıkarımtır (12). Bu g¼ncellemeler, genetik bilgilendirme ve danışmanlık s¼re¼lerinde daha geniş bir klinik yelpazeyi kapsayacak şekilde hazırlanmıştır.

Bu tez ¼alıřmasında, yeni nesil dizileme teknolojilerinin genetik hastalıkların tanısındaki rol¼ ve rastlantısal bulguların klinik uygulamalara entegrasyonu detaylı bir şekilde ele alınmıştır. Ayrıca, ikincil bulguların etik ve pratik y¼netimi üzerine geliştirilen uluslararası kılavuzlar analiz edilerek, bu alandaki mevcut uygulamalar ve olası gelişmeler tartışılmıştır.

Ek olarak ¼alıřmada, ACMG ikincil bulgular listesinde yer almayan, ancak listeye eklenme potansiyeli taşıyan genler ¼zerine hasta verileri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Bu analizler, eyleme ge¼ilebilir genlerin rastlantısal olarak saptanma oranlarına ışık tutmuştur ve hangi genlerin mevcut listeye eklenebileceği konusunda yeni ¼ıkarımlar yapılmasını sağlamıştır. Bildiğimiz kadarıyla T¼rkiye'de daha ¼nce bu b¼y¼kl¼kte geniş bir hasta veri seti ¼zerinde yapılmış ve ACMG ikincil bulgular listesinde olmayan ancak eyleme ge¼ilebilir olan alternatif genleri hedefleyen benzer bir ¼alıřma bulunmamaktadır. Bu bağlamda, ¼alıřma, genetik testlerin klinik uygulamalardaki kapsamını genişletmeye y¼nelik ¼nemli bir katkı sunmayı ama¼lamaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.İNSAN GENOMU PROJESİ

İnsan Genom Projesi (İGP), insan türünün tüm genlerini haritalamayı ve anlamayı amaçlayan, biyoloji tarihindeki en önemli bilimsel çabalardan birini temsil etmektedir (14). İnsan genomu çalışmalarının temeli, 1985'te düzenlenen sempozyum ve DOE destekli toplantılarla atılmıştır. Resmi olarak Ekim 1990'da başlatılan proje, yaklaşık 3 milyar deoksiribonükleik asit (DNA) baz çiftinden oluşan insan genomunun tamamını dizilemeyi ve sayılarının 20.000 ila 25.000 civarında olduğu tahmin edilen tüm insan genlerini tanımlamayı amaçlayan uluslararası bir iş birliğidir (15-17). İnsan Genomu Projesi, 15 yıl sürmesi ve 3 milyar dolara mal olması planlanan bir girişim olarak tanıtılmıştır.

Proje, insan genomunun yanı sıra bazı model organizmaların (*E. coli*, maya (*S. cerevisiae*), meyve sineği (*D. melanogaster*), fare (*Mus domesticus*) ve solucan (*C. Elegans*)) genomlarını da haritalamayı hedeflemiştir. 1994'te insan genomunun kapsamlı bir genetik haritası yayımlanmıştır (18). 1998'de ileride Celera Genomics olarak adlandırılacak olan özel kuruluşun genom dizileme için kamu projesiyle rekabet ortamı oluşturmasıyla süreç daha hızlı ilerlemiştir. 1999'da ilk milyar baz çifti dizilenmiş ve 22. kromozomun tam dizisi tamamlanmıştır (19). 2000 yılında Beyaz Saray'da Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Başkanı Bill Clinton ve İngiltere Başbakanı Tony Blair hem kamu destekli İGP'nin hem de özel bir şirket olan Celera'nın genom taslaklarını duyurmuştur. Bu toplantıda insan genom dizisi taslaklarını tanımlayan iki makalenin *Science* (20) ve *Nature* (21) dergilerinde eş

zamanlı olarak yayınlanması şeklinde anlaşmaya varılmıştır. Bu taslaklar Şubat 2001'de yayınlanmış ve biyolojik araştırmalarda önemli bir dönüm noktasını işaret etmiştir (20-23). Proje kapsamında 2003 yılına kadar neredeyse tamamlanmış bir dizi elde edilmiş ve bu olay genomikte önemli kilometre taşlarından birini ortaya koymuştur (24).

İGP yalnızca insan genomunun referans haritasını sağlayarak genetik araştırmalara yön vermekle kalmamış, aynı zamanda dizileme teknolojilerindeki ilerlemeyi hızlandırmış ve DNA dizilemesinin maliyetlerini önemli ölçüde düşürmüştür (25). Proje, başlangıçta genetik haritalar oluşturmaya odaklanmış, insan ve model organizmaların kromozomal konumlarının ve gen dizilerinin tanımlanmasını sağlamıştır (14). Ayrıca, biyoenformatik ve hesaplamalı analizlerin önemini vurgulayarak büyük ölçekli genomik verilerin yönetimi için yeni yaklaşımlar geliştirmiştir (26).

Projenin ilerleyen aşamalarında, genomik bilgilerin biyoloji dışındaki alanlar, özellikle etik, hukuk ve sosyal politika üzerindeki etkileri tartışmaya açılmıştır (15). İGP, tıp alanında kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının temellerini atmış, daha hassas teşhis ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır (27). Ayrıca, 1000 Genom Projesi gibi girişimlere zemin hazırlayarak insan genetik çeşitliliğinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunmuştur (28). Farmakogenomikle entegrasyon ise ilaç geliştirme süreçlerinde yeni terapötik yaklaşımların ortaya çıkmasını kolaylaştırmıştır (29).

## **2.2. YENİ NESİL DİZİLEME**

### **2.2.1. Yeni nesil dizileme teknolojisinin gelişimi**

DNA dizileme teknolojilerinin evrimi, genetik bilimi üzerinde derin bir etki yaratarak araştırmacılara yaşamın moleküler temellerini inceleme konusunda güçlü araçlar sunmuştur. Maxam-Gilbert ve Sanger yöntemleri gibi erken dönem tekniklerden başlayarak yeni nesil dizileme teknolojilerine kadar uzanan tarihsel gelişim, yenilikçilik ve artan verimlilikle şekillenmiş dikkate değer bir dönüşüm sürecini temsil etmektedir. Dizileme teknolojileri temelde üç nesle ayrılır: Birinci nesil, Sanger ve Maxam-Gilbert yöntemlerini içerir. Sanger dizilemesi, insan genomu dahil birçok

genomun dizilenmesini sağlamış ve sonraki teknolojilere temel oluşturmuştur. Bu sınırlamaları aşmak için geliştirilen yöntemler, ikinci ve üçüncü nesil teknolojiler olarak sınıflandırılan yeni nesil dizileme tekniklerini oluşturur (30). 1970'lerin sonunda geliştirilen Maxam-Gilbert yöntemi, DNA nükleotid dizilerini belirlemeye yönelik ilk tekniklerden biri olarak kabul edilir (31). Bu yöntem, DNA'nın belirli bazlarında kimyasal parçalanmaya dayanır ve üretilen DNA parçaları elektroforez ile analiz edilebilir (30). Ancak, yöntemin kimyasal karmaşıklığı ve toksik maddelere olan gereksinimi, kullanımını sınırlandırmıştır. Bu nedenle, Maxam-Gilbert yöntemi kısa sürede Sanger dizilemesi ile yer değiştirmiştir (30).

Sanger dizilemesi, DNA sentezi sırasında zincir sonlanmasını temel alan daha basit bir teknik sunmuştur (32). Bu yöntem, di-deoksinükleotidlerin kullanımıyla DNA iplik uzamasını sonlandırarak farklı uzunluklarda DNA parçaları oluşturur. Bu parçalar elektroforez yoluyla ayrılarak DNA dizisi elde edilir (30, 33). Sanger yöntemi, yüksek doğruluk ve güvenilirliği sayesinde uzun yıllar boyunca dizileme için tercih edilen altın standart haline gelmiştir ve İnsan Genomu Projesi gibi önemli genomik girişimlerin tamamlanmasında kritik bir rol oynamıştır (33). Bununla birlikte, yöntemin düşük verimliliği ve yüksek maliyetleri, özellikle büyük ölçekli genomik projelerde sınırlayıcı olmuştur (34).

Artan genomik veri ihtiyacı, daha hızlı, daha ucuz ve daha verimli dizileme yöntemlerinin geliştirilmesine olan ihtiyacı ortaya çıkarmıştır. Yeni nesil dizileme 2004 yılında İnsan Genomu Projesi'nin tamamlanmasının ardından hızla gelişmiş ve kısa sürede birinci nesil dizileme yöntemlerinin yerini almıştır (35). YND teknolojilerinin ortaya çıkışı, genetik biliminde bir devrim yaratarak araştırmacıların genomu daha verimli ve kapsamlı bir şekilde incelemelerine olanak tanımıştır (36, 37). İkinci nesil dizileme teknolojileri, Illumina ve Ion Torrent platformları gibi cihazlarla kısa DNA dizilerinin paralel analizini mümkün kılmıştır (38). Bu "kısa okuma" teknolojileri, genetik materyalin parçalanması ve adaptör bağlanması gibi süreçleri içeren karmaşık bir yapıya sahip olsa da yüksek doğruluk ve maliyet avantajları sunmaktadır (38, 39).

Daha sonra geliştirilen üçüncü nesil dizileme teknolojileri, Pacific Biosciences ve Oxford Nanopore platformları gibi uzun DNA okuma kapasitesine sahip sistemlerle YND'nin kapsamını genişletmiştir (39, 40). "Uzun okuma" teknolojileri, özellikle genom çapında tekrarlayan diziler ve yapısal varyasyonların analizinde etkin bir çözüm sunmuş, kısa okumaların yetersiz kaldığı bölgelerde önemli bir ilerleme

sağlamıştır. Bu teknolojiler başlangıçta yüksek hata oranlarıyla sınırlı olsa da yazılım geliştirmeleri sayesinde doğrulukları artırılmış ve kullanım alanları genişlemiştir (38-40).

YND, genetik hastalıkların teşhisinde standart bir araç haline gelmiştir. TED, TGD ve hedefe yönelik panel testleri gibi yöntemlerle germ hattı mutasyonlarının ve somatik varyantların tespitinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin, belirli bir fenotipe yönelik genlerin tarandığı hedefe yönelik paneller genetik bozuklukların tanısında ilk tercih edilen yöntemler arasındadır. Daha karmaşık vakalarda ise TED veya TGD gibi kapsamlı yaklaşımlar kullanılmaktadır.

Ayrıca, YND' nin biyoinformatik araçlarla entegrasyonu, genomik varyasyonların detaylı analizini kolaylaştırmış ve araştırmacılara anlamlı biyolojik sonuçlar elde etme fırsatı sunmuştur. YND, genetik hastalıklar, kanser genomu ve bulaşıcı hastalıkların analizinde tanı hassasiyetini artırarak klinik karar verme süreçlerine rehberlik etmiştir. Özellikle patojen tespiti ve gözetiminde etkili olan YND hem bulaşıcı ajanların hızlı tanımlanmasını hem de ilaç direnci izlenmesini sağlamıştır.

YND teknolojisi, genomik bilimlerde yeni standartlar belirlemiş ve genetik varyasyonların anlaşılmasında büyük katkılar sunmuştur. Teknolojik ilerlemeler ve biyoinformatik araçlarla entegrasyon, YND'nin klinik ve araştırma uygulamalarındaki etkisini artırmaya devam edecektir.

### **2.2.2. Yeni nesil dizileme teknolojilerinin uygulama alanları ve nadir hastalıkların tanısındaki yeri**

YND teknolojisi, yüksek verim yetenekleri, maliyet etkinliği ve çok yönlülüğü nedeniyle biyoloji ve tıbbın çeşitli alanlarında devrim yaratmıştır. Uygulamaları arasında klinik teşhis, bulaşıcı hastalık tespiti, onkoloji ve adli bilimler yer almaktadır. YND, kapsamlı genomik profillemeye olanak tanıyarak hastalık mekanizmalarının anlaşılmasını ve hasta sonuçlarının iyileştirilmesini sağlar (41, 42). Bulaşıcı hastalıklarda YND, klinik örneklerden bakteri, virüs, mantar ve parazitleri tanımlayarak patojen tespiti ve karakterizasyonu için güçlü bir araçtır (43, 44). Adli bilimlerde, YND teknolojileri çoklu genetik belirteçlerin eşzamanlı analizini mümkün kılarak yasal bağlamlarda güvenilir sonuçlar sağlar (45). Ek olarak YND antik

DNA'nın analizinde kullanılmış ve tarihsel popülasyonlar ve evrimsel biyoloji anlayışına katkıda bulunmuştur (46).

Nadir genetik hastalıkların teşhisi, genetik test ve kişiselleştirilmiş tıp alanını dönüştüren YND teknolojilerinin ortaya çıkmasıyla önemli ölçüde gelişmiştir. ABD'de 200.000'den az bireyi etkileyen durumlar olarak tanımlanan nadir hastalıklar, 7.000'den fazla farklı bozukluğu kapsamaktadır, ancak şu anda 700'den az tedavi seçeneği mevcuttur (47). Bu hastalıkların, gelişmiş teşhis kabiliyetleri ve gelişmiş tıbbi bakıma atfedilen artan tanınırlığı, etkili teşhis araçlarına duyulan ihtiyacın altını çizmektedir (48).

TED ve TGD dahil olmak üzere YND teknolojileri, nadir genetik bozuklukların teşhisi için çok önemli yöntemler olarak ortaya çıkmıştır. Bu teknikler, birden fazla genin eşzamanlı analizine olanak tanıyarak geleneksel yöntemlere kıyasla tanı verimini önemli ölçüde artırmaktadır. Örneğin, çalışmalar ekzom dizileme için %25-30'luk tanı verimi bildirmiştir; bu, %10'un altındaki önceki oranlara göre belirgin bir gelişmedir (49-51). Ayrıca YND, kalıtsal retina hastalıkları ve nörolojik bozukluklar da dahil olmak üzere çeşitli durumlara katkıda bulunan genetik varyantların belirlenmesinde etkili olmuştur (52, 53). Hedefli YND panelleri aracılığıyla hem yaygın hem de nadir genetik varyasyonları tespit etme yeteneği, tanıların kesinliğini ve kişiye özel terapötik stratejilerin geliştirilmesini daha da artırmıştır (54-56).

YND'nin klinik uygulamaya entegrasyonu yalnızca tanısal doğruluğu artırmakla kalmamış, aynı zamanda önemi bilinmeyen varyantların (VUS) tanımlanmasını da kolaylaştırmıştır. YND hastaların %50'sine tanı koyabilirken, tanımlanan birçok varyant sınıflandırılmamış olarak kalmakta ve patojenitelerini belirlemek için daha fazla fonksiyonel doğrulama gerektirmektedir (57). Bu zorluk, YND verilerinin yorumlanmasında multidisipliner bir yaklaşımın önemini vurgulamaktadır, çünkü üretilen büyük miktarda genetik bilginin yönetilmesi özel uzmanlık gerektirmektedir (58). Ayrıca, YND'nin klinik uygulaması, nadir hastalıkların teşhisinde YND kullanımını savunan Avrupa İnsan Genetiği Derneği (ESHG) gibi kuruluşların kılavuzları ve tavsiyeleri ile desteklenmiştir (59).

Tanısal gelişmelere ek olarak, YND teknolojileri, tedavi stratejilerinin bireysel genetik profillere göre uyarlandığı hassas tıbbın önünü açmıştır. YND'nin klinik ortamlarda uygulanması, moleküler tanı ve hedefe yönelik tedavilerde başarılı vakalara yol açarak hasta bakımında devrim yaratma potansiyelini ortaya koymuştur (60). Bununla birlikte, yüksek sekanslama maliyetleri ve karmaşık genomik verileri yorumlamak için

kapsamlı biyoinformatik desteğe duyulan ihtiyaç gibi zorluklar devam etmektedir (61). Alan gelişmeye devam ettikçe, klinisyenler, genetikçiler ve biyoinformatikçiler arasında devam eden araştırma ve iş birliği, nadir genetik hastalıkların tanı ve tedavisinde YND'nin potansiyelinden tam olarak yararlanmak için gereklidir.

### **2.3.ACMG VARYANT SINIFLANDIRMA KRİTERLERİ VE BİYOİNFORMATİK ANALİZ**

Moleküler Patoloji Derneği (AMP) ile iş birliği içinde oluşturulan ACMG kriterleri, genetik varyantların yorumlanması için standartlaştırılmış bir çerçeve sağlar. İlk olarak 2015 yılında yayınlanan bu kılavuzlar, klinik laboratuvarlar arasında varyant sınıflandırmasında tutarlılık ve doğruluğu teşvik ederek tıbbi genetik alanını önemli ölçüde etkilemiştir (62, 63). ACMG/AMP kılavuzları varyantları patojenik, muhtemel patojenik, belirsiz öneme sahip, muhtemel iyi huylu ve iyi huylu olarak beş sınıfa ayırır (62). Bu sınıflandırma sistemi, genetik varyasyonların hasta bakımı ve hastalık yönetimi üzerindeki etkilerini belirlemeye yardımcı olduğu için klinik uygulamalar için çok önemlidir.

ACMG kriterlerinin uygulanması ortak bir genetik dili oluşturmuş olmakla beraber kriterleri uygulama konusunda zorluklar da meydana gelmiştir. Kılavuzlar varyant yorumlamasına daha tekdüze bir yaklaşımı kolaylaştırırken, laboratuvarlar arasındaki öznel yorumlar nedeniyle uygulamalarındaki farklılıklar devam etmektedir (63). Örneğin, ClinGen Dizi Varyant Yorumlama (SVI) Çalışma Grubu, tutarsızlıkları gidermek ve varyant sınıflandırmalarının güvenilirliğini artırmak için kriterleri aktif olarak iyileştirmektedir (64, 65). Bu çaba, ACMG kılavuzlarının farklı bağlamlarda ve bozukluklarda etkili bir şekilde uygulanmasını sağlamak için genetik test topluluğu içinde devam eden iş birliği ve standardizasyona olan ihtiyacın altını çizmektedir (63). ACMG kriterlerinin kritik bir yönü, kanıta dayalı sınıflandırmaya yapılan vurgudur. Kılavuzlar, varyantların patojenitesini değerlendirmek için kullanılacak çeşitli kanıt türlerini tanımlamaktadır. Bunlara popülasyon verileri, hesaplamalı tahminler, fonksiyonel çalışmalar ve ayrışma analizi dahildir (62, 64, 66). Örneğin, bir varyantın patojenitesine ilişkin güçlü kanıtlar, varyantın belirli bir hastalıkla ilişkili olduğu bilinen bir gende bulunması (PS1) veya fonksiyon kaybının (LoF) bilinen bir hastalık

mekanizması olduğu genlerde LoF varyantlarının varlığı (PVS1) ile desteklenebilir (65) . Bunun yanı sıra, kılavuzlar, genel popülasyonda yüksek sıklıkta gözlenen varyantların iyi huylu veya muhtemelen iyi huylu (BS1) olarak sınıflandırılabilceği nüfus sıklığı verilerinin entegrasyonuna olanak tanır (62). Sınıflandırma süreci, aynı zamanda çeşitli destekleyici kanıt düzeylerini de içermektedir. Kanıtlar arasında in siliko (bilgisayar aracılı) tahmin araçlarından elde edilen zararlı etkilerle uyumlu sonuçlar (PP3) veya deneysel çalışmalarda zararlı bir etki gösteren veriler (PS3) yer alabilir (67, 68). Kılavuzlar ayrıca, uzman görüş birliğinin önemini ve yeni bilimsel bulgular ortaya çıktıkça kriterlerin güncellenmesi gerekliliğini vurgular (69, 70). Bu uyarlanabilir yaklaşım, genetik bilgiler hızla gelişirken sınıflandırma çerçevesinin alaka düzeyini ve doğruluğunu korumasını sağlar. Dolayısıyla, ACMG kriterleri statik değildir; devam eden araştırmalar ve uzman geri bildirimleri doğrultusunda sürekli olarak geliştirilmektedir (64).

Biyoinformatik, biyoloji, bilgisayar bilimi, matematik ve istatistiğin kesişiminde yer alan, biyolojik verilerin analiz edilmesi, yorumlanması ve yönetilmesi amacıyla geliştirilen bir bilim dalıdır. Biyoinformatik, genetik verilerin analizi ve yorumlanmasında kritik bir araçtır ve bu bağlamda genetik testlerin sonuçlarının değerlendirilmesi, hastalıkların genetik temellerinin anlaşılması ve bireyselleştirilmiş tıbbın uygulanması gibi alanlarda önemli katkılar sağlamaktadır (71). Biyoinformatik, genetik veri analizi için çeşitli yazılım ve algoritmaların geliştirilmesini içerir. Örneğin, gen dizilimlerinin analizi ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi üzerine yapılan çalışmalar, biyoinformatik araçların kullanımını gerektirir. Bu araçlar, genetik hastalıkların tanısında ve tedavisinde önemli bilgiler sunarak klinik karar verme süreçlerini destekler. Ayrıca, yüksek verimli dizileme teknolojileri ile elde edilen büyük veri setlerinin işlenmesi, biyoinformatik yöntemlerle mümkün hale gelmiştir. Bu süreç, genetik değişikliklerin tespit edilmesi ve hastalık yönetimi üzerinde önemli etkilere sahiptir (72).

## **2.4.TESADÜFİ/ İKİNCİL BULGULAR VE ACMG ÖNERİLERİ**

Klinik ekzom dizileme, tüm ekzom ve tüm genom dizilime gibi genomik teknolojilerdeki ilerlemeler genetik hastalıkların tanısında kritik rol oynamaktadır. (73, 74). Bu testlerden elde edilen kapsamlı genetik verilerin beklenmedik sonuçların keşfedilme olasılığını artırması nedeniyle genetik testlerde tesadüfi ve ikincil

bulguların araştırılması son yıllarda büyük ilgi görmüştür. Tesadüfi bulgular, genetik testin birincil amacı ile ilgili olmayan ancak test edilen birey için sağlık etkileri olabilecek sonuçlar olarak tanımlanmaktadır (75-78). Bu bulguların etik ve klinik yönetimi, hasta özerkliği, olası sağlık faydaları ve sağlık hizmeti sağlayıcıları ile araştırmacıların sorumlulukları arasında dikkatli bir denge kurulmasını gerektiren kompleks bir yapı sunmaktadır. Bu çalışmada ilerleyen bölümlerde, uzman kuruluşlar veya uygulayıcılar tarafından önerilen ve testin birincil amacı dışında aktif olarak aranan sonuçlar için "ikincil bulgu" ifadesi kullanılacaktır (79).

Tesadüfi bulgularla ilgili başlıca endişelerden biri, bu tür sonuçların hastalara ifşa edilmesine ilişkin etik yükümlülüktür (80-82). ACMG, hastaları ikincil bulgularla karşılaşma olasılığı hakkında bilgilendirmek için test öncesi danışmanlığın önemini vurgulayarak tesadüfi bulguların bildirilmesi için kılavuzlar oluşturmuştur (9, 10, 12)

ACMG'nin önerileri öncelikle klinik olarak eyleme dönüştürülebilir genetik bilginin hastalara etkili bir şekilde iletilmesini sağlamayı ve böylece genetik yatkınlığı olan bireyler için önleyici sağlık önlemlerini ve tedavi seçeneklerini geliştirmeyi amaçlamaktadır. ACMG' nin 2013'te yayınlanan ilk yönergeleri, eyleme dönüştürülebilir koşullarla ilişkili en az 56 gen listesine ilişkin bulguların geri gönderilmesini önermiştir (10). Bu liste daha sonra 2017'de 59 gen eklenecek şekilde güncellenmiş ve devam eden araştırma ve klinik deneyimi yansıtarak 2021 sürümünde 73 gene daha da rafine edilmiştir (9, 13). Kılavuzlar birkaç revizyondan geçmiştir zaman içerisinde bazı genler çıkarılmış ve bazı genler eklenmiştir ve son güncellemesi 2023'te yayınlanan ACMG kılavuzu v3.2'dir (12).

ACMG kılavuzu v3.2, tıbbi olarak eyleme dönüştürülebilir koşullarla ilişkili toplam 81 gen içerir. Kılavuzda rapor edilebilir genlere ve ilgili klinik sonuçlara yer verilmiştir. 2023 kılavuzunda rapor edilmesi önerilen genler kanser fenotipleri ile ilgili genler, kardiyovasküler hastalık (KVH) fenotipleri ile ilgili genler, kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili genler ve diğer fenotiplerle ilgili genler olarak gruplandırılmıştır. *HFE* geni için sadece p.C282Y değişikliğinin rapor edilmesi önerilirken diğer genler için patojenik/ muhtemel patojenik olması durumunda herhangi bir varyant sınırlandırması yapılmamıştır. Otozomal resesif (OR) durumlar için biallelik durumda tespit edilen değişikliklerin rapor edilmesi önerilir (12). ACMG

ikincil bulgular v3.2 listesinde rapor edilmesi önerilen genler ve ilgili klinikler Tablo 2.1.'de sunulmuştur.

**Tablo 2.1.** ACMG kılavuzu v3.2’de rapor edilmesi önerilen genler (12)

Fenotip	ACMG İkincil Bulgu Liste Sürümü	OMIM numarası (#)	Gen	Kalıtım
<b>Kanser Fenotipleriyle İlgili Genler</b>				
Ailevi adenomatöz polipozis (FAP)	1.0	175100	<i>APC</i>	OD
Ailevi medüller tiroid kanseri/Çoklu endokrin neoplazi 2	1.0	155240 171400 162300	<i>RET</i>	OD
Kalıtsal meme ve/veya yumurtalık kanseri	1.0	604370	<i>BRCA1</i>	OD
	1.0	612555	<i>BRCA2</i>	
	3.0	114480	<i>PALB2</i>	
Kalıtsal paraganglioma-feokromositoma sendromu	1.0	168000	<i>SDHD</i>	OD
	1.0	601650	<i>SDHAF2</i>	
	1.0	605373	<i>SDHC</i>	
	1.0	115310	<i>SDHB</i>	
	3.0	171300	<i>MAX</i>	
Juvenil polipozis sendromu (JPS)	2.0	174900	<i>BMPRIA</i>	OD
Juvenil polipozis sendromu (JPS)/Kalıtsal hemorajik telenjektazi sendromu	2.0	175050	<i>SMAD4</i>	OD
Li-Fraumeni sendromu	1.0	151623	<i>TP53</i>	OD
Lynch sendromu (Kalıtsal Nonpolipozis Kolorektal Kanseri; HNPCC)	1.0	609310 120435 614350 614337	<i>MLH1</i> <i>MSH2</i> <i>MSH6</i> <i>PMS2</i>	OD
Çoklu endokrin neoplazi tip 1	1.0	131100	<i>MEN1</i>	OD
MUTYH ile ilişkili polipozis (MAP)	1.0	608456	<i>MUTYH</i>	OR
NF2 ile ilişkili schwannomatosis	1.0	101000	<i>NF2</i>	OD
Peutz-Jeghers sendromu (PJS)	1.0	175200	<i>STK11</i>	OD
PTEN hamartom tümör sendromu	1.0	158350	<i>PTEN</i>	OD
Retinoblastom	1.0	180200	<i>RBI</i>	OD
Tüberoskleroz kompleksi	1.0	191100	<i>TSC1</i>	OD
	1.0	613254	<i>TSC2</i>	
Von Hippel-Lindau sendromu	1.0	193300	<i>VHL</i>	OD
WT1 ile ilişkili Wilms tümörü	1.0	194070	<i>WT1</i>	OD

**Tablo 2.1.** ACMG kılavuzu v3.2’de rapor edilmesi önerilen genler (12) (devamı)

<b>Kardiyovasküler Fenotiplerle İlgili Genler</b>				
Aortopatiler	1.0	154700	<i>FBN1</i>	OD
	1.0	609192	<i>TGFBR1</i>	
	1.0	610168	<i>TGFBR2</i>	
	1.0	613795	<i>SMAD3</i>	
	1.0	611788	<i>ACTA2</i>	
	1.0	132900	<i>MYH11</i>	
Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi (Aritmojenik Kardiyomiyopati veya ACM'nin bir alt kategorisi)	1.0	609040	<i>PKP2</i>	OD
	1.0	607450	<i>DSP</i>	
	1.0	610476	<i>DSC2</i>	
	1.0	604400	<i>TMEM43</i>	
	1.0	610193	<i>DSG2</i>	
Katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi	1.0	604772	<i>RYR2</i>	OD OR OR
	3.0	611938	<i>CASQ2</i>	
	3.0	615441	<i>TRDNc</i>	
Dilate kardiyomiyopati	1,0	601494	<i>TNNT2</i>	OD
	1,0	115200	<i>LMNA</i>	
	3,0	617047	<i>FLNC</i>	
	3,0	604145	<i>TTN</i>	
	3,1	613881	<i>BAG3</i>	
	3,1	604765	<i>DES</i>	
	3,1	613172	<i>RBM20</i>	
	3,1	611879	<i>TNNC1</i>	
Ehlers-Danlos sendromu, vasküler tip	1.0	130050	<i>COL3A1</i>	OD
Ailevi hiperkolesterolemi	1.0	143890	<i>LDLR</i>	SD
	1.0	144010	<i>APOB</i>	OD
	1.0	603776	<i>PCSK9</i>	OD
Hipertrofik kardiyomiyopati	1,0	192600	<i>MYH7</i>	OD
	1,0	115197	<i>MYBPC3</i>	
	1,0	613690	<i>TNNI3</i>	
	1,0	115196	<i>TPM1</i>	
	1,0	608751	<i>MYL3</i>	
	1,0	612098	<i>ACTC1</i>	
	1,0	600858	<i>PRKAG2</i>	
	1,0	608758	<i>MYL2</i>	
Uzun QT sendromu tip 1 ve 2	1.0	192500	<i>KCNQ1</i>	OD
	1.0	613688	<i>KCNH2</i>	
Uzun QT sendromu 3; Brugada sendromu	1.0	603830 601144	<i>SCN5A</i>	OD
Uzun QT sendromu tipleri 14–16	3.2	616247	<i>CALM1</i>	OD
		616249	<i>CALM2</i>	OD
		618782	<i>CALM3</i>	OD
<b>Doğumsal Metabolik Hastalık Fenotipleriyle İlgili Genler</b>				
Biyotinidaz eksikliği	3.0	253260	<i>BTD</i>	OR
Fabry hastalığı	1.0	301500	<i>GLA</i>	XB
Ornitin transkarbamilaz eksikliği	2.0	311250	<i>OTC</i>	XB
Pompe hastalığı	3.0	232300	<i>GAA</i>	OR

**Tablo 2.1.** ACMG kılavuzu v3.2’de rapor edilmesi önerilen genler (12) (devamı)

<b>Diğer Fenotiplerle İlgili Genler</b>				
Kalıtsal hemokromatozis	3.0	235200	<i>HFE</i>	OR
Kalıtsal hemorajik telenjektazi	3.0	600376	<i>ACVRL1</i>	OD
	3.0	187300	<i>ENG</i>	
Malign hipertermi	1.0	145600	<i>RYR1</i>	OD
	1.0	601887	<i>CACNA1S</i>	
Gençlerin olgunluk başlangıçlı diyabeti (MODY)	3.0	600496	<i>HNFI1A</i>	OD
RPE65 ile ilişkili retinopati	3.0	204100 613794	<i>RPE65</i>	OR
Wilson hastalığı	2.0	277900	<i>ATP7B</i>	OR
Kalıtsal TTR (transtiretin) amiloidozu	3.1	105210	<i>TTR</i>	OD

OD: otozomal dominant; OR: otozomal resesif; XB: X’e bağlı; SD: Semi-dominant

Kılavuzlar, hastaların ikincil bulgular hakkında bilgi almayı seçmelerine veya seçmemelerine olanak tanıyan, bilgilendirilmiş onamın gerekliliğini vurgular; bu, hasta özerkliği ve bireysel tercihlere saygı etik ilkeleriyle uyumludur (83). ACMG kılavuzlarının kritik bir yönü, ikincil bulguların klinik uygulanabilirliğine odaklanmasıdır. Uygulanabilirlik, bir bulgunun etkili önleyici tedbirlere veya tedavilere yol açma potansiyelini ifade eder. ACMG, varyantların uygulanabilirliğini belirlemek için penetrans, şiddet ve tıbbi müdahalelerin mevcudiyeti hususlarını içeren kriterler belirlemiştir (84, 85). Bu çerçevede, klinik laboratuvarların genetik varyantların yorumlanması ve raporlanmasında rehberlik etmek ve hastaların ilgili ve uygulanabilir bilgiler almasını sağlamak için önemlidir (86). Dahası, ACMG kılavuzları klinik laboratuvarlar tarafından yaygın bir şekilde benimsenmiş ve farklı ortamlarda varyant yorumlamasında tutarlılığı teşvik etmiştir (65). Belirlenen kılavuzlara rağmen, ikincil bulguların raporlanmasının uygulanmasında zorluklar devam etmektedir. Laboratuvar uygulamalarında değişkenlik gözlemlenmiştir; bazı laboratuvarlar raporlamalarını ACMG tarafından önerilen genlerle sınırlandırırken, diğerleri tesadüfen keşfedilen ek tıbbi olarak eyleme geçilebilir bulguları dahil edebilmekte (87) veya taşıyıcılık durumunda bulunan resesif hastalık genlerindeki değişiklikleri rapora ekleyebilmektedir. Bu tutarsızlık, tüm hastaların kapsamlı ve doğru genetik bilgi almasını sağlamak için alan içinde devam eden eğitim ve standardizasyona olan ihtiyacı vurgulamaktadır (88). Dahası, özellikle çocuklar gibi savunmasız popülasyonlarda ikincil bulguların raporlanmasıyla ilgili etik hususlar tartışma konusu olmaya devam etmektedir (89, 90).

Araştırmalar, katılımcıların tesadüfi bulguların iadesi konusunda genellikle farklı tutumlara sahip olduğunu göstermektedir. Bazı bireyler ilgili tüm sağlık bilgilerini alma arzusunu dile getirirken, diğerleri, özellikle bulgular belirsizse veya eyleme dönüştürülemezse, potansiyel riskleri bilmemeyi tercih edebilir (91-95). Bu ikilem, tesadüfi bulguların yönetiminde bireysel tercihleri ve beklenmedik sağlık bilgileri almanın potansiyel psikolojik etkisini dikkate alan kişiselleştirilmiş yaklaşımların gerekliliğini vurgulamaktadır (96). Ayrıca, genetik bilginin akrabalar üzerinde etkileri olabileceğinden, ikincil bulguların ifşa edilmesinin etik sonuçları bireysel hastaların ötesine geçerek aile üyelerine yönelik hususları da içermektedir (97-99).

Tesadüfi bulguların yönetimi, araştırmacılar ve klinisyenler için pratik zorlukları da beraberinde getirmektedir. Genomik dizileme ile üretilen veri hacmi, çok sayıda tesadüfi bulguya yol açarak hangi sonuçların rapor edileceğine ilişkin karar verme sürecini karmaşıklaştırabilir (78, 100). Bazı çalışmalar, klinik karar destek araçlarının geliştirilmesi gibi sistematik bir yaklaşımın klinik olarak ilgili tesadüfi bulguların belirlenmesine ve yönetilmesine yardımcı olabileceğini öne sürmektedir (100, 101). Ayrıca, araştırmacılar, özellikle çocuk sağlığı ve aile dinamikleri üzerindeki potansiyel etki nedeniyle risklerin daha yüksek olabileceği pediatrik araştırma ortamlarında, tesadüfi bulguların karmaşıklığını yönlendirmek için daha net çerçeveler ve kılavuzlar talep etmiştir (101, 102). ACMG' nin ikincil bulgularla ilgili yönergeleri, genomik tıpta klinik olarak önemli bilgilerin raporlanmasına yapılandırılmış bir çerçeve sunmaktadır. Genomik teknolojiler geliştikçe bu yönergelerin iyileştirilmesi, hasta bakımının ilerlemelerle uyumlu kalması açısından kritik önemdedir. Ayrıca, hasta özerkliğine saygı gösterirken sağlık yararlarını en üst düzeye çıkarmak için paydaşlar arasında etkin iletişim sağlanması gereklidir.

### **3.GEREÇ ve YÖNTEM**

Bu çalışmanın etik onayı, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan, 29.05.2024 tarihinde, 2024/32 onay numarası ile alınmıştır. Araştırma, Ocak 2017 ile Aralık 2023 tarihleri arasında gerçekleştirilen klinik ekzom dizileme verilerinin retrospektif olarak değerlendirilmesine dayanmaktadır. Çalışmada, toplam 2383 klinik ekzom dizileme verisi anonimleştirilerek incelenmiş, yabancı uyruklu bireylerin verileri analize dahil edilmemiştir.

Veriler, ACMG ikincil bulgular kılavuzu v3.2 kapsamında belirlenen 81 gen ile ACMG kılavuzunda yer almayan 23 eyleme geçilebilir gen üzerinden analiz edilmiştir. Araştırmada değerlendirilen değişken parametreler, bireylerin demografik bilgilerini (yaş ve cinsiyet), başvuru endikasyonlarını ve KED sonuçlarını içermektedir.

#### **3.1.ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN BİREYLERİN VERİLERİNİN TOPLANMASI**

Bu retrospektif çalışmada, hasta grubunun demografik özellikleri (yaş ve cinsiyet) ile başvuru endikasyonları, hasta takip dosyaları ve hastane bilgi yönetim sistemi (HBYS) aracılığıyla kaydedilmiştir. Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilen KED analizine ait veriler, ACMG kılavuzu v3.2'de ikincil bulgu olarak raporlanması önerilen 81 gende bulunan varyantların patojeniteleri ve görülme sıklıkları dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

Ayrıca, hastalar ACMG kılavuzunda yer almayan 23 eyleme geçilebilir gendeki tesadüfi bulgular açısından da incelenmiştir.

### 3.2. ACMG KILAVUZU v3.2'DEKİ GENLER İÇİN PANEL OLUŞTURMA

Çalışmada, KED verilerinin değerlendirilmesi için ACMG tarafından önerilen ikincil bulgular kılavuzu v3.2 temel alınmıştır (12). Bu kapsamda, ikincil bulgu olarak raporlanması önerilen 81 gen (Tablo 2.1.), kılavuzdaki kriterlere uygun şekilde seçilmiş ve analiz için bir hedefli gen paneli oluşturulmuştur. Panel, bu genlerdeki patojenik ve olası patojenik varyantların tespit edilmesi ve sıklıklarının belirlenmesine olanak sağlarken, tarama sırasında bu genlerdeki taşıyıcılık durumunda olan varyantlar da kaydedilmiştir.

Ayrıca, hastaların ön tanıları ile saptanan ikincil bulguların örtüşmesi durumunda, bu varyantlar birincil bulgu olarak kabul edilip ikincil bulgu olarak değerlendirilmemiş ve ikincil bulgu saptama oranı hesaplanırken göz ardı edilmiştir. Benzer şekilde, ACMG kılavuzunda homozigot durumda veya iki varyantın birlikte bulunması halinde bildirilmesi önerilen genlerde saptanan heterozigot (taşıyıcı) varyantlar da kayıt altına alınsa bile ikincil bulgu saptama oranına dahil edilmemiştir.

### 3.3.ACMG KILAVUZ DIŞI GENLERDEKİ TESADÜFİ BULGULAR İÇİN PANEL OLUŞTURMA

ACMG kılavuzunda yer almayan tesadüfi bulguların değerlendirilmesi amacıyla, 23 gen üzerinden bir hedef gen paneli oluşturulmuştur. Bu genler seçilirken, hastalar için gelecekte ortaya çıkabilecek olası hastalık risklerinin belirlenmesi, tedavi olanaklarının değerlendirilmesi ve klinik önemi olan genlerin incelenmesi hedeflenmiştir. Literatürde yapılan benzer çalışmaların gözden geçirilmesi ve ClinGen eyleme geçilebilir genler için önerilerin (<https://www.clinicalgenome.org/working-groups/actionability/>) incelenmesi sonucu liste son halini almıştır (85, 90).

Panelde, Türkiye'de sık görülen ve yenidoğan tarama programlarında yer alan Kistik Fibrozis (KF) ve hiperfenilalaninemi/ fenilketonüri (HFA/ FKÜ) hastalıklarının nedeni olan *CFTR* ve *PAH*; evlilik öncesi tarama programında yer alan Beta Talasemi ( $\beta$ -tal) hastalığının nedeni olan *HBB* gibi genler ile Akdeniz coğrafyasında yaygın görülen Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) ile ilişkilendirilen *MEFV* geni yer almıştır. Malignite ile ilişkisi tanımlanmış yüksek penetranslı *CDHI* ve orta penetransa sahip *ATM*, *CHEK2*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *NF1*, *BARD1*, *BRIP1* genlerinin yanı sıra

sistinüri ile ilişkili *SLC7A9* ve *SLC3A1* genleri, obeziteyle ilişkili *MC4R* geni ve beslenme ile ilaç duyarlılığını etkileyebilecek *G6PD* geni de panel kapsamına alınmıştır. Tedavi olanakları göz önüne alınarak Duchenne musküler distrofi (DMD) ile ilişkili *DMD* geni, kanama yatkınlığı açısından *VWF* geni, vasküler tromboz riski nedeniyle *F5* geni ve işitme kayıplarının iyi tanımlanan genlerinden biri olan *GJB2* geni listeye eklenmiştir. Ayrıca, ileri yaşlarda bulgu vermesine rağmen hayatı tehdit edebilecek düzeyde böbrek fonksiyon kayıplarına yol açabilen OD polikistik böbrek hastalığı ile ilişkili *PKD1* ve *PKD2* genleri de değerlendirilmiştir. Tablo 3.1. bu çalışmada kılavuz dışı rastlantısal bulguların değerlendirileceği 23 genin listesini sunmaktadır.

**Tablo 3.1.** Kılavuz dışı ikincil bulguların değerlendirileceği 23 genin listesi

Fenotip	OMIM fenotipi (#)	Gen	Kalıtım
<b>Kanser Fenotipleriyle İlgili Genler</b>			
Meme kanseri, yatkınlık	114480	<i>ATM</i>	OD
Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/kolorektal	609265	<i>CHEK2</i>	OD
Erken başlangıçlı meme kanseri, yatkınlık	114480	<i>BRIP1</i>	OD
Meme kanseri, yatkınlık	114480	<i>BARD1</i>	OD
Difüz gastrik ve lobüler meme kanseri sendromu (yarık dudak/damak eşlik eden veya etmeyen)	137215	<i>CDH1</i>	OD
NF1 ilişkili hastalıklar	607785 601321 162210 162200 193520	<i>NF1</i>	OD
Meme kanseri, yatkınlık	-	<i>RAD50</i>	OD
Meme-yumurtalık kanseri, ailesel, yatkınlık, 3	613399	<i>RAD51C</i>	OD
Meme-yumurtalık kanseri, ailesel, yatkınlık, 4	614291	<i>RAD51D</i>	OD
<b>Doğumsal Metabolik Hastalık Fenotipleriyle İlgili Genler</b>			
Kistik Fibrozis	219700	<i>CFTR</i>	OR
Hiperfenilalaninemi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri	261600	<i>PAH</i>	OR
Obezite	618406	<i>MC4R</i>	OD, OR
Sistinüri	220100	<i>SLC3A1</i> <i>SLC7A9</i>	OR OD, OR

**Tablo 3.1.** Kılavuz dışı ikincil bulguların değerlendirileceği 23 genin listesi (devamı)

Hematolojik Hastalık Fenotipleri ile İlgili Genler						
Beta Talasemi				613985	<i>HBB</i>	OR
G6PD eksikliği, Konjenital nonsferositik anemi				300908	<i>G6PD</i>	XB
F5 eksikliği, Trombofili				227400	<i>F5</i>	OR
von Willebrand hastalığı, tip 1			193400	<i>VWF</i>	OD	
von Willebrand hastalığı, tip 3			277480		OR	
von Willebrand hastalığı, tip 2A, 2B, 2M ve 2N			613554		OD, OR	
Diğer Fenotiplerle İlgili Genler						
Musküler Distrofi, Becker			300376	<i>DMD</i>	XB	
Musküler Distrofi, Duchenne			310200			
Dilate Kardiyomyopati ,3B			302045			
Ailevi Akdeniz Ateşi				249100	<i>MEFV</i>	OR
Sağırılık, otozomal resesif 1A; dijenik, GJB2 /GJB3				220290	<i>GJB2</i>	OR, DD
Polikistik böbrek hastalığı 1, OD			173900	<i>PKD1</i> <i>PKD2</i>	OD	
Polikistik böbrek hastalığı 2, OD			613095			

OD: Otozomal dominant; OR: Otozomal resesif; XB: X'e bağlı; DD: Digenik dominant

### 3.4.YENİ NESİL DİZİLEME, VARYANT ANALİZİ VE SINIFLANDIRILMASI

Çalışmada ekzom zenginleştirilmesi için SOPHiA Genetics (Boston, ABD) tarafından üretilen Clinical Exome Solution v1(v1.1, v1.2), v2 (v2.1, v2.2) ve v3 (v3.1, v3.2, v3.2) kitleri kullanılmıştır. Bu kitler, yakalama tabanlı bir hedef zenginleştirme yöntemi olup, her kit sürümüne bağlı olarak bilinen kalıtsal hastalıklara neden olan 4490 ile 6380 arasında değişen sayıda geni kapsamaktadır.

Tüm işlemler, üretici protokollerine uygun olarak gerçekleştirilmiş ve analiz için gerekli kütüphane hazırlık aşamaları adım adım özetlenmiştir:

- **DNA Fragmantasyonu ve Hazırlık:** Genomik DNA, multi-enzim reaksiyonu ile fragmente edildi, uçları onarıldı ve A uçları eklendi.
- **Adaptör Bağlanması:** DNA fragmanlarının her iki ucuna, sekanslama platformuna uygun adaptörler ligasyon yöntemiyle bağlandı.
- **Temizleme İşlemi:** Adaptör bağlanmış DNA, manyetik boncuklarla saflaştırıldı.
- **Kütüphane Amplifikasyonu:** DNA kütüphanesi, köprü Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemiyle amplifiye edildi, ardından manyetik boncuklarla temizlendi ve kalite kontrol işlemi yapıldı.

- **Hedef Bölgelerin Hibridizasyonu:** DNA hedef bölgeleri, spesifik 'Capture-Prob'larla hibridize edildi.
- **Hedef DNA'nın İzolasyonu:** Hibridize olmuş DNA, streptavidin kaplı boncuklara bağlandı ve bağlanmayan DNA yıkama işlemiyle uzaklaştırıldı.
- **Post-Capture İşlemleri:** Hedef DNA, amplifikasyon ve temizlik işlemlerinden geçirildi.
- **Final Kalite Kontrolü:** Hazırlanan kütüphanenin son kalite kontrolü, Qubit ölçümü ile gerçekleştirildi.

Eşleştirilmiş uç dizileme işlemi, 150 x 2 okuma uzunluğuna sahip Illumina NextSeq 500 platformunda yapılmıştır. Baz çağırımı ve görüntü analizi, Illumina'nın Gerçek Zamanlı Analiz (Real-Time Analysis) yazılımı ile gerçekleştirilmiş ve baz çağrıları (BCL), Illumina bcl2fastq paketi kullanılarak FASTQ (Fast Adaptive Shrinkage Thresholding Algorithm and Quality) formatına dönüştürülmüştür. Ham FASTQ verileri, Sophia DDM® platformu kullanılarak analiz edilmiştir. Hizalama ve varyant çağırma işlemleri, Sophia Genetics'in tescilli Pepper® algoritması ile NCBI (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) GRCh37/hg19 insan genom referansına göre yapılmıştır. Varyantlar, Sophia Genetics yazılımı ile analiz edilerek, protein dizilimine etkisi (ör. missense, stop gain), çeşitli popülasyonlarda görülme sıklıkları (1000G, ESP, ExAC, gnomAD) ve SIFT, PolyPhen gibi tahminleme algoritmalarıyla yıkıcılık etkileri değerlendirilmiştir. Referans diziden farklılıklar, VCF (Variant Calling File) formatına dönüştürülüp kalite standartlarına uygun şekilde filtrelenerek analize hazır hale getirilmiştir. Bu süreçler, SOPHiA DDM yazılımı (Sophia Genetics, Saint-Sulpice, İsviçre) ile gerçekleştirilmiş olup varyant çağırma, filtreleme ve biyoinformatik analiz aşamalarını kapsamaktadır.

Kullanılan cihaz ve aletler:

- Buzdolabı (+4 °C Hotpoint Ariston)
- Derin Dondurucu (-20 °C Beko)
- Derin Dondurucu (-80 °C Sanyo)
- Mikropipet seti (0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl- GILSON)
- Mini Santrifüj/Vorteks (Combi-Spin FVL-2400N- Biosan)
- Vorteks (Heidolph Reax Top)

- Distile su cihazı (Millipore Direct-Q 3 with UV)
- PCR cihazı (Thermal cycler) (Labcycler- SensoQuest GmbH)
- Real Time PCR cihazı (LightCycler 480 II- Roche Diagnostics GmbH)
- Spektrofotometre (Thermo Scientific NanoDrop 2000)
- Qubit® 3.0 cihazı
- Termomikser cihazı (Eppendorf ThermoMixer C)
- Termomikser cihazı (T-Shaker – EuroClone)
- Kuru Etüv (Nüve)
- GloMax®-Multi Detection System (Promega)
- +4 Blok
- -20 Blok
- Blok ısıtıcı (HLC)
- Plate santrifüj cihazı (Centrifuge PerfectSpin P, Peqlab)
- Santrifüj cihazı (Micro 200R Hettich Zentrifugen)
- Illumina NextSeq cihazı
- Otomatik DNA izolasyon cihazı (MagNA Pure, ROCHE)
- Multichanel Pipet (Eppendorf)

ACMG tarafından belirlenen 81 gen ve çalışma kapsamında belirlenen kılavuz dışı 23 gen, ikincil bulguların dağılımını incelemek amacıyla analiz kapsamına alınmıştır. V1 ve v2 kitleri ACMG kılavuzundaki genlerden 80 tanesini (*CALM2* geni hariç) içerirken, v3 kiti 81 genin tamamını içermektedir. Kalite kontrol (QC) işlemlerinin ardından, elde edilen varyantlar Varsome, Franklin gibi varyant sınıflandırma veri tabanlarında, GnomAD, ExAC ve 1000 Genom Projesi gibi popülasyon veri tabanlarının yanı sıra ClinVar klinik veri tabanında incelenmiştir.

ACMG tarafından belirlenen 81 gen ve çalışma kapsamında belirlenen kılavuz dışı 23 gende tespit edilen varyantların manuel incelemesi ve sınıflandırılmasında, ClinVar veri tabanında patojenik veya muhtemel patojenik olarak rapor edilen varyantlara

öncelik verilmiştir. GnomAD minör allel frekansı (MAF) %1'den az olan ve varyant allel fraksiyonu (VAF) %20'den büyük olan varyantlar değerlendirilmiştir. Analiz, ACMG kılavuz v3.2'deki 81 genin kodlama bölgelerinde, kanonik splice bölgelerinde ve splice bölgeye +/- 10 baz uzaklıkta yer alan varyantları içermiştir. Tek nükleotid değişikliği ve indel varyantlarının sınıflandırılması ACMG/AMP kılavuzlarına göre yapılmıştır. Yukarıdaki filtreleme kriterlerinin dışında kalan ancak ClinVar veri tabanında patojen olarak bildirilen veya değişken ekspresivite, azalmış penetrans, hipomorfik allel gibi sebeplerle sağlıklı bireylerde de beklenenden görece sık görülen (>%1) varyantları gözden kaçırmamak adına ayrı ilave bir ClinVar patojenik varyant tarama filtresi daha uygulanmıştır. Ek olarak kaydedilen her varyantın Entegre Genomik Görüntüleyici (Integrative Genomics Viewer: IGV) yazılımı üzerindeki görüntüsü üzerinden confirmasyonu sağlanmıştır.

Kopya sayısı varyantları (Copy Number Variation: CNV), YND'nin tespitteki hata payı ve bu varyantların tesadüfi olarak raporlanmasına yönelik bir fikir birliği olmaması nedeniyle ikincil bulgu değerlendirmesine dahil edilmemiştir.

Filtreleme işlemi sonrası saptanan varyantlar değerlendirilirken varyantın daha önce patojenik /muhtemel patojenik olarak bildirilme durumu gözden geçirilmiştir. ClinVar veri tabanındaki patojen bildirilerden güvenilir olanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Ancak ClinVar veri tabanında çelişkili sınıflandırmalara sahip veya önemi bilinmeyen varyant girdisine sahip varyantların güncel literatür verileri eşliğinde ACMG varyant sınıflandırma kriterleri uygulandığında patojenik (P)/olası patojenik (LP) olarak sonuçlanması halinde ilgili varyantlar da çalışmaya dahil edilmiştir. Benign, olası benign olarak bildirilen varyantlar çalışmaya alınmamıştır. Daha önce bildirilmeyen varyantlar incelenmiş ve ACMG varyant sınıflandırma kriterleri baz alınarak patojenite sınıflaması yapılmıştır (62). Bu sınıflama sonucunda P/LP olduğuna karar verilen varyantlar çalışmaya dahil edilmiştir.

## 4.BULGULAR

### 4.1.HASTALARIN DEMOGRAFİK VERİLERİ

Bu çalışmada, 2383 hastanın genetik verileri analiz edilmiştir. Hastaların %46,3'ü kadın, %53,6'sı erkek olup yaş ortalaması  $14,1\pm 14,4$ 'tür (medyan:10). Genetik değerlendirmeye alınan en küçük hasta 3 günlük iken en büyük hasta 81 yaşında olup hastaların %74,3'ü (1772/2383 hasta) 0-18 yaş grubu içerisinde. Hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** Çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş ve cinsiyete göre dağılımı

	<18 yaş	≥18 yaş	Toplam
<b>Erkek</b>	984	299	1283
<b>Kadın</b>	788	312	1100
<b>Toplam</b>	1772	611	2383

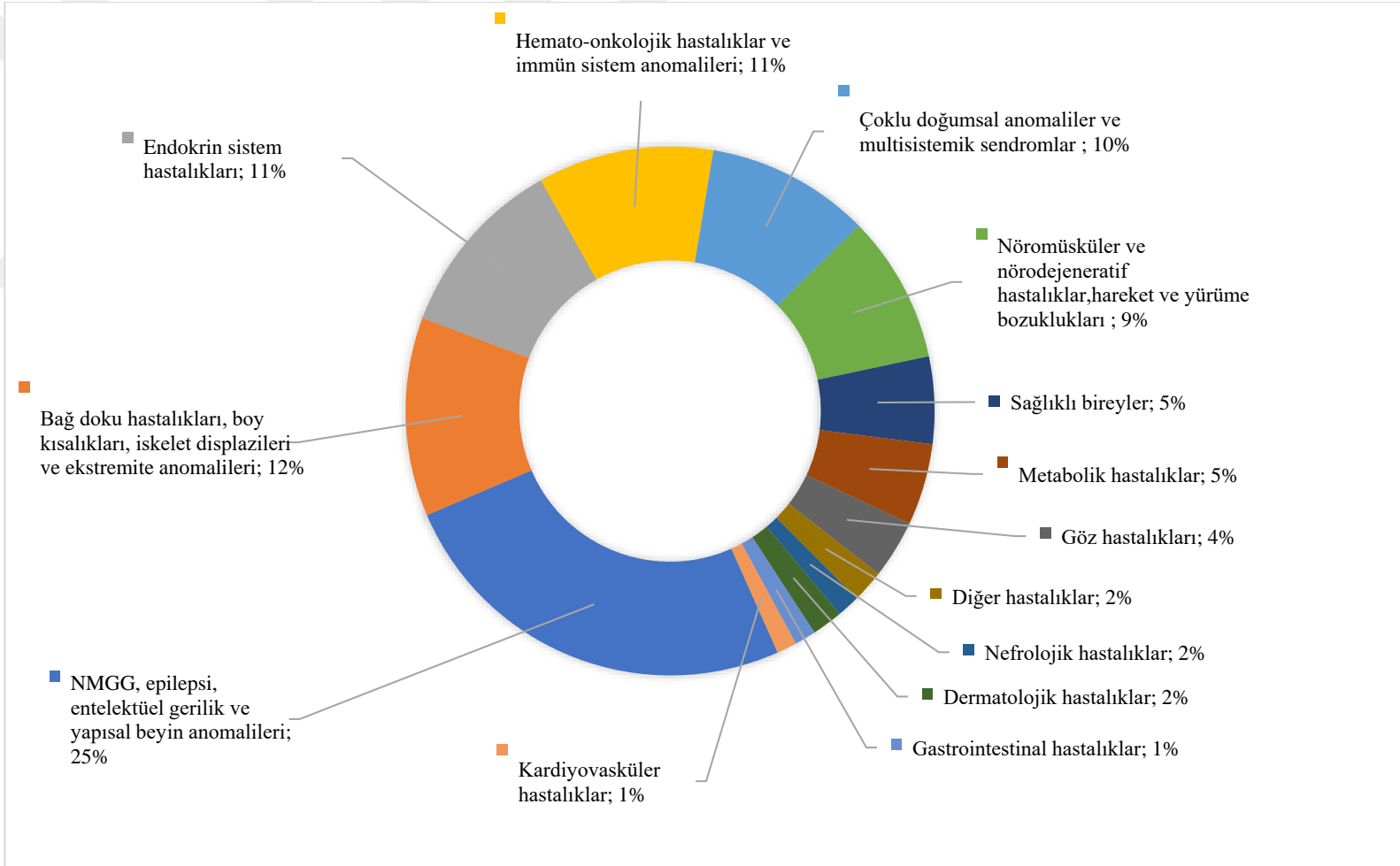
Çalışmaya katılan bireyler başvuru endikasyonlarına göre nöromotor gelişim geriliği (NMGG), epilepsi, entelektüel yetersizlik ve yapısal beyin anomalileri; nöromusküler ve nörodejeneratif hastalıklar, hareket ve yürüme bozuklukları; bağ doku hastalıkları, boy kısalıkları, iskelet displazileri ve ekstremitte anomalileri; çoklu doğumsal anomaliler ve multisistemik sendromlar; hemato-onkolojik hastalıklar ve immün

sistem anomalileri; endokrin sistem hastalıkları; metabolik hastalıklar; göz hastalıkları; dermatolojik hastalıklar; nefrolojik hastalıklar; gastrointestinal hastalıklar; kardiyovasküler hastalıklar; sağlıklı bireyler ve diğer hastalıklar olarak 14 alt grupta değerlendirilmiştir (Tablo 4.2., Şekil 4.1.).

Diğer hastalıklar alt grubunun içerisinde şikayetleri herhangi bir alt gruba uymayan durumlar, az sayıda bireyin değerlendirildiği işitme kayıpları, solunum sistemi hastalıkları yer almaktadır.

**Tablo 4.2.** Çalışmaya dahil edilen bireylerin başvuru endikasyonlarına göre sayıları

<b>Endikasyon</b>	<b>Kişi sayısı</b>
NMGG, epilepsi, entelektüel yetersizlik ve yapısal beyin anomalileri	601
Bağ doku hastalıkları, boy kısalıkları, iskelet displazileri ve ekstremitte anomalileri	290
Endokrin sistem hastalıkları	266
Hemato-onkolojik hastalıklar ve immün sistem anomalileri	256
Çoklu doğumsal anomaliler ve multisistemik sendromlar	239
Nöromusküler ve nörodejeneratif hastalıklar, hareket ve yürüme bozuklukları	215
Sağlıklı bireyler	127
Metabolik hastalıklar	119
Göz hastalıkları	85
Diğer hastalıklar	47
Dermatolojik hastalıklar	45
Nefrolojik hastalıklar	33
Gastrointestinal hastalıklar	31
Kardiyovasküler hastalıklar	29



**Şekil 4.1.** Çalışmaya dahil edilen bireylerin başvuru endikasyonlarına göre oranı

#### **4.2.ACMG KILAVUZU v3.2'YE GÖRE TESPİT EDİLEN VARYANTLAR**

ACMG ikincil bulgular kılavuzu v3.2'ye göre yapılan değerlendirme sonucunda, 356 kişide P/LP varyant saptanmıştır. 43 farklı gende 153 farklı varyant olmak üzere toplam 388 varyant tespit edilmiştir. 325 kişide bir varyant, 29 kişide 2 varyant, 2 kişide 3 varyant tespit edilmiştir. ACMG kılavuzundaki genler içerisinde aynı gende birden fazla varyanta sahip olan kişi tespit edilmemiştir.

Hastaların mevcut ön tanılarına göre tespit edilen varyantların hastanın klinik fenotipiyle ilişkili olup olmadıkları kontrol edildiğinde 34 kişide saptanan ve ikincil olduğu düşünülen varyantların hastanın tanısını desteklediği görülmüştür. Buna göre tek bir varyant saptanan 325 kişiden 23'ünde tespit edilen değişiklik birincil varyant olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca iki farklı varyant saptanan 29 kişiden 10'unda ve üç farklı varyant saptanan iki kişiden birinde varyantlardan birinin aslında birincil varyant olduğu görülmüştür.

Benzersiz 153 varyant sınıflandırılırken ACMG kriterlerinin yanı sıra ClinVar veri tabanındaki girdiler de değerlendirilmiştir. 99 varyant tamamen muhtemelen patojenik/ patojenik girdilere sahipken 13 varyant hem patojenik hem önemi bilinmeyen varyant olarak bildirilmiştir. 4 varyant ise sadece 'Önemi bilinmeyen varyant' olarak bildirilmiş ve ACMG kriterleri ile beraber değerlendirildiğinde bizim laboratuvarımızda P/LP olarak sınıflandırılmıştır. Geriye kalan 37 varyant daha önce bildirilmemiş varyantlardır.

Çalışmanın ACMG kılavuzu v3.2'deki genler ile ilgili bulguları, kanser fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar, KVH fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar, kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar ve diğer fenotipler ile ilgili genlerdeki varyantlar olmak üzere 4 alt başlık altında detaylandırılmıştır.

#### 4.2.1.Kanser fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar

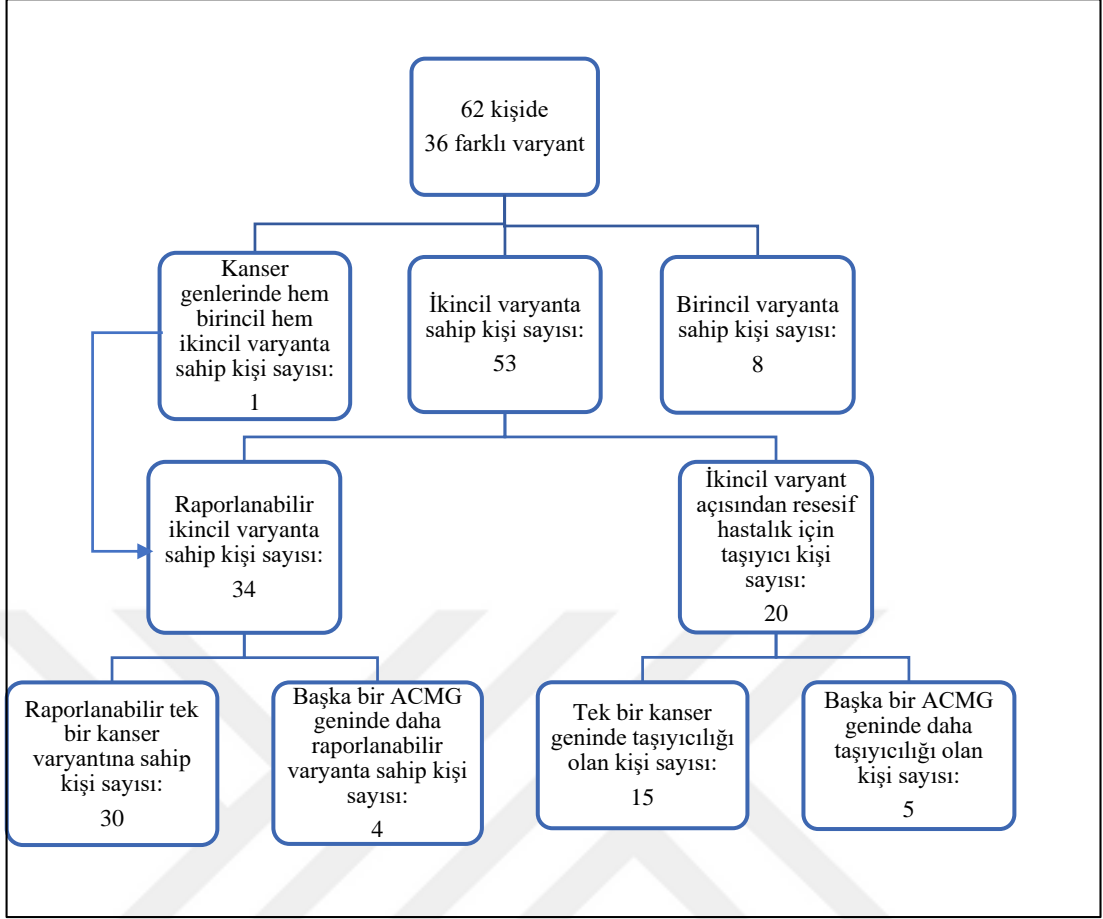
Hastalar kanser fenotipleriyle ilişkilendirilmiş genler açısından incelendiğinde 62 kişide 16 gende (*PTEN* (n:4 varyant), *MEN1* (n:3 varyant), *RBI* (n:1 varyant), *PMS2* (n:1 varyant), *APC* (n:2 varyant), *BRCA1* (n:3 varyant), *BRCA2* (n:2 varyant), *MSH6* (n:2 varyant), *MUTYH* (n:9 varyant), *PALB2* (n:1 varyant), *RET* (n:2 varyant), *SDHB* (n:2 varyant), *SDHC* (n:1 varyant), *SMAD4* (n:1 varyant), *TSC1* (n:1 varyant), *TSC2* (n:1 varyant)) 36 farklı P/ LP varyant tespit edildi. 4 hastanın birden fazla kanserle ilişkili gende aynı anda (*PTEN& RBI*, *MUTYH& PALB2* ve *MUTYH& BRCA1* (n:2)) ikincil varyant taşıdığı görüldü. 9 farklı varyant ile en sık değişiklik *MUTYH*'ta tespit edildi. Ancak 12 hastada tespit edilen *APC* c.3920T>A (p.Ile1307Lys) varyantı en sık saptanan kanserle ilişkili varyanttı. *PTEN*, *MEN1* *RBI* ve *PMS2* genlerinde daha önce bildirilmemiş 4 farklı novel varyant tespit edildi.

Hastaların ön tanıları ile saptanan değişiklikler karşılaştırıldığında 9 kişide *MEN1* (n:4), *SDHB* (n:1), *SDHC* (n:1), *TSC1* (n:1), *TSC2* (n:1), *PTEN* (n:1) genlerinde saptanan varyantlar hastanın fenotipiyle uyumluydu ve birincil bulgu olarak değerlendirildi ve ikincil bulgu listesinden çıkarıldı. *PTEN*' de varyantı olan hastanın *RBI* geninde rapor edilebilir bir varyantı daha vardı.

Hastalarda tespit edilen varyantların tamamı heterozigot olarak gözlemlendi. Buna göre biallelik olması halinde bildirilmesi önerilen *MUTYH* geni açısından varyanta sahip 23 kişi taşıyıcı durumdaydı. Ancak bu hastalardan 3'ü başka bir kanser geninde rapor edilebilir varyanta sahipti. Geri kalan varyantların tamamı ACMG kılavuz v3.2' ye göre kanser fenotipiyle ilişkili genler açısından rapor edilebilir gruptaydı.

Kanser genlerinde saptanan ikincil varyantlar Tablo 4.3.'te ve saptanan her varyant için zigosite ve proband sayısı Şekil 4.3.' te sunulmuştur.

ACMG v3.2'ye göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan kişi sayıları Şekil 4.2.'de özetlenmiştir.



**Şekil 4.2.** ACMG v3.2'ye göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan kişi sayıları

**Tablo 4.3.** ACMG v3.2'ye göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantlar

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Türkish Variom e AF	Patojenite	ClinVar	Fenotip
<i>APC</i> NM_00003 8.6	16	c.2062_2063del	p.(Ala689Lysfs*4)	-	%0.02	-	-	LP	P	Ailesel adenomatöz polipozis (FAP)
<i>APC</i> NM_00003 8.6	16	c.3920T>A	p.(Ile1307Lys)	rs1801155	%0.25	% 0.1855 (7 Homozigot)	% 0.2533	LP- Risk Allel	VUS-LP-P-Risk Faktörü	Ailevi adenomatöz polipozis (FAP)
<i>BRCA1</i> NM_00729 4.4	İntron	c.81-1G>C	p.(?)	rs80358018	%0.08	-	-	P	P	Kalıtısal meme ve/veya yumurtalık kanseri
<i>BRCA1</i> NM_00729 4.4	10	c.2800C>T	p.Gln934*	rs80357223	%0.04	% 0.00012	-	P	P	Kalıtısal meme ve/veya yumurtalık kanseri
<i>BRCA1</i> NM_00729 4.4	10	c.843_846del	p.Ser282Tyrfs*15	rs80357919	%0.02	% 0.00006	-	P	P	Kalıtısal meme ve/veya yumurtalık kanseri
<i>BRCA2</i> NM_00005 9.4	19	c.8478C>A	p.Tyr2826*	rs776353983	%0.02	% 0.0004	-	P	P	Kalıtısal meme ve/veya yumurtalık kanseri
<i>BRCA2</i> NM_00005 9.4	11	c.4471_4474del	p.Leu1491Lysfs*12	rs80359451	%0.02	% 0.0004	-	P	P	Kalıtısal meme ve/veya yumurtalık kanseri
<i>MSH6</i> NM_00017 9.3	4	c.2150_2153del	p.Val717Alafs*18	rs267608058	%0.02	% 0.0008	-	P	P	Lynch sendromu (Kalıtısal Nonpolipozis Kolorektal Kanseri; HNPCC)
<i>MSH6</i> NM_00017 9.3	9	c.3847_3850dup	p.Thr1284Asnfs*6	rs267608128	%0.02	% 0.00012	-	P	P	Lynch sendromu (Kalıtısal Nonpolipozis Kolorektal Kanseri; HNPCC)

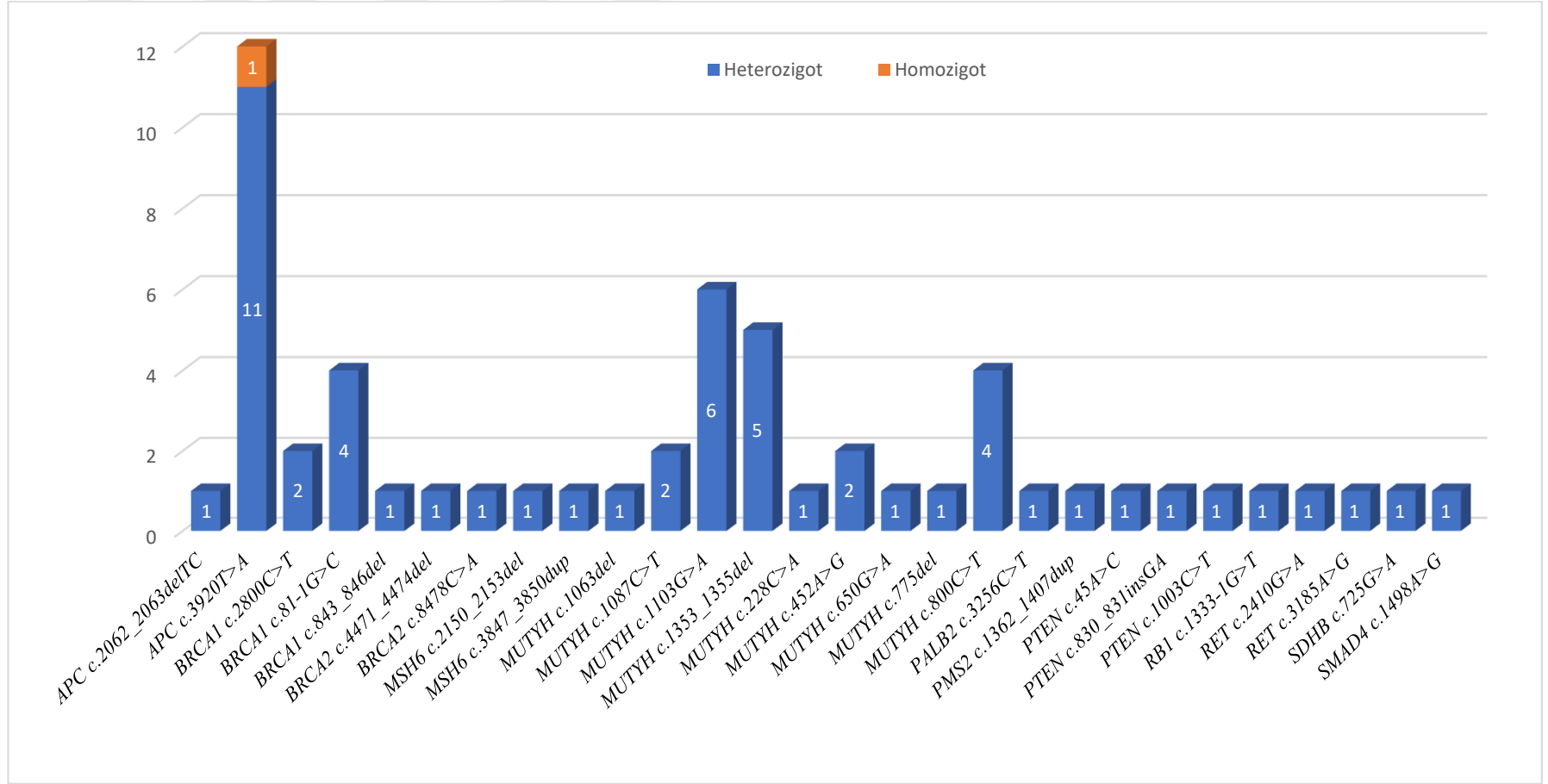
**Tablo 4.3. ACMG v3.2'ye göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)**

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	ClinVar	Fenotip
<i>MUTYH</i> NM_00104817 4.2	13	c.1103G>A	p.(Gly368Asp)	rs36053993	%0.12	% 0.3059 (3 Homozigot)	% 0.128	P	P	<i>MUTYH</i> ile ilişkili polipozis
<i>MUTYH</i> NM_00104817 4.2	10	c.800C>T	p.(Pro267Leu)	rs374950566	%0.08	% 0.0012	% 0.3549 (1 Homozigot)	P	P	<i>MUTYH</i> ile ilişkili polipozis
<i>MUTYH</i> NM_00104817 4.2	14	c.1353_1355del	p.(Glu452del)	rs587778541	%0.1	% 0.0095 (1 Homozigot)	% 0.1339	P	P	<i>MUTYH</i> ile ilişkili polipozis
<i>MUTYH</i> NM_00104817 4.2	12	c.1087C>T	p.(Gln363*)	rs5877783057	%0.04	% 0.0012	% 0.0604	P	P	<i>MUTYH</i> ile ilişkili polipozis
<i>MUTYH</i> NM_00104817 4.2	12	c.1063del	p.(Ala357Profs*23)	rs587778536	%0.02	% 0.0064	% 0.018	P	P	<i>MUTYH</i> ile ilişkili polipozis
<i>MUTYH</i> NM_00104817 4.2	10	c.775del	p.(Ala259Profs*32)	rs761468459	%0.02	% 0.0004	-	P	P-LP	<i>MUTYH</i> ile ilişkili polipozis
<i>MUTYH</i> NM_00104817 4.2	7	c.452A>G	p.(Tyr151Cys)	rs34612342	%0.04	% 0.1538	% 0.0885	P	P-LP	<i>MUTYH</i> ile ilişkili polipozis
<i>MUTYH</i> NM_00104817 4.2	3	c.228C>A	p.(Tyr76*)	rs121908380	%0.02	% 0.011	% 0.0354	P	P-LP	<i>MUTYH</i> ile ilişkili polipozis
<i>MUTYH</i> NM_00104817 4.2	9	c.650G>A	p.(Arg217His)	rs140342925	%0.02	% 0.0085	% 0.0626	P	P-LP	<i>MUTYH</i> ile ilişkili polipozis

**Tablo 4.3.** ACMG v3.2'ye göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	ClinVar	Fenotip
<i>PALB2</i> NM_024675.4	12	c.3256C>T	p.Arg1086*	rs587776527	%0.02	% 0.002	% 0.0177	P	P-LP	Kalitsal meme ve/veya yumurtalık kanseri
<i>PMS2</i> NM_000535.7	11	c.1362_1407dup	p.Pro470Valfs*3	-	%0.02	-	-	LP	-	Lynch sendromu (Kalitsal Nonpolipozis Kolorektal Kanseri; HNPCC)
<i>PTEN</i> NM_000314.8	8	c.830_831insGA	p.(Phe278Asnfs*14)	-	%0.02	-	-	LP	-	PTEN hamartom tümör sendromu
<i>PTEN</i> NM_000314.8	8	c.1003C>T	p.(Arg335*)	rs121909231	%0.02	-	-	P	P	PTEN hamartom tümör sendromu
<i>PTEN</i> NM_000314.8	1	c.45A>C	p.(Arg15Ser)	-	%0.02	-	-	P	P-LP	PTEN hamartom tümör sendromu
<i>RBI</i> NM_000321.3	İntron	c.1333-1G>T	p.(?)	-	%0.02	-	-	LP	-	Retinoblastom
<i>RET</i> NM_020975.6	14	c.2410G>A	p.Val804Met	rs79658334	%0.02	% 0.0136	-	P	P-LP	Ailesel medüller tiroid kanseri/Multipl endokrin neoplazi 2
<i>RET</i> NM_020975.6	19	c.3185A>G	p.Tyr1062Cys	rs587778659	%0.02	% 0.0018	-	LP	P-LP-VUS	Ailesel medüller tiroid kanseri/Multipl endokrin neoplazi 2
<i>SDHB</i> NM_003000.3	7	c.725G>A	p.(Arg242His)	rs74315368	%0.02	% 0.0012	-	P	P-LP	Kalitsal paraganglioma-feokromositoma sendromu
<i>SMAD4</i> NM_005359.6	12	c.1498A>G	p.Ile500Val	rs281875322	%0.02	% 0.0004	-	P	P	Juvenil polipozis sendromu (JPS)/Kalitsal hemorajik teleanjiektazi sendromu

AF: Allel frekansı



Şekil 4.3. ACMG v3.2'ye göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı

#### 4.2.2.Kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar

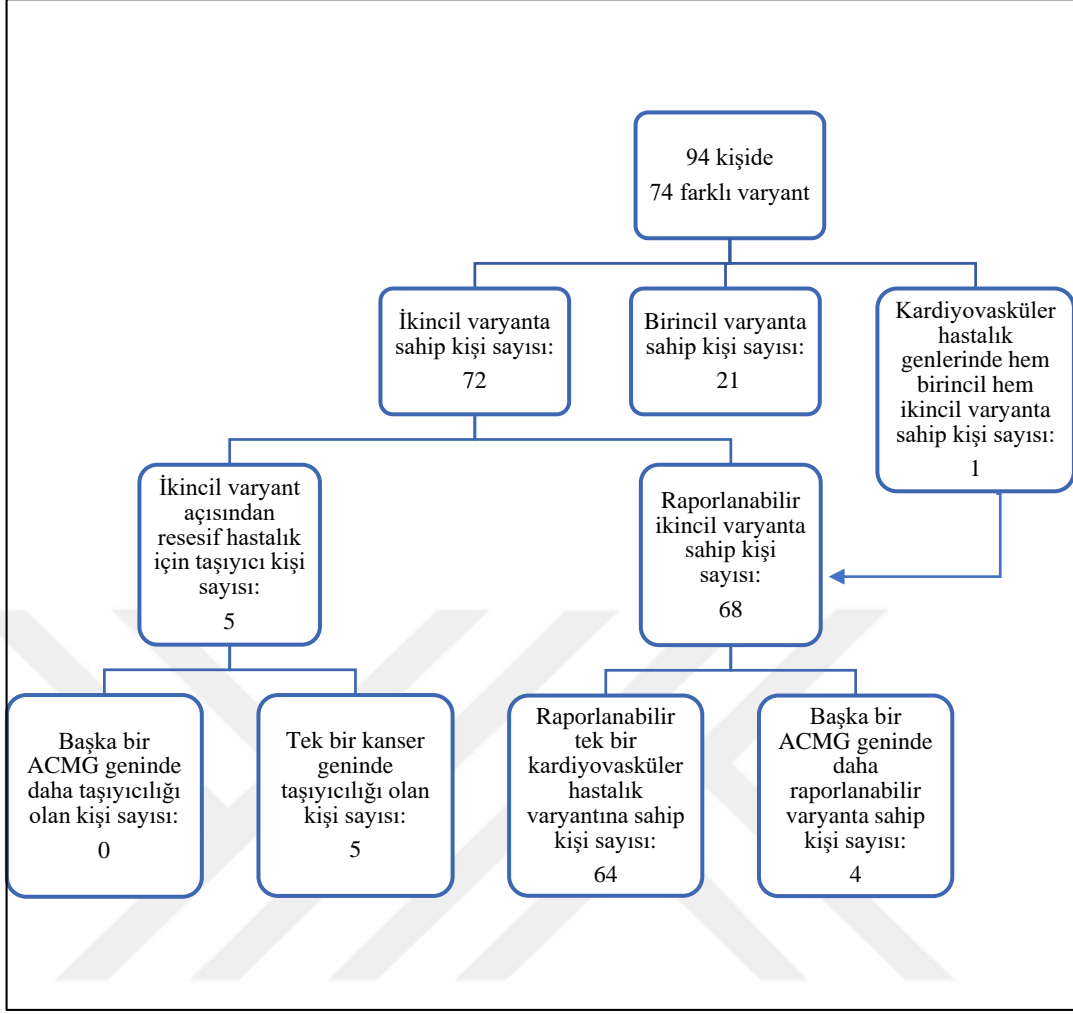
Hastalar KVH fenotipleriyle ilişkilendirilmiş genler açısından incelendiğinde 94 kişide 19 farklı gende (*LDLR* (n:17 varyant), *TTN* (n:17 varyant), *FBNI* (n:5 varyant), *MYH7* (n:5 varyant), *DSG2* (n:5 varyant), *CASQ2* (n:3 varyant), *KCNQ1* (n:3 varyant), *LMNA* (n:3 varyant), *DSP* (n:2 varyant), *MYBPC3* (n:2 varyant), *TRDN* (n:2 varyant), *DES* (n:2 varyant), *TNNT2* (n:2 varyant), *APOB* (n:1 varyant), *MYH11* (n:1 varyant), *PRKAG2* (n:1 varyant), *PKP2* (n:1 varyant), *TGFBR2* (n:1 varyant), *RYR2* (n:1 varyant)) 74 farklı muhtemel patojenik/ patojenik varyant tespit edildi. En fazla varyant *TTN* ve *LDLR* genlerinde saptandı (n:17 varyant). 5 kişide saptanarak en sık tespit edilen varyant ise *LDLR* c.2120\_2140+3del varyantıydı.

Saptanan varyantlar hastaların ön tanıları ile beraber değerlendirildiğinde toplam 22 kişide olmak üzere *FBNI* geninde 4 farklı varyantın (n:4 hasta), *LMNA* geninde 1 varyantın (n:1 hasta), *LDLR* geninde 10 farklı varyantın (n:17 hasta) birincil bulgu olduğu görüldü ve ikincil bulgu listesinden çıkarıldı. 22 kişiden *LDLR* geninde birincil varyantı olan bir kişinin *TTN* geninde raporlanabilir bir varyantı daha vardı.

Veri tabanları incelendiğinde 74 varyantın 29'unun ClinVar'da bildirilmediği tespit edildi. Bu 29 varyantın 7 tanesi dbSNP, Uniprot gibi başka veritabanlarında veya yayınlarda bildirilmişti ancak 22 tanesinin daha önce herhangi bir yerde bildirilmediği saptandı. En sık novel varyant *TTN* geninde tespit edildi (n:10). Yukarıda bahsedilen *LDLR* c.2120\_2140+3del varyantı novel bir varyant olup kohortta 5 kişide saptandı ancak 4'ü birincil varyant olarak sahipti ve sadece 1 kişide ikincil varyant olarak bulunuyordu.

Bu grupta *LDLR* c.529T>C p.(Ser177Pro) varyantı 2 hastada homozigot olarak gözlemlendi. Bunun dışında tüm varyantlar heterozigot durumdaydı. KVH genlerinden biallelik olması halinde bildirilmesi önerilen *CASQ2* ve *TRDN* genleri açısından heterozigot varyanta sahip 5 kişi taşıyıcı durumdaydı. Geri kalan varyantların tamamı ACMG kılavuz v3.2' ye göre KVH açısından rapor edilebilir gruptaydı.

KVH genlerinde saptanan ikincil varyantlar Tablo 4.4.'te ve saptanan her varyant için zigosite ve proband sayısı Şekil 4.5.'te sunulmuştur. ACMG v3.2'ye göre KVH fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan kişi sayıları Şekil 4.3.'de özetlenmiştir.



**Şekil 4.4.** ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları

**Tablo 4.4.** ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomA D MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	ClinVar	Fenotip
<i>APOB</i> NM_000384.3	26	c.7616_7619del	p.(Val2539Alafs*38)	-	%0.02	-	-	LP	-	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	4	c.664_672dup	p.(Cys222_Asp224dup)	-	%0.02	-	-	LP	-	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	İntron	c.2120_2140+3del	p.(?)	-	%0.1	-	-	LP	-	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	4	c.529T>C	p.(Ser177Pro)	rs1060499919	%0.06	-	-	LP	LP	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	9	c.1202T>A	p.(Leu401His)	rs121908038	%0.02	0,00%	-	P	LP-P	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	14	c.2054C>T	p.(Pro685Leu)	rs28942084	%0.02	% 0.0032	-	P	P	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	17	c.2483A>G	p.(Tyr828Cys)	rs28942085	%0.02	-	-	P	P	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	10	c.1478_1479del	p.(Ser493Cysfs*42)	rs869025453	%0.08	% 0.0032	-	P	P	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	4	c.491T>C	p.(Leu164Pro)	rs879254544	%0.02	-	-	LP	VUS-LP	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	12	c.1720C>T	p.(Arg574Cys)	rs185098634	%0.02	% 0.0035	-	LP	VUS-LP-P	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	5	c.709C>T	p.(Arg237Cys)	rs879254657	%0.02	% 0.0016	-	LP	VUS-LP-P	Ailesel hiperkolesterolemi

**Tablo 4.4.** ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>FBN1</i> NM_000138.5	27	c.3272G>C	p.(Gly1091Ala)	---	%0.04	-	-	LP	--	Aortopatiler
<i>MYH11</i> NM_002474.3	33	c.4774_4775insAA	p.(Arg1592Lysfs*36)	---	%0.02	-	-	LP	--	Aortopatiler
<i>TGFBR2</i> NM_003242.6	5	c.1261A>G	p.(Thr421Ala)	rs886038787	%0.02	-	-	LP	P	Aortopatiler
<i>DSG2</i> NM_001943.5	15	c.3036_3037insG	p.(Tyr1013Valfs*25)	rs2073310848	%0.02	% 0.0001	-	P	--	Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi
<i>DSG2</i> NM_001943.5	İntron	c.378+1G>T	p.(?)	--	%0.02	-	-	LP	--	Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi
<i>DSG2</i> NM_001943.5	15	c.2551del	p.(Ile851Leufs*13)	rs763907170	%0.06	% 0.0018	-	P	P	Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi
<i>DSG2</i> NM_001943.5	15	c.2349C>A	p.(Tyr783*)	rs1064793983	%0.04	% 0.0004	% 0.0354	LP	P	Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi
<i>DSG2</i> NM_001943.5	İntron	c.523+1G>C	p.(?)	rs553299589	%0.02	% 0.0013	% 0.0647	LP	P-LP	Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi
<i>DSP</i> NM_004415.4	24	c.8406_8419del	p.Leu2803Argfs*44	---	%0.02	-	-	LP	--	Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi
<i>DSP</i> NM_004415.4	23	c.3805C>T	p.(Arg1269*)	rs767643821	%0.02	% 0.0004	-	P	P	Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi
<i>PKP2</i> NM_001005242.3	4	c.1162C>T	p.(Arg388Trp)	rs766209297	%0.02	% 0.0004	-	LP	--	Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi

**Tablo 4.4.** ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	228	c.41991G>A	p.Trp13997*	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	225	c.41296_41299del	p.(Glu13766Argfs*9	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	326	c.82050del	p.Lys27350Asnfs*15	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	240	c.44405_44406del	p.Lys14802Thrfs*6	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	İntron	c.44014+2T>C	p.(?)	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	İntron	c.37369+2T>C	p.(?)	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	161	c.35713G>T	p.(Glu11905*)	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	45	c.10412dupT	p.(Ser3472Valfs*30)	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	45	c.10405C>T	p.(Gln3469*)	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati

**Tablo 4.4.** ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	44	c.10242C>A	p.(Tyr3414*)	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	23	c.3880_3884del	p.(Asp1294Lysfs*6)	-----	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	İntron	c.9703+1G>A	p.(?)	-----	%0.02	-	-	LP	LP	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	29	c.6532C>T	p.(Gln2178*)	rs1193046655	%0.02	% 0.0004	-	LP	LP	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	İntron	c.1800+1G>A	p.(?)	rs397517497	%0.02	% 0.0021	% 0.0446	LP	LP	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	227	c.53206C>T	p.Arg17736*	rs571702144	%0.02	% 0.0032	-	LP	P-LP	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	3	c.229C>T	p.(Arg77*)	rs1347415564	%0.02	% 0.0001	-	LP	VUS	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_0012675 50.2	326	c.74338C>T	p.Arg24780*	rs794729285	%0.02	% 0.0004	-	P	P-LP	Dilate Kardiyomiyopati
<i>DES</i> NM_001927.4	1	c.406C>T	p.(Leu136Phe)	rs1175707667	%0.02	%0.0	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati

**Tablo 4.4.** ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variom e AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>DES</i> NM_001927.4	5	c.1000G>T	p.(Glu334*)	rs1227068284	%0.02	-	-	LP	--	Dilate Kardiyomiyopati
<i>LMNA</i> NM_170707.4	6	c.949G>T	p.Glu317*	rs56816490	%0.02	-	-	LP	P	Dilate Kardiyomiyopati
<i>LMNA</i> NM_170707.4	11	c.1960C>T	p.Arg654*	rs267607544	%0.02	% 0.0016	-	LP	VUS	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TNNT2</i> NM_001276345.2	11	c.460C>T	p.(Arg154Trp)	rs483352832	%0.02	% 0.0032	-	LP	LP-VUS	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TNNT2</i> NM_001276345.2	10	c.341C>T	p.(Ala114Val)	rs727504245	%0.08	% 0.0016	% 0.0648	LP	P-LP-VUS	Dilate Kardiyomiyopati
<i>MYBPC3</i> NM_000256.3	33	c.3721A>T	p.(Arg1241*)	----	%0.02	-	-	LP	--	Hipertrofik Kardiyomiyopati
<i>MYBPC3</i> NM_000256.3	27	c.2827C>T	p.(Arg943*)	rs387907267	%0.02	% 0.0012	-	P	P	Hipertrofik Kardiyomiyopati
<i>MYH7</i> NM_000257.4	22	c.2620G>A	p.(Glu874Lys)	----	%0.02	-	-	LP	--	Hipertrofik Kardiyomiyopati
<i>MYH7</i> NM_000257.4	25	c.3169G>A	p.(Gly1057Ser)	rs397516179	%0.02	% 0.0008	-	LP	LP	Hipertrofik Kardiyomiyopati

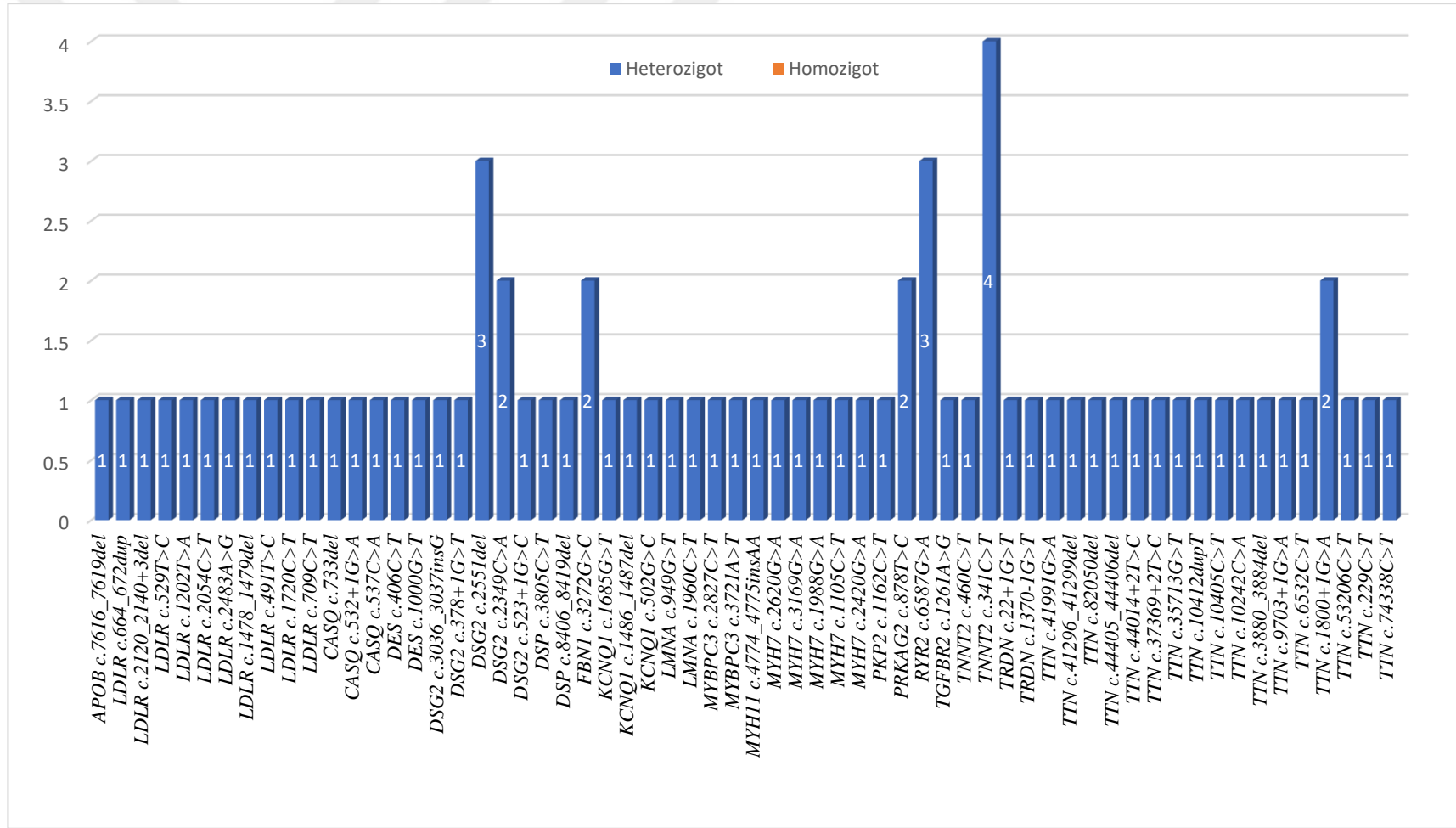
**Tablo 4.4.** ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variom e AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>MYH7</i> NM_000257.4	18	c.1988G>A	p.(Arg663His)	rs371898076	%0.02	% 0.0014	-	P	P	Hipertrofik Kardiyomiyopati
<i>MYH7</i> NM_000257.4	12	c.1105C>T	p.(Arg369Trp)	rs1318155896	%0.02	% 0.0004	-	LP	VUS	Hipertrofik Kardiyomiyopati
<i>MYH7</i> NM_000257.4	21	c.2420G>A	p.(Arg807His)	rs141414377	%0.02	% 0.0014	-	LP	VUS-LP-P	Hipertrofik Kardiyomiyopati
<i>PRKAG2</i> NM_016203.4	7	c.878T>C	p.Phe293Ser	----	%0.04	-	-	LP	--	Hipertrofik Kardiyomiyopati
<i>CASQ2</i> NM_001232.4	6	c.733del	p.(Gln245Lysfs*21)	---	%0.02	-	-	LP	--	Katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi
<i>CASQ2</i> NM_001232.4	İntron	c.532+1G>A	p.(?)	rs1202663155	%0.02	-	-	LP	LP	Katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi
<i>CASQ2</i> NM_001232.4	5	c.537C>A	p.(Tyr179*)	---	%0.02	-	-	LP	P	Katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi
<i>TRDN</i> NM_006073.4	İntron	c.22+1G>T	p.(?)	rs1290195833	%0.02	% 0.0004	-	P	P	Katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi
<i>TRDN</i> NM_006073.4	İntron	c.1370-1G>T	p.(?)	---	%0.02	-	-	LP	--	Katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi

**Tablo 4.4.** ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>RYR2</i> NM_001035.3	43	c.6587G>A	p.(Cys2196Tyr)	---	%0.06	-	-	LP	VU S	Katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi
<i>KCNQ1</i> NM_000218.3	13	c.1685G>T	p.(Arg562Met)	rs19947280 2	%0.02	-	-	LP	--	Uzun QT sendromu tip 1 ve 2
<i>KCNQ1</i> NM_000218.3	11	c.1486_1487 del	p.(Leu496Alafs*19)	rs39750809 0	%0.02	-	-	P	P	Uzun QT sendromu tip 1 ve 2
<i>KCNQ1</i> NM_000218.3	3	c.502G>C	p.(Gly168Arg)	rs179489	%0.02	% 0.0004	-	P	P	Uzun QT sendromu tip 1 ve 2

AF: Allel frekansı



Şekil 4.5. ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı

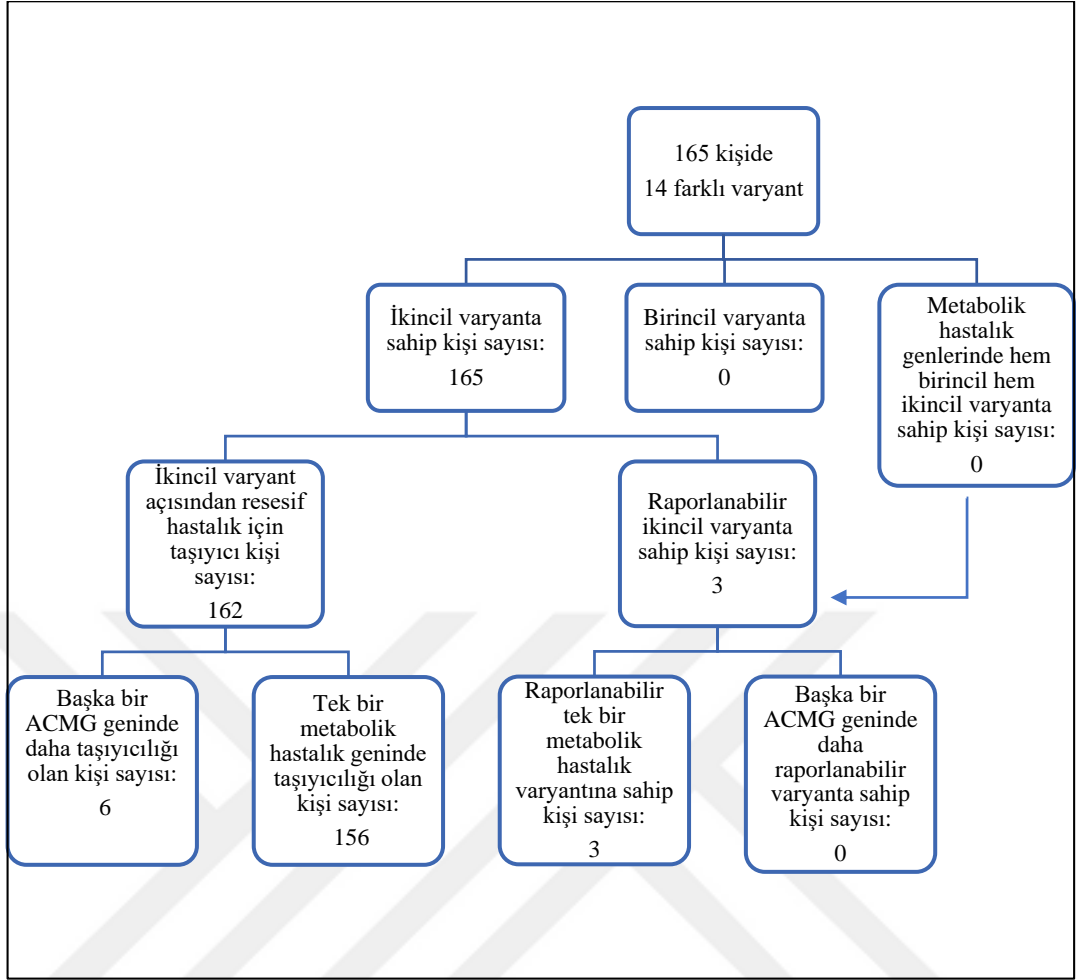
#### 4.2.3. Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar

Hastalar kalıtsal metabolik hastalık fenotipleriyle ilişkilendirilmiş genler açısından incelendiğinde 165 kişide *BTD* ve *GAA* genlerinde varyant tespit edildi. 153 kişide *BTD* geninde 8 farklı varyant, 12 kişide *GAA* geninde 6 farklı varyant olmak üzere toplam 14 farklı varyant tespit edildi. Totalde en sık tespit edilen değişiklik *BTD* genindeki hipomorfik bir varyant olan c.1270G>C (p.Asp424His) idi (n:139 hasta). *GAA* geni özelinde en sık tespit edilen varyant ise kodlamayan bölgede bulunan c.-32-13T>G değişikliği idi (n:7 hasta). Varyantların tamamı daha önce ClinVar veri tabanında muhtemelen patojenik/ patojenik olarak bildirilmiş veya hasta bireylerde tanımlanmış varyantlardı. 165 kişiden sadece 3'ü c.1270G>C (p.Asp424His) açısından homozigot olarak saptandı geriye kalan 162 kişide heterozigot olarak bulundu ve bu değişiklikler açısından taşıyıcıydı. Homozigot *BTD* varyantı taşıyan bireylerde ise biyotinidaz eksikliği açısından herhangi bir klinik bulgu yoktu. Bu sebeple ikincil bulgu olarak değerlendirildi.

Bu grupta *BTD* c.1270G>C (p.Asp424His) varyantı 3 hastada homozigot olarak gözlemlendi. Bunun dışında tüm varyantlar heterozigot durumdaydı. Metabolik hastalık genlerinden biallelik olması halinde bildirilmesi önerilen *BTD* ve *GAA* genleri açısından heterozigot varyanta sahip 162 kişi taşıyıcı durumdaydı. ACMG kılavuz v3.2' ye göre sadece 3 hastadaki homozigot *BTD* varyantları metabolik hastalıklar açısından rapor edilebilir gruptaydı.

Metabolik hastalık genlerinde saptanan ikincil varyantlar Tablo 4.5.'te ve saptanan her varyant için zigosite ve proband sayısı Şekil 4.7.' de sunulmuştur.

ACMG v3.2'ye göre metabolik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan kişi sayıları Şekil 4.6.'da özetlenmiştir.

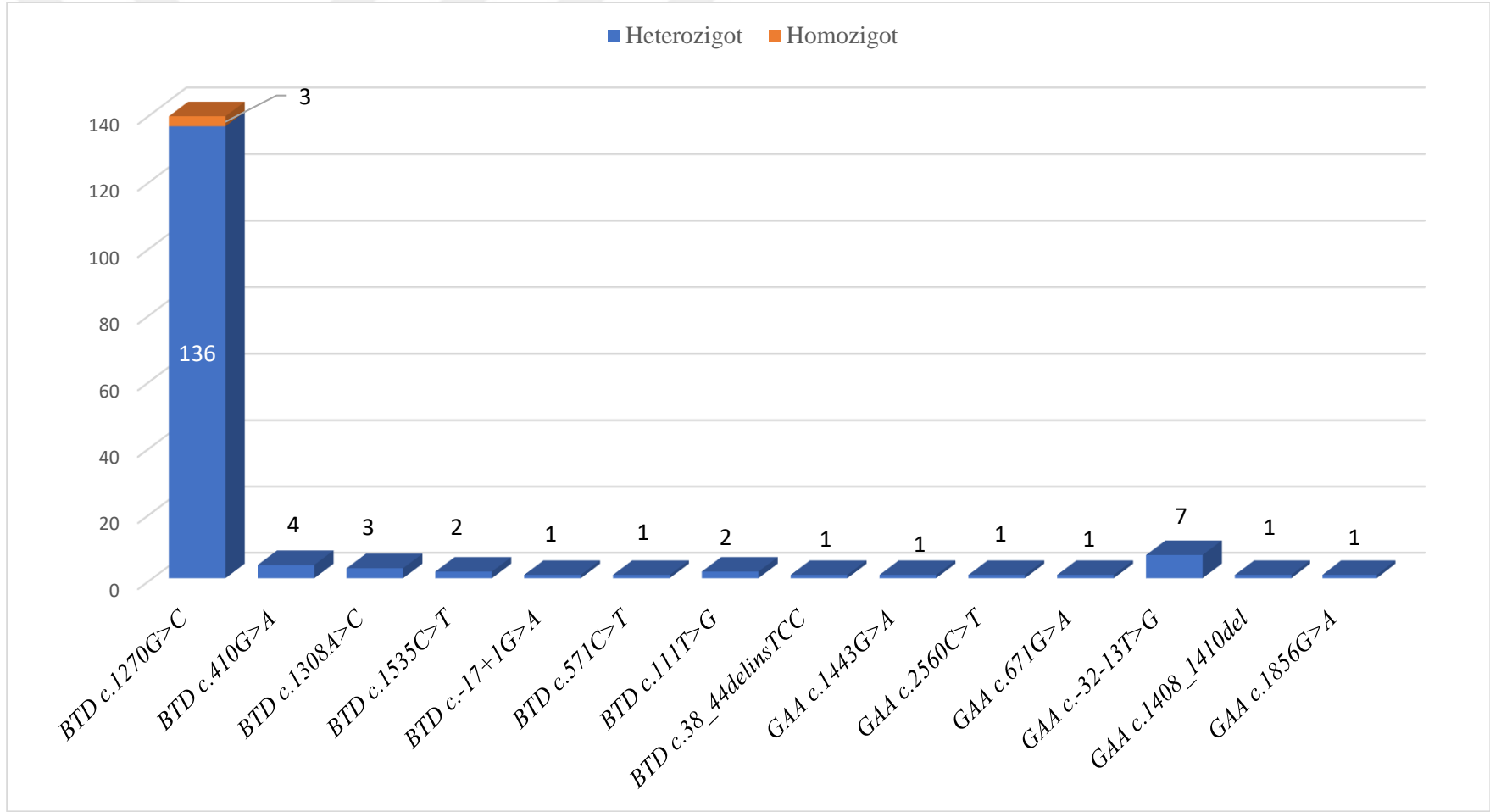


**Şekil 4.6.** ACMG v3.2'ye göre metabolik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları

**Tablo 4.5.** ACMG v3.2'ye göre kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadak i AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>BT</i> NM_001370658.1	4	c.1270G>C	p.Asp424His	rs13078881	%3	% 3.1839 (199 Homozigot)	% 3.4704 (8 Homozigot)	P	P-LP	Biyotinidaz eksikliği
<i>BT</i> NM_001370658.1	4	c.410G>A	p.Arg137His	rs146015592	%0.08	% 0.0103	% 0.0893	P	P	Biyotinidaz eksikliği
<i>BT</i> NM_001370658.1	4	c.1308A>C	p.Gln436His	rs80338685	%0.06	% 0.0407	% 0.0886	P	P-LP	Biyotinidaz eksikliği
<i>BT</i> NM_001370658.1	4	c.1535C>T	p.Thr512Met	rs104893688	%0.04	% 0.0079	% 0.194	P	P	Biyotinidaz eksikliği
<i>BT</i> NM_001370658.1	İntron	c.-17+1G>A	p.(?)	rs1057516440	%0.02	-	-	P	P-LP	Biyotinidaz eksikliği
<i>BT</i> NM_001370658.1	4	c.571C>T	p.Arg191Cys	rs372844636	%0.02	% 0.0021	-	P	P	Biyotinidaz eksikliği
<i>BT</i> NM_001370658.1	2	c.111T>G	p.Tyr37*	rs397514339	%0.04	% 0.00006	-	LP	P	Biyotinidaz eksikliği
<i>BT</i> NM_001370658.1	2	c.38_44delins TCC	c.38_44delins TCC	rs80338684	%0.02	-	-	P	P	Biyotinidaz eksikliği
<i>GAA</i> NM_000152.5	10	c.1443G>A	p.Trp481*	---	%0.02	-	-	LP	P	Pompe hastalığı
<i>GAA</i> NM_000152.5	18	c.2560C>T	p.(Arg854*)	rs121907943	%0.02	% 0.0209	-	P	P	Pompe hastalığı
<i>GAA</i> NM_000152.5	3	c.671G>A	p.(Arg224Gln)	rs200210219	%0.02	% 0.0025	-	P	LP	Pompe hastalığı
<i>GAA</i> NM_000152.5	İntron	c.-32-13T>G	p.(?)	rs386834236	%0.15	% 0.3401 (1 Homozigot)	% 0.0647	P	P	Pompe hastalığı
<i>GAA</i> NM_000152.5	9	c.1408_1410del	p.(Asn470del)	rs748893499	%0.02	% 0.0008	-	P	P	Pompe hastalığı
<i>GAA</i> NM_000152.5	13	c.1856G>A	p.(Ser619Asn)	rs753269119	%0.02	% 0.0017	-	P	P-LP	Pompe hastalığı

AF:Allel Frekansı



**Şekil 4.7.** ACMG v3.2'ye göre metabolik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı

#### 4.2.4. Diğer fenotipler ile ilgili genlerdeki varyantlar

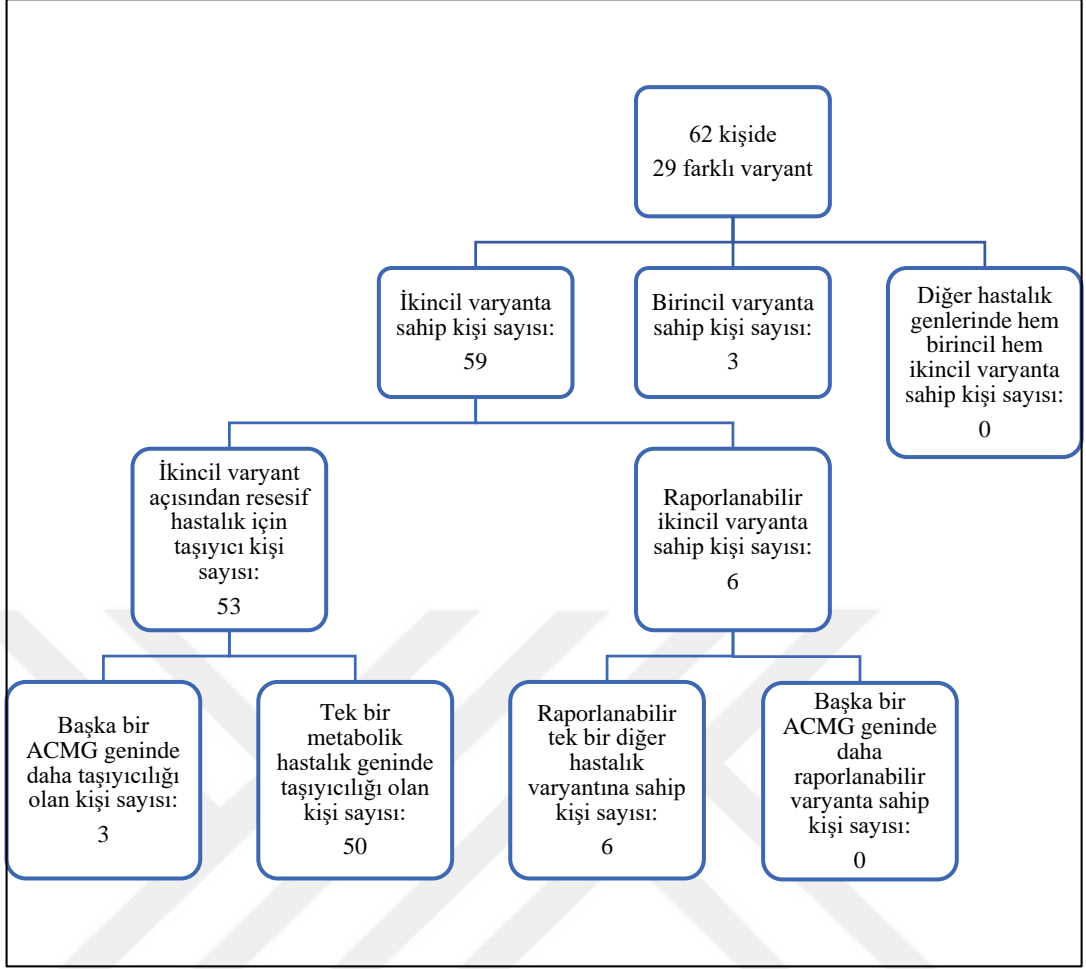
Son alt grup olan diğer fenotiplerle ilgili genler açısından kohort değerlendirildiğinde; malign hipertermi genlerinden *RYR1* ve *CACNA1S*, Wilson hastalığı geni olan *ATP7B*, gençlerde diyabetin olgunluk başlangıcı (MODY) geni olan *HNFA*, kalıtsal hemokromatozis geni olan *HFE*, *RPE65* ile ilişkili retinopati geni olan *RPE65* geni olmak üzere toplam 6 farklı gende 29 farklı varyant saptandı (n:62 hasta). *RYR1*'de 3 farklı varyant (n:4 hasta), *CACNA1S*'de 1 varyant (n:1 hasta), *HNFA* 'da 2 farklı varyant (n:3 hasta), *RPE65*'te 1 varyant (n: 1 hasta) saptandı. *HFE* c.845G>A (p.Cys282Tyr) değişikliği sadece bir hastada heterozigot olarak tespit edildi. Toplam 52 kişide 21 benzersiz varyant ile en sık değişiklik saptanan gen *ATP7B* geniydi. En sık tespit edilen varyant ise 10 kişide gözlenen *ATP7B* c.3688A>G p.(Ile1230Val) değişikliydi. *CACNA1S* (1/4 varyant) ve *ATP7B* (3/4 varyant) genlerindeki 4 varyant daha önce ClinVar'da bildirilmemişti. *CACNA1S* c.3543del (p.Trp1182Glyfs\*7) , *ATP7B* c.784A>T (p.Arg262\*) ve c.4279C>T (p.Gln1427\*) varyantları hakkında herhangi bir veri tabanında veya literatürde bilgi yoktu ve yeni varyant olarak değerlendirildi.

*RPE65* genindeki varyant homozigot olarak saptandı, diğer tüm varyantlar heterozigot durumdaydı. Biallelik kalıtımla hastalık yapan *ATP7B* ve *HFE* genlerine sahip olan hastaların tamamı (n:53 hasta) taşıyıcıydı.

Hastaların ön tanıları ile saptanan varyantlar karşılaştırıldığında *RPE65* varyantına sahip hastanın retinal hastalık, *HNFA* varyantına sahip 2 hastanın monogenik diyabet ön tanıları ile başvurduğu görüldü ve birincil varyant olarak değerlendirildi ve ikincil bulgu listesinden çıkarıldı.

Diğer hastalık genlerinde saptanan ikincil varyantlar Tablo 4.6.'da ve saptanan her varyant için zigosite ve proband sayısı Şekil 4.9.' da sunulmuştur.

ACMG v3.2'ye göre diğer hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan kişi sayıları Şekil 4.8.'de özetlenmiştir.



**Şekil 4.8.** ACMG v3.2'ye göre diğer hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları

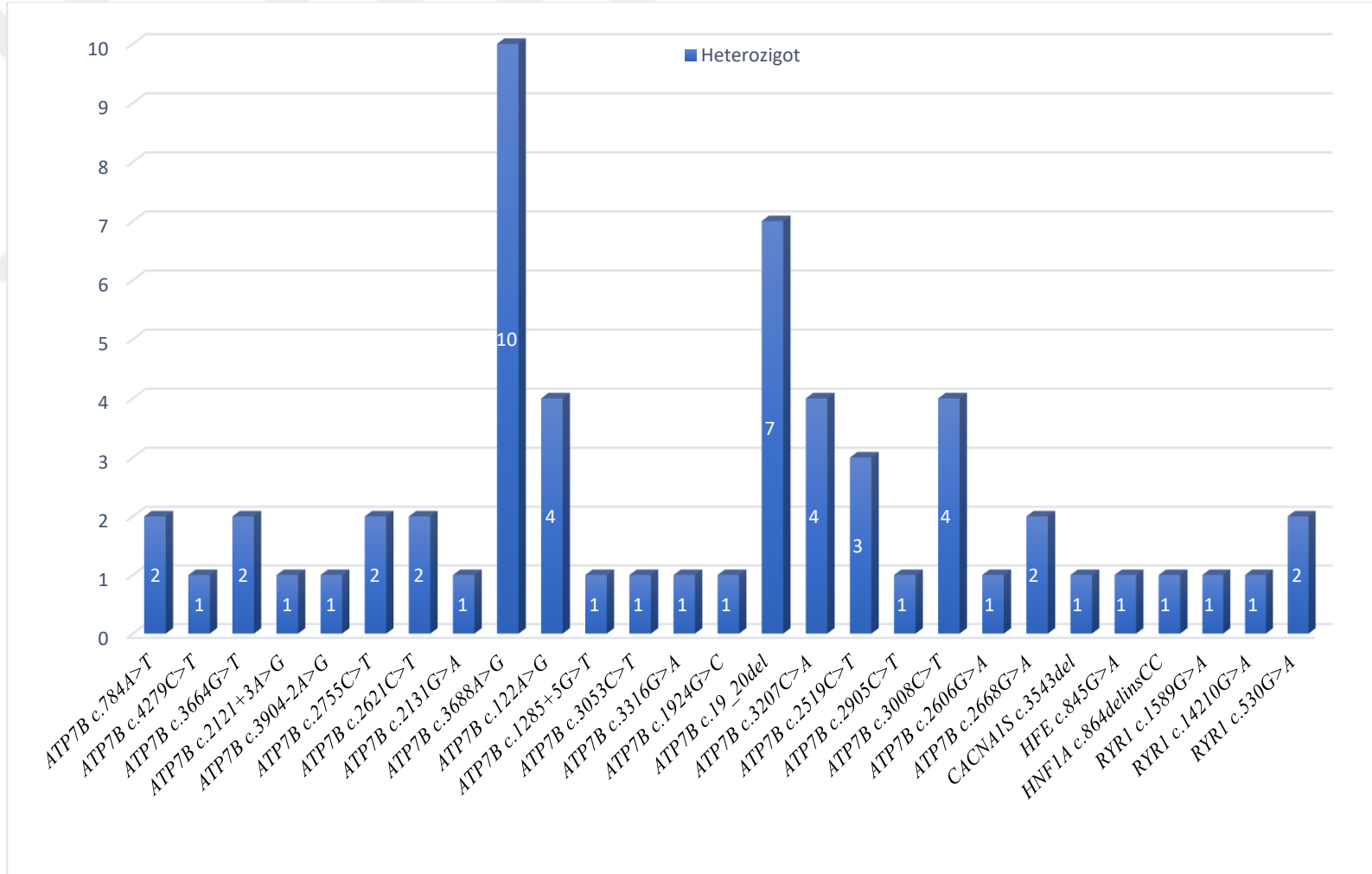
**Tablo 4.6.** ACMG v3.2'ye göre diğer hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadak i AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>RYR1</i> NM_000540.3	15	c.1589G>A	p.(Arg530His)	rs111888148	%0.02	% 0.0056	% 0.0297	LP	LP-P	Malign hipertermi
<i>RYR1</i> NM_000540.3	98	c.14210G>A	p.(Arg4737Gln )	rs193922868	%0.02	% 0.0004	-	P	P	Malign hipertermi
<i>RYR1</i> NM_000540.3	6	c.530G>A	p.(Arg177His)	rs750303767	%0.04	% 0.0012	-	LP	LP	Malign hipertermi
<i>CACNA1S</i> NM_000069.3	28	c.3543del	p.(Trp1182Gly fs*7)	-	%0.02	-	-	LP	-	Malign hipertermi
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	2	c.784A>T	p.(Arg262*)	-	%0.04	-	-	LP	-	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	21	c.4279C>T	p.(Gln1427*)	-	%0.02	-	-	LP	-	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	17	c.3664G>T	p.(Asp1222Tyr )	-	%0.04	-	-	LP	-	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	İntron	c.2121+3A>G	p.(?)	rs124800261 2	%0.02	% 0.0004	-	LP	P-LP	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	İntron	c.3904-2A>G	p.(?)	rs105751723 3	%0.02	-	-	P	P	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	12	c.2755C>T	p.(Arg919Trp)	rs121907993	%0.04	% 0.006	-	LP	P-LP	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	11	c.2621C>T	p.(Ala874Val)	rs121907994	%0.04	% 0.0068	% 0.0744	P	P-LP	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	8	c.2131G>A	p.(Gly711Arg)	rs139499975 6	%0.02	-	-	LP	P-LP	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	17	c.3688A>G	p.(Ile1230Val)	rs200911496	%0.2	% 0.0342	% 0.1786	LP	P- LP- VUS	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	2	c.122A>G	p.(Asn41Ser)	rs201738967	%0.08	% 0.0242	% 0.1294	LP	P-LP	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	İntron	c.1285+5G>T	p.(?)	rs370579582	%0.02	% 0.0057	% 0.0355	LP	P-LP	Wilson hastalığı

**Tablo 4.6. ACMG v3.2'ye göre diğer hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)**

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	13	c.3053C>T	p.(Ala1018Val)	rs371840514	%0.02	% 0.0058	% 0.0361	P	P-LP	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	15	c.3316G>A	p.(Val1106Ile)	rs541208827	%0.02	% 0.0128	-	LP	P-LP-VUS	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	6	c.1924G>C	p.(Asp642His)	rs72552285	%0.02	% 0.0012	-	LP	P-LP	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	1	c.19_20del	p.(Gln7Aspfs*14)	rs749363958	%0.15	% 0.0139	% 0.0647	LP	P-LP-VUS	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	14	c.3207C>A	p.(His1069Gln)	rs76151636	%0.08	% 0.1019	% 0.0299	P	P	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	10	c.2519C>T	p.(Pro840Leu)	rs768671894	%0.06	% 0.00068	-	P	P	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	13	c.2905C>T	p.(Arg969Trp)	rs774028495	%0.02	% 0.0043	-	LP	LP-VUS	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	13	c.3008C>T	p.(Ala1003Val)	rs775055397	%0.08	% 0.0033	% 0.1195	P	P-LP	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	11	c.2606G>A	p.(Gly869Glu)	rs775553302	%0.02	% 0.0008	-	LP	LP-VUS	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	11	c.2668G>A	p.(Val890Met)	rs786204718	%0.04	% 0.0018	% 0.0647	P	P-LP	Wilson hastalığı
<i>HNF1A</i> NM_000545.8	4	c.864delinsCC	p.(Gly292Argfs*25)	rs1593058932	%0.04	-	-	P	P-LP	MODY
<i>HFE</i> NM_000410.4	4	c.845G>A	p.(Cys282Tyr)	rs1800562	%0.02	% 3.3771 (276 Homozigot)	% 0.3275	P	P	Kalitsal hemokromatozis

AF:Allel Frekansı



Şekil 4.9. ACMG v3.2'ye göre diğer hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı

#### 4.2.5. ACMG İkincil Bulgular Kılavuzunda Önerilen Genlerdeki Yeni Varyantlar

Çalışmada ACMG kılavuzu v3.2’de yer alan 81 genin 17’sinde saptanan 37 farklı varyant daha önce ClinVar’ da bildirilmemiştir ancak burada bildirilmeyen bazı varyantların farklı veri tabanlarında veya literatürde bildirildiği görülmüştür. Bunlardan daha önce herhangi bir veri tabanında, hasta bireylerde veya literatürde bildirilmemiş olan 17 gendeki 29 varyant yeni varyant olarak değerlendirilmiştir. En sık *TTN* geninde yeni varyantlar tespit edilmiştir (10/29). Bunu *ATP7B*, *LDLR* ve *FBNI* genleri (n:2,2,2) takip etmektedir. Yeni varyantlar Tablo 4.7.’de gösterilmiştir.



**Tablo 4.7.** ACMG kılavuzu v3.2’de yer alan genlerdeki yeni varyantlar

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Zigosite	Patojenite	Proband sayısı (n)	rs numarası	Çalışmada ki AF	GnomA D MAF	Turkish Variome AF	ClinVar	Fenotip
<i>APOB</i> NM_000384.3	26	c.7616_7619del	p.(Val2539Alafs*38)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	2	c.784A>T	p.(Arg262*)	Heterozigot	LP	2	-	%0.04	-	-	-	Wilson hastalığı
<i>ATP7B</i> NM_000053.4	21	c.4279C>T	p.(Gln1427*)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Wilson hastalığı
<i>CACNA1S</i> NM_000069.3	28	c.3543del	p.(Trp1182Glyfs*7)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Malign Hipertermi
<i>CASQ2</i> NM_001232.4	6	c.733del	p.(Gln245Lysfs*21)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi
<i>DSP</i> NM_004415.4	24	c.8406_8419del	p.(Leu2803Argfs*44)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi
<i>FBN1</i> NM_000138.5	25	c.2873G>T	p.(Cys958Phe)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Aortopatiler
<i>FBN1</i> NM_000138.5	27	c.3272G>C	p.(Gly1091Ala)	Heterozigot	LP	2	-	%0.04	-	-	-	Aortopatiler

**Tablo 4.7.** ACMG kılavuzu v3.2’de yer alan genlerdeki yeni varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Zigosite	Patojenite	Proband sayısı (n)	rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Clin Var	Fenotip
<i>LDLR</i> NM_000527.5	İntron	c.2120_2140+3del	p.(?)	Heterozigot	LP	5	-	%0.1	-	-	-	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>LDLR</i> NM_000527.5	4	c.664_672dup	p.(Cys222_Asp224dup)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Ailesel hiperkolesterolemi
<i>MEN1</i> NM_001370259.2	2	c.392_396del	p.(Arg131Leufs*47)	Heterozigot	LP	2	-	%0.04	-	-	-	Multipl endokrin neoplazi tip 1
<i>MYBPC3</i> NM_000256.3	33	c.3721A>T	p.(Arg1241*)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Hipertrofik Kardiyomiyopati
<i>MYH11</i> NM_002474.3	33	c.4774_4775insAA	p.(Arg1592Lysfs*36)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Aortopatiler
<i>MYH7</i> NM_000257.4	22	c.2620G>A	p.(Glu874Lys)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Hipertrofik Kardiyomiyopati
<i>PMS2</i> NM_000535.7	11	c.1362_1407dup	p.(Pro470Valfs*3)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Lynch sendromu (Kalıtsal Nonpolipozis Kolorektal Kanseri; HNPCC)
<i>PRKAG2</i> NM_016203.4	7	c.878T>C	p.(Phe293Ser)	Heterozigot	LP	2	-	%0.04	-	-	-	Hipertrofik Kardiyomiyopati
<i>PTEN</i> NM_000314.8	8	c.830_831insGA	p.(Phe278Asnfs*14)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	PTEN hamartom tümör sendromu

**Tablo 4.7.** ACMG kılavuzu v3.2’de yer alan genlerdeki yeni varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Zigosite	Patojenite	Proband sayısı (n)	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Clin Var	Fenotip
<i>RBI</i> NM_000321.3	İntron	c.1333-1G>T	p.(?)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Retinoblastom
<i>TRDN</i> NM_006073.4	İntron	c.1370-1G>T	p.(?)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi
<i>TTN</i> NM_001267550.2	228	c.41991G>A	p.(Trp13997*)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_001267550.2	225	c.41296_41299del	p.(Glu13766Argfs*9)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_001267550.2	326	c.82050del	p.(Lys27350Asnfs*15)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_001267550.2	240	c.44405_44406del	p.(Lys14802Thrfs*6)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_001267550.2	İntron	c.44014+2T>C	p.(?)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_001267550.2	İntron	c.37369+2T>C	p.(?)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_001267550.2	161	c.35713G>T	p.(Glu11905*)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_001267550.2	45	c.10412dupT	p.(Ser3472Valfs*30)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_001267550.2	45	c.10405C>T	p.(Gln3469*)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Dilate Kardiyomiyopati
<i>TTN</i> NM_001267550.2	44	c.10242C>A	p.(Tyr3414*)	Heterozigot	LP	1	-	%0.02	-	-	-	Dilate Kardiyomiyopati

AF:Allel Frekansı

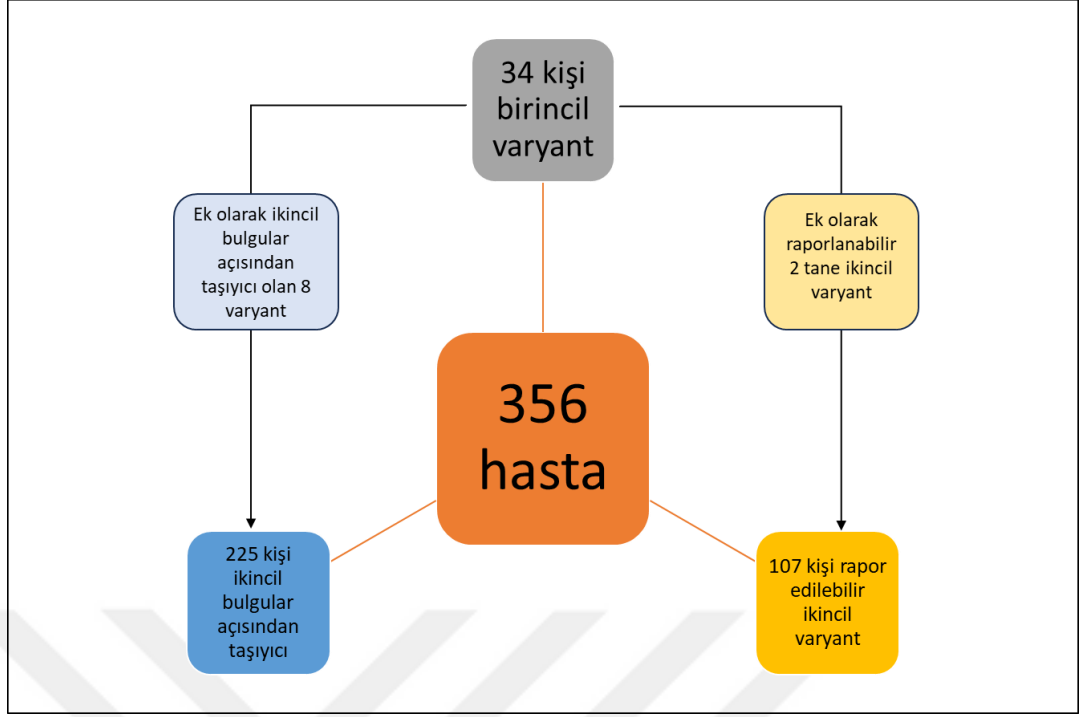
#### 4.2.6. ACMG İkincil Bulgular Kılavuzunda Önerilen Genlerdeki Bulguların Yaygınlığı

ACMG kılavuzunda önerilen genlerde varyant saptanan toplam 356 kişi vardı. 356 kişiden 34'ü birincil varyanta sahipti ve birincil varyantlar hesaplama dahil edilmedi. Birincil varyantı olan 34 kişinin 10'unda ise kılavuz dışı başka bir gende raporlanabilir veya taşıyıcı durumda eşlik eden ikincil bulgu vardı. 225 kişi ise raporlanabilir herhangi bir varyantı olmadan sadece biallelik durumda raporlanması önerilen genlerde taşıyıcılığa sahipti ve bu ikincil bulgu oranı hesaplamasının dışında tutuldu.

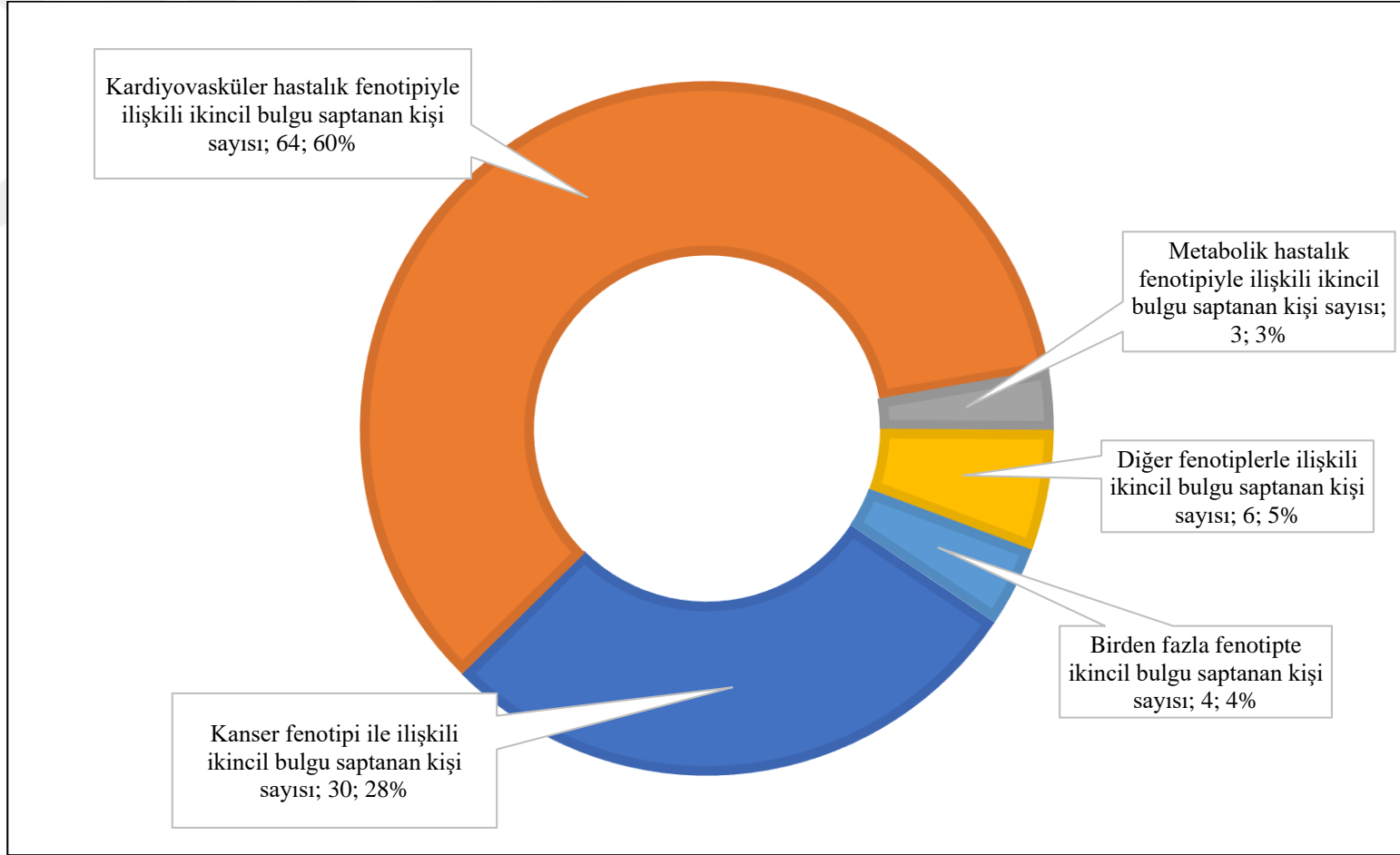
Hastalarda ACMG v3.2'ye göre raporlanabilir varyantlara bakıldığında kanser fenotipi açısından 30 kişi; KVH fenotipi açısından 64 kişi; metabolik hastalık fenotipi açısından 3 kişi; diğer fenotiplerle ilgili olarak 6 kişi olduğu görüldü. 4 kişide ACMG'ye göre raporlanabilir olan farklı fenotiplere ait genlerde 2 varyant vardı. Toplamda 107 kişide ACMG v3.2'ye raporlanabilir varyant tespit edildi. Kohorttaki ikincil bulgu saptanma oranı %4,49 olarak hesaplandı.

Raporlanabilir gen olmadan taşıyıcılığa sahip 225 kişiye bakıldığında 218 kişi bir varyant, 7 kişi ise iki varyant için taşıyıcıydı. Taşıyıcılık için oran %9,44 olarak hesaplandı.

Çalışmada ACMG v3.2 genlerinde birincil varyant, raporlanabilir ikincil varyant ve taşıyıcılık tespit edilen toplam kişi sayıları Şekil 4.10.'da sunulmuştur. Raporlanabilir ikincil varyant saptanan 107 kişinin fenotip gruplarına göre dağılımı ise Şekil 4.11.'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.10.** Çalışmada ACMG v3.2 genlerinde birincil varyant, raporlanabilir ikincil varyant ve taşıyıcılık tespit edilen toplam kişi sayıları



**Şekil 4.11.** Raporlanabilir ikincil varyant saptanan 107 kişinin fenotip gruplarına göre dağılımı

### 4.3. KILAVUZ DIŞI GENLERDEKİ TESADÜFİ BULGULARA GÖRE TESPİT EDİLEN VARYANTLAR

Yapılan literatür taraması ve ClinGen'in eyleme geçilebilir genlerinin değerlendirilmesi sonucunda toplam 23 gen (*CDH1*, *CFTR*, *DMD*, *F5*, *PAH*, *MEFV*, *G6PD*, *GJB2*, *ATM*, *CHEK2*, *BRIP1*, *RAD50*, *BARD1*, *RAD51C*, *RAD51D*, *NF1*, *MC4R*, *PKD1*, *PKD2*, *SLC3A1*, *SLC7A9*, *HBB*, *VWF*) tarandı. 731 kişide 22 gende 183 farklı varyant olmak üzere toplamda 857 varyant kaydedildi. *CDH1* geninde P/LP varyant saptanmadı. 617 kişide 1 varyant, 106 kişide 2 farklı varyant, 9 kişide 3 farklı varyant tespit edildi. Çoklu varyantı olan grupta aynı gende birden fazla varyanta sahip olan kişi sayısı ise 10'du. 4 kişi iki farklı *CFTR* varyantı, 3 kişi iki farklı *MEFV* varyantı, 1 kişi iki farklı *SLC3A1* varyantı, 1 kişi iki farklı *PAH* varyantı ve 1 kişi de iki farklı *ATM* varyantına sahipti.

Hastaların mevcut ön tanılarına göre tespit edilen varyantların birincil varyant olup olmadıkları kontrol edildiğinde 29 kişide saptanan ve ikincil bulgu olduğu düşünülen varyantlardan en az birinin hastanın klinik fenotipiyle ilişkili olduğu görüldü. En sık birincil bulgu 8 hastada saptadığımız sistinüri fenotipinde gözlemlendi. Daha sonra obeziteyle ilişkili *MC4R* geni olan 6 kişi (obezite (n:4); monogenik diyabet (n:2)), *CFTR* ilişkili hastalıkları (KF (n:1), kronik pankreatit (n:3)) olan 4 kişi ve FKÜ hastalığı olan 3 kişi takip etti. Birer kişide birincil bulgu olarak tespit edilen genler ise *ATM*, *G6PD*, *HBB*, *PKD1*, *DMD* ve *VWF* idi.

Hastalarda tespit edilen varyantları değerlendirirken sistematik olması amacıyla kanser fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar, hematolojik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar, kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar ve diğer fenotipler ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar olmak üzere 4 alt başlık altında detaylandırılmıştır.

#### 4.3.1. Kanser Fenotipleri ile İlgili Kılavuz Dışı Genlerdeki Varyantlar

Kanser fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar açısından *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *NF1*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D* üzere 9 gen değerlendirildi. 67 kişide 8 farklı gende 35 farklı varyant tespit edildi. *CDH1* geninde varyant

saptanmadı. Varyant çeşitliliği değerlendirildiğinde çoktan aza doğru sıralama 11 farklı varyant *CHEK2* (n:40 kişi), 10 farklı varyant *ATM* (n:11 kişi), 5 farklı varyant *RAD50* (n:5 kişi), 3 farklı varyant *BRIP1* (n:4 kişi), 2'şer farklı varyant *BARD1* (n:3 kişi) ve *NF1* (n:2 kişi), 1'er varyant *RAD51C* (n:1 kişi) ve *RAD51D* (n:1 kişi) şeklindeydi. Ayrıca en sık saptanan gen 40 kişide tespit edilen *CHEK2* idi. Onu 11 kişide saptanan *ATM* geni izledi. En sık saptanan varyant ise 13 kişide bulunan *CHEK2* c.1427C>T (p.(Thr476Met)) idi.

Hastaların ön tanılarına göre sahip olduğu varyantlar kontrol edildiğinde bir hastanın nörogelişimsel gerilik ve yürüme bozukluğu ön tanısı ile başvurduğu ve *ATM*'de bileşik heterozigot varyantı olduğu tespit edildi. Bu hastada saptanan bileşik heterozigot varyantlar birincil bulgu olarak değerlendirildi. Kılavuz dışı genlerdeki ikincil bulgular listesine dahil edilmedi.

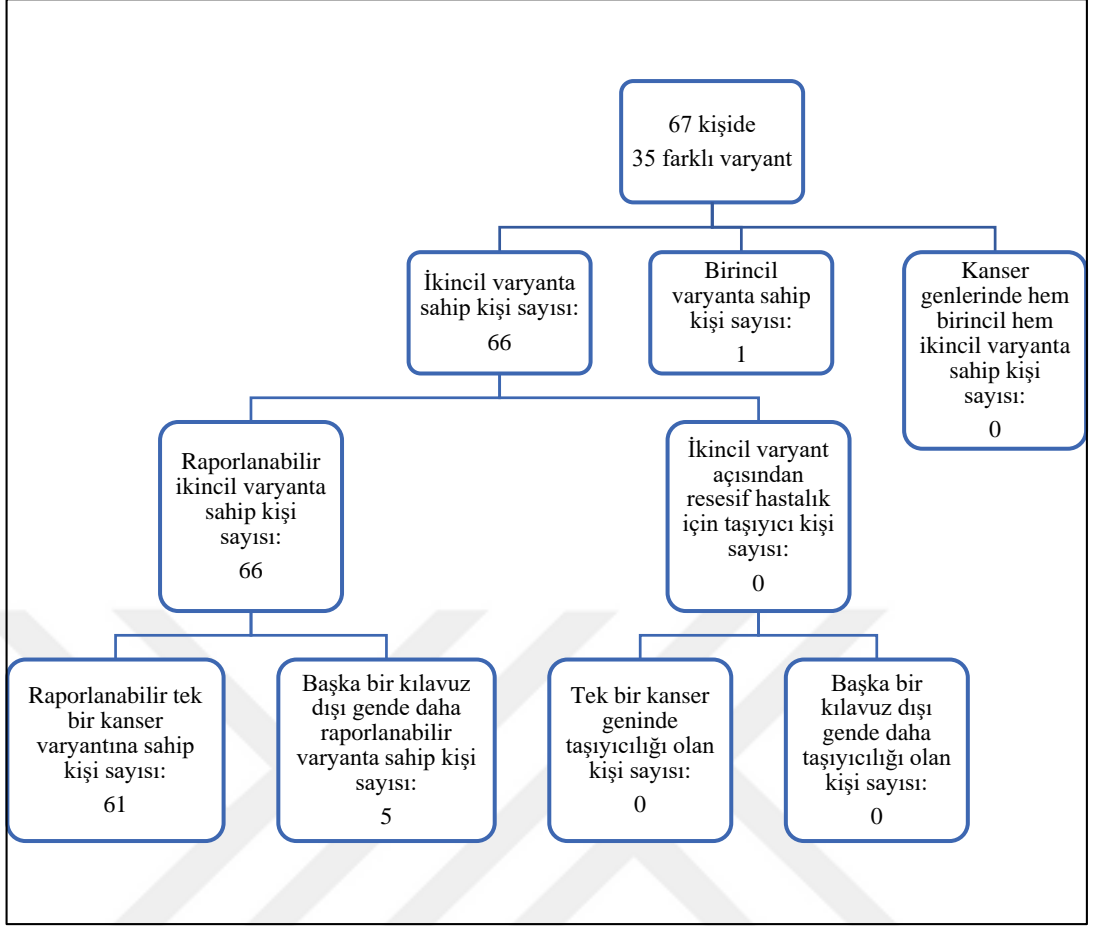
*CHEK2* c.499G>A (p.(Gly167Arg)) varyantı bir kişide homozigot olarak saptandı geriye kalan varyantların tamamı heterozigottu.

Tespit edilen 35 varyanttan 5 tanesi ClinVar, dbSNP, GnomAD gibi veri tabanlarında daha önce bildirilmemişti ve literatür taraması yapıldığında herhangi bir veriye rastlanmadığı için yeni varyant olarak kabul edildi *ATM*'de iki, *CHEK2*, *RAD50* ve *BRIP1*'de birer yeni varyant vardı.

Birincil varyantlar ve OR kalıtımla hastalık yapan genlerdeki taşıyıcılık (heterozigot) durumunda olan varyantlar çıkarıldığında 66 kişide ikincil bulgu olarak rapor edilebilir varyant tespit edildi. Kılavuz dışı kanser fenotipi yapan genlerdeki ikincil bulgu oranı %2,76 olarak saptandı.

Kanser fenotipleriyle ilişkilendirilmiş kılavuz dışı genlerde saptanan varyantlar Tablo 4.8.'de ve saptanan her varyant için zigosite ve proband sayısı Şekil 4.13.' te sunulmuştur.

Kanser fenotipleriyle ilişkilendirilmiş kılavuz dışı genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan kişi sayıları Şekil 4.12.'de özetlenmiştir.



**Şekil 4.12.** Kılavuz dışı incelenen genlere göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları

**Tablo 4.8.** Kanser fenotipleriyle ilişkilendirilmiş kılavuz dışı genlerde saptanan ikincil varyantlar

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>ATM</i> NM_000051.4	63	c.9170G>C	p.(*3057Serext*29)	rs2091262802	%0.04	-	-	LP	LP	Meme kanseri, yatkınlık
<i>ATM</i> NM_000051.4	49	c.7219T>C	p.(Ser2407Pro)	rs1565526951	%0.04	-	-	LP	LP-VUS	Meme kanseri, yatkınlık
<i>ATM</i> NM_000051.4	İntro n	c.6199-1G>T	p.(?)	rs1591788932	%0.04	-	-	P	P	Meme kanseri, yatkınlık
<i>ATM</i> NM_000051.4	28	c.4143dup	p.(Pro1382Serfs*6)	rs730881309	%0.04	-	-	P	P	Meme kanseri, yatkınlık
<i>ATM</i> NM_000051.4	52	c.7788G>A	p.(Glu2596=)	rs587780639	%0.04	% 0.0004	-	P	P-LP	Meme kanseri, yatkınlık
<i>ATM</i> NM_000051.4	57	c.8395_8404del	p.(Phe2799Lysfs*4)	rs786202800	%0.04	% 0.002	-	P	P-LP	Meme kanseri, yatkınlık
<i>ATM</i> NM_000051.4	İntro n	c.2251-4A>G	p.(?)	rs786202935	%0.08	-	-	LP	P-LP-VUS	Meme kanseri, yatkınlık
<i>ATM</i> NM_000051.4	İntro n	c.3746+1G>C	p.(?)	---	%0.04	-	-	LP	-	Meme kanseri, yatkınlık
<i>ATM</i> NM_000051.4	47	c.6813_6814insA	p.(Glu2272Argfs*8)	-----	%0.08	-	-	P	-	Meme kanseri, yatkınlık
<i>BARD1</i> NM_000465.4	3	c.244G>T	p.(Gly82*)	-----	%0.04	-	-	LP	P	Meme kanseri, yatkınlık
<i>BARD1</i> NM_000465.4	8	c.1690C>T	p.(Gln564*)	rs587780021	%0.08	% 0.0025	-	LP	P	Meme kanseri, yatkınlık
<i>BRIP1</i> NM_032043.3	12	c.1668C>G	p.(Tyr556*)	-----	%0.04	-	-	LP	-	Erken başlangıçlı meme kanseri, yatkınlık

**Tablo 4.8.** Kanser fenotipleriyle ilişkilendirilmiş kılavuz dışı genlerde saptanan ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>BRIP1</i> NM_032043.3	19	c.2684_2687 del	p.(Ser895*)	rs760551339	%0.04	% 0.0014	-	P	P-LP	Erken başlangıçlı meme kanseri, , yatkınlık
<i>BRIP1</i> NM_032043.3	20	c.2992_2995 del	p.(Lys998Glu fs*60)	rs786203717	%0.02	% 0.0018	% 0.0708	P	P-LP	Erken başlangıçlı meme kanseri, , yatkınlık
<i>CHEK2</i> NM_007194.4	13	c.1421G>A	p.(Arg474His)	rs121908706	%0.02	% 0.0072	-	LP	LP-VUS	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal
<i>CHEK2</i> NM_007194.4	2	c.190G>A	p.(Glu64Lys)	rs141568342	%0.02	% 0.0159	% 0.0647	LP	LP-VUS	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal
<i>CHEK2</i> NM_007194.4	13	c.1427C>T	p.(Thr476Met)	rs142763740	%0.27	% 0.0313	% 0.3881	LP	LP-VUS	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal
<i>CHEK2</i> NM_007194.4	10	c.1043T>G	p.(Leu348*)	rs878854908	%0.02	-	-	LP	P	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal
<i>CHEK2</i> NM_007194.4	İntron	c.444+1G>A	p.(?)	rs121908698	%0.04	% 0.0142	-	P	P-LP	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal
<i>CHEK2</i> NM_007194.4	11	c.1169A>C	p.(Tyr390Ser)	rs200928781	%0.15	% 0.0024	-	LP	P-LP	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal

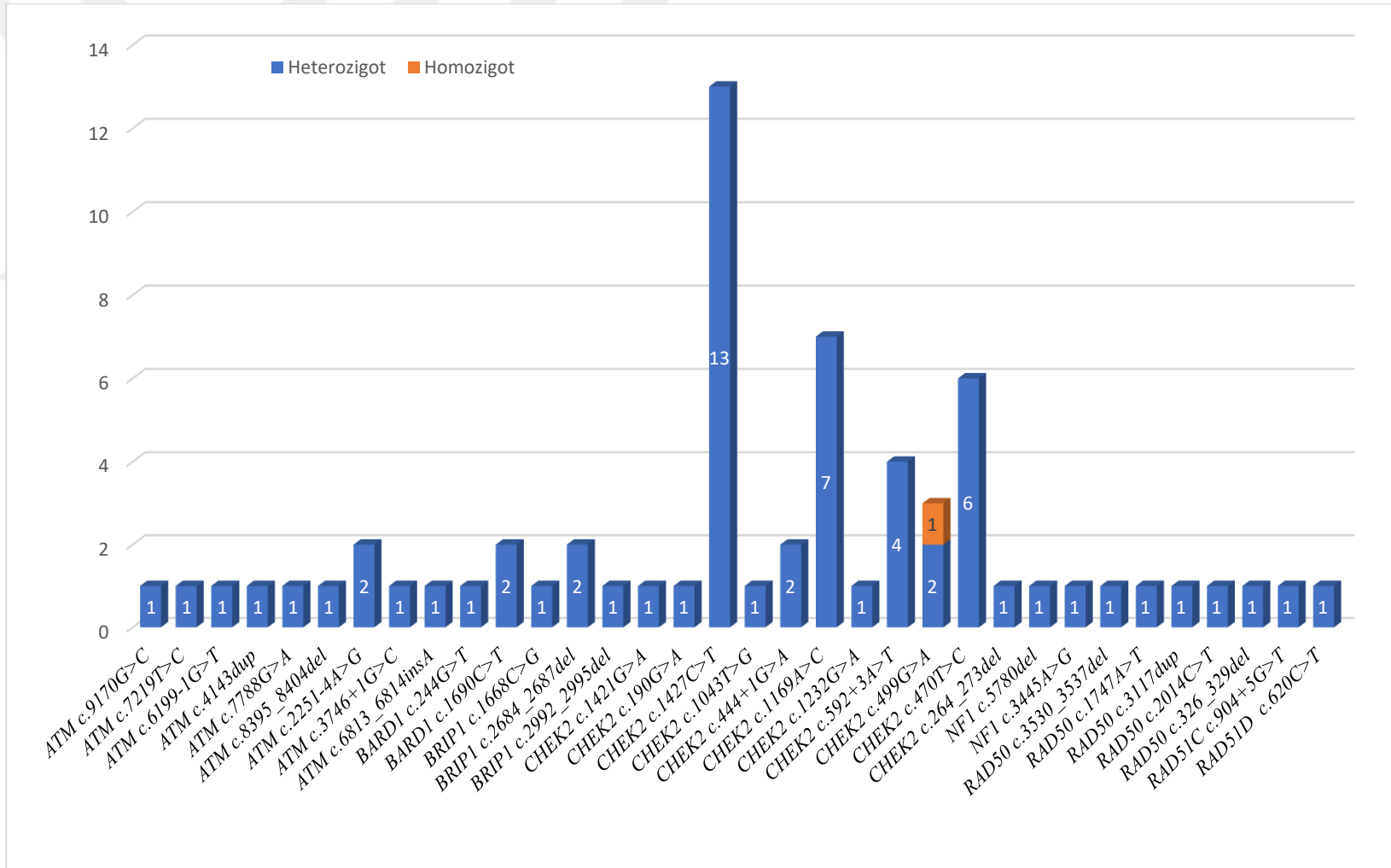
**Tablo 4.8.** Kanser fenotipleriyle ilişkilendirilmiş kılavuz dışı genlerde saptanan ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>CHEK2</i> NM_00719 4.4	11	c.1232G>A	p.(Trp411*)	rs371418985	%0.02	% 0.0008	-	P	P-LP	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal
<i>CHEK2</i> NM_00719 4.4	İntron	c.592+3A>T	p.(?)	rs587782849	%0.08	% 0.0032	% 0.0886	LP	P-LP	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal
<i>CHEK2</i> NM_00719 4.4	4	c.499G>A	p.(Gly167Arg)	rs72552322	%0.08	% 0.0024	% 0.0447	LP	P-LP	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal
<i>CHEK2</i> NM_00719 4.4	4	c.470T>C	p.(Ile157Thr)	rs17879961	%0.12	% 0.4918 (18 H)	% 0.1042	LP	P-LP-VU S	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal
<i>CHEK2</i> NM_00719 4.4	2	c.264_273del	p.(Thr89Profs*18)	-----	%0.02	-	-	LP	-	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/ko lorektal
<i>NF1</i> NM_00104 2492.3	39	c.5780del	p.(Leu1927Trpfs*15)	rs1135402880	%0.02	-	-	P	P	Nörofibromatozis tip1
<i>NF1</i> NM_00104 2492.3	26	c.3445A>G	p.(Met1149Val)	rs1187097568	%0.02	% 0.0004	-	P	P-LP-VU S	Nörofibromatozis tip1
<i>RAD50</i> NM_00573 2.4	23	c.3530_3537del	p.(Asp1177Alafs*4)	-----	%0.02	-	-	LP	-	Meme kanseri, yatkınlık
<i>RAD50</i> NM_00573 2.4	11	c.1747A>T	p.(Lys583*)	-----	%0.02	-	-	LP	P	Meme kanseri, yatkınlık

**Tablo 4.8.** Kanser fenotipleriyle ilişkilendirilmiş kılavuz dışı genlerde saptanan ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>RAD50</i> NM_00573 2.4	20	c.3117dup	p.(Gln1040Thrs*17)	-----	%0.02	-	-	LP	P	Meme kanseri, yatkınlık
<i>RAD50</i> NM_00573 2.4	13	c.2014C>T	p.(Gln672*)	rs1429473 11	%0.02	% 0.0004	-	LP	P	Meme kanseri, yatkınlık
<i>RAD50</i> NM_00573 2.4	3	c.326_329del	p.(Thr109Asnfs*20)	rs5877801 55	%0.02	% 0.0032	-	P	P-VUS	Meme kanseri, yatkınlık
<i>RAD51C</i> NM_05821 6.3	İntron	c.904+5G>T	p.(?)	rs5877827 02	%0.02	% 0.0016	-	LP	P-LP	Meme-yumurtalık kanseri, ailesel, yatkınlık, 3
<i>RAD51D</i> NM_00287 8.4	7	c.620C>T	p.(Ser207Leu)	rs3702280 71	%0.02	% 0.0028	-	LP	P-LP-VUS	Meme-yumurtalık kanseri, ailesel, yatkınlık, 4

AF:Allel Frekansı



Şekil 4.13. Kılavuz dışı incelenen genlere göre kanser fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı

#### 4.3.2. Kalıtsal Metabolik Hastalık Fenotipleri ile İlgili Kılavuz Dışı Genlerdeki Varyantlar

Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar açısından *PAH*, *CFTR*, *MC4R*, *SLC3A1* ve *SLC7A9* olmak üzere 5 gen değerlendirildi. 318 kişide 5 farklı gende 88 farklı varyant tespit edildi. Varyant çeşitliliği değerlendirildiğinde çoktan aza doğru sıralama 33 farklı varyant *PAH* (n:134 kişi), 31 farklı varyant *CFTR* (n:118 kişi), 11 farklı varyant *SLC3A1* (n:22 kişi), 9 farklı varyant *SLC7A9* (n:29 kişi) ve 4 farklı varyant *MC4R* (n:28 kişi) şeklindeydi. Ayrıca en sık saptanan gen 134 kişide tespit edilen *PAH* geniydi. Onu 118 kişide saptanan *CFTR* geni izledi. En sık saptanan varyant ise 38 kişide bulunan *CFTR* c.3154T>G (p.(Phe1052Val)) idi.

318 kişide saptanan varyantlar zigosite açısından değerlendirildiğinde 11 kişide (4 *SLC7A9*, 2 *SLC3A1*, 2 *CFTR*, 2 *PAH*, 1 *MC4R*) homozigot, 2 kişide (1 *PAH*, 1 *SLC3A1*) bileşik heterozigot durumdaydı. 3 kişi iki farklı *CFTR* varyantına birden sahipti ancak aynı veya farklı allelde olup olmadıkları bilinmiyordu.

Hastaların ön tanılarına göre sahip olduğu varyantlar kontrol edildiğinde *CFTR* varyantı taşıyan 4 kişi; *MC4R* varyantı taşıyan 6 kişi; *SLC7A9* varyantı taşıyan 5 kişi; *SLC3A1* varyantı taşıyan 3 kişi ve *PAH* varyantı taşıyan 3 kişinin fenotipik özellikleri sahip oldukları varyantlar ile örtüşüyordu ve bu varyantlar birincil bulgu olarak değerlendirildi, ikincil bulgular listesine dahil edilmedi. *CFTR* varyantı taşıyan 4 kişiden 3'ü heterozigot 1'i homozigottu. Heterozigot olan kişiler kronik pankreatit ön tanısına sahipken homozigot olan kişi ise daha öncesinde KF tanısı bilinen bir hastaydı. *MC4R* varyantına sahip hastalardan 4'ünde obezite vardı, 2 hasta ise monogenik diyabet ön tanısı ile başvurmuştu. *SLC7A9* (4 homozigot, 1 heterozigot) ve *SLC3A1* (2 homozigot, 1 bileşik heterozigot) genlerinde varyantı olan toplam 8 kişi sistinüri ön tanısına sahipti. *PAH* geninde biallelik varyantı olan 3 kişi ise yenidoğan tarama programında HFA/FKÜ saptanan hastalardı. Fenotip olarak en sık sistinüri genleri birincil bulgu olarak ön plana çıkarken gen bazında en sık *MC4R* geninde birincil bulgu saptandı.

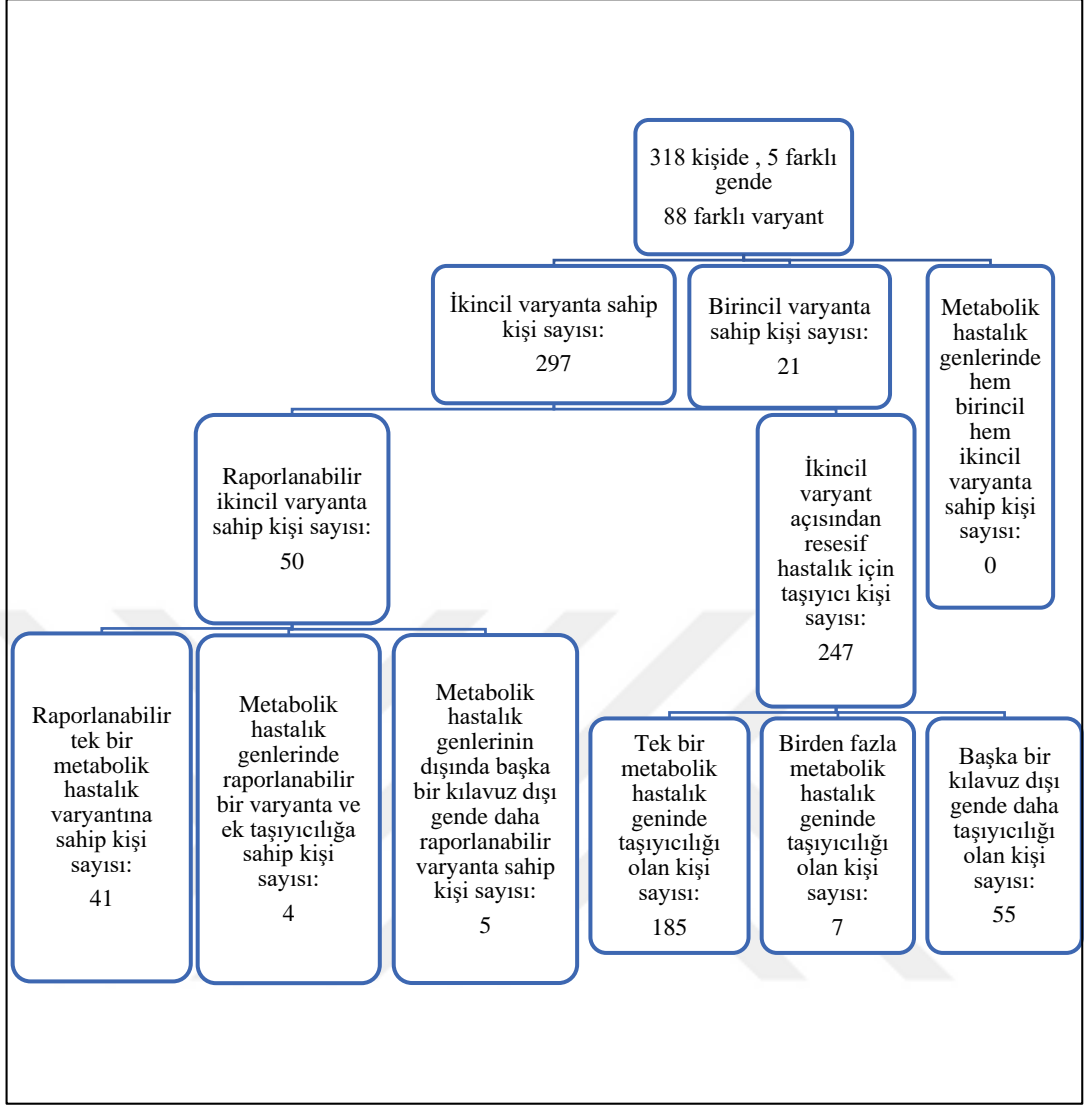
Tespit edilen 88 varyanttan 9 tanesi ClinVar' da bildirilmemiş varyantlardı. Bunların 3 tanesi ise ClinVar' a ek olarak dbSNP, GnomAD gibi veri tabanlarında daha önce

bildirilmemişti ve literatür taraması yapıldığında herhangi bir veriye rastlanmadığı için yeni varyant olarak kabul edildi. *SLC3A1* 'de iki, *CFTR* 'de bir yeni varyant vardı.

Birincil varyantlar ve OR kalıtımla hastalık yapan genlerdeki taşıyıcılık (heterozigot) durumunda olan varyantlar çıkarıldığında toplam 50 kişide ikincil bulgu olarak rapor edilebilir varyant tespit edildi. Bunlardan 9'u başka bir gende daha rapor edilebilir varyanta veya metabolik hastalık genlerinden birinde taşıyıcı varyanta sahipti. Raporlanabilir ikincil varyanta sahip hastaların tamamı (n:50 kişi) değerlendirildiğinde kılavuz dışı metabolik hastalık fenotipi yapan genlerdeki ikincil bulgu oranı %2 olarak saptandı.

Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar Tablo 4.9.'da sunulmuştur ve saptanan her varyant için zigosite ve proband sayısı Şekil 4.15.'te sunulmuştur.

Metabolik hastalık fenotipleriyle ilişkilendirilmiş kılavuz dışı genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan kişi sayıları Şekil 4.14.'de özetlenmiştir.



**Şekil 4.14.** Kılavuz dışı incelenen genlere göre metabolik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları

**Tablo 4.9.** Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>CFTR</i> NM_000492.4	3	c.199C>T	p.Pro67Ser	-	%0.02	-	-	LP	-	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	27	c.4312del	p.(Arg1438Glyfs*10)	-	%0.02	-	-	LP	LP	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	3	c.202A>T	p.(Lys68*)	-	%0.02	-	-	LP	-	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	17	c.2845C>T	p.(His949Tyr)	rs121909035	%0.02	% 0.0004	% 0.0354	LP	VUS	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	20	c.3230T>C	p.(Leu1077Pro)	rs139304906	%0.02	% 0.0004	-	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	İntron	c.165-3C>T	p.(?)	rs200337193	%0.02	% 0.0024	-	LP	P-LP-VUS	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	İntron	c.1393-1G>A	p.(?)	rs397508200	%0.02	% 0.0032	% 0.0177	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	15	c.2491G>T	p.(Glu831*)	rs397508387	%0.02	% 0.002	% 0.0446	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	İntron	c.2909-15T>G	p.(?)	rs397508455	%0.02	% 0.0004	% 0.0368	LP	P-LP-VUS	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	İntron	c.2909-1G>C	p.(?)	rs397508456	%0.02	% 0.0004	-	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	22	c.3476C>T	p.(Ser1159Phe)	rs397508573	%0.02	% 0.0004	% 0.0177	P	P-LP	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	22	c.3484C>T	p.(Arg1162*)	rs74767530	%0.02	% 0.0057	-	P	P	Kistik Fibrozis

**Tablo 4.9.** Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>CFTR</i> NM_000492.4	22	c.3700A>G	p.(Ile1234Val)	rs75389940	%0.02	% 0.0004	-	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	3	c.254G>A	p.(Gly85Glu)	rs75961395	%0.02	% 0.0039	-	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	4	c.350G>A	p.(Arg117His)	rs78655421	%0.02	% 0.1438 (1Homozi got)	% 0.0531	P	P-LP	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	20	c.3209G>A	p.(Arg1070Gln)	rs78769542	%0.02	% 0.4674 (3 Homozigot)	% 0.0177	P	P-LP-VUS	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	8	c.1000C>T	p.(Arg334Trp)	rs121909011	%0.04	% 0.0057	-	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	20	c.3229_3230 del	p.(Leu1077Valfs*78)	rs397508518	%0.04	-	-	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	6	c.581G>T	p.(Gly194Val)	rs397508763	%0.04	% 0.0004	-	LP	P-LP-VUS	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	İntron	c.2657+5G>A	p.(?)	rs80224560	%0.06	% 0.0071	% 0.0531	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	17	c.2856G>C	p.(Met952Ile)	rs151048781	%0.08	% 0.008	% 0.134	P	P-LP-VUS	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	21	c.3454G>C	p.(Asp1152His)	rs75541969	%0.08	% 0.0375	% 0.0894	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	4	c.328G>C	p.(Asp110His)	rs113993958	%0.12	% 0.002	% 0.0297	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	24	c.3909C>G	p.(Asn1303Lys)	rs80034486	%0.12	% 0.0139	% 0.0789	P	P	Kistik Fibrozis

**Tablo 4.9.** Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>CFTR</i> NM_000492.4	20	c.3205G>A	p.(Gly1069Arg)	rs200321110	%0.15	% 0.0266	% 0.0744	LP	P-LP-VUS	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	11	c.1521_1523 del	p.(Phe508del)	rs113993960	%0.09	%0.7172	% 0.2978	P	P	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	İntron	c.489+3A>G	p.(?)	rs377729736	%0.38	% 0.0228	% 0.2385 (1Homozi got)	LP	P-LP-VUS	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	20	c.3154T>G	p.(Phe1052Val)	rs150212784	%0.8	% 0.0628 (1 Homozigot)	% 0.8775	P	P-LP-VUS	Kistik Fibrozis
<i>CFTR</i> NM_000492.4	11	c.1545_1546 del	p.(Tyr515*)	rs121908776	%0.23	% 0.00043	% 0.0595	P	P	Kistik Fibrozis
<i>MC4R</i> NM_005912.3	1	c.493C>T	p.Arg165Trp	rs13447332	%0.02	% 0.002	-	LP	P-LP	Obezite
<i>MC4R</i> NM_005912.3	1	c.821A>G	p.Asn274Ser	rs121913561	%0.04	% 0.0008	-	LP	LP-VUS	Obezite
<i>MC4R</i> NM_005912.3	1	c.496G>A	p.Val166Ile	rs942758928	%0.25	% 0.0008	-	LP	P-VUS	Obezite
<i>MC4R</i> NM_005912.3	1	c.380C>T	p.Ser127Leu	rs13447331	%0.29	% 0.0163	-	LP	P-LP-VUS	Obezite
<i>PAH</i> NM_000277.3	7	c.839A>C	p.(Glu280Ala)	-	%0.02	-	-	LP	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
<i>PAH</i> NM_000277.3	İntron	c.353-1G>A	p.(?)	-	%0.02	-	-	LP	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri

**Tablo 4.9.** Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
PAH NM_000277 .3	İntron	c.1315+1G>A	p.(?)	rs5030861	%0.02	% 0.0396	-	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277 .3	5	c.473G>A	p.(Arg158Gln)	rs5030843	%0.02	% 0.0092	% 0.0531	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277 .3	3	c.212G>A	p.(Arg71His)	rs62508695	%0.02	-	-	LP	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277 .3	11	c.1184C>G	p.(Ala395Gly)	rs62508736	%0.02	% 0.0007	-	P	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277 .3	İntron	c.913-7A>G	p.(?)	rs62517165	%0.02	% 0.0012	-	LP	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277 .3	11	c.1159T>C	p.(Tyr387His)	rs62517194	%0.02	-	-	P	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277 .3	6	c.601C>T	p.(His201Tyr)	rs62517205	%0.02	% 0.0004	-	LP	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277 .3	12	c.1237C>T	p.(Arg413Cys)	rs62644467	%0.02	% 0.0028	% 0.0177	LP	LP-VUS	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277 .3	7	c.722G>A	p.(Arg241His)	rs62508730	%0.04	% 0.0152	% 0.0448	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri

**Tablo 4.9.** Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
PAH NM_000277.3	1	c.47_48del	p.(Ser16*)	rs62642906	%0.04	% 0.0004	-	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	12	c.1218A>G	p.(Ile406Met)	rs773526027	%0.04	% 0.0012	-	LP	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	2	c.165T>G	p.(Phe55Leu)	rs199475598	%0.06	% 0.0156	% 0.0531	P	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	12	c.1240T>C	p.(Tyr414His)	rs281865437	%0.06	% 0.0004	% 0.0446	LP	P-LP-VUS	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	2	c.143T>C	p.(Leu48Ser)	rs5030841	%0.06	% 0.012	% 0.1042	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	İntron	c.1199+1G>C	p.(?)	rs62509015	%0.06	% 0.0008	% 0.0355	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	12	c.1243G>A	p.(Asp415Asn)	rs62644499	%0.06	% 0.0099	% 0.0354	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	11	c.1089delG	p.Lys363Asnfs*37	rs5030654	%0.08	-	-	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	7	c.782G>A	p.(Arg261Gln)	rs5030849	%0.08	% 0.0216	% 0.1199	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri

**Tablo 4.9.** Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
PAH NM_000277.3	11	c.1169A>G	p.(Glu390Gly)	rs5030856	%0.1	% 0.0092	% 0.1416 (1 Homozigot)	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	6	c.665A>G	p.(Asp222Gly)	rs62507319	%0.08	-	-	LP	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	11	c.1139C>T	p.(Thr380Met)	rs62642937	%0.08	% 0.0417 (1 Homozigot)	% 0.3125 (1 Homozigot)	P	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	11	c.1187A>G	p.(Lys396Arg)	rs776178623	%0.08	% 0.0004	% 0.0531	LP	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	6	c.533A>G	p.(Glu178Gly)	rs77958223	%0.08	% 0.0085	% 0.0744	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	7	c.842C>T	p.(Pro281Leu)	rs5030851	%0.1	% 0.0103	% 0.093	P	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	6	c.529G>C	p.(Val177Leu)	rs199475602	%0.12	% 0.0021	-	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	İntron	c.1066-11G>A	p.(?)	rs5030855	%0.15	% 0.0248	% 0.2243	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	12	c.1208C>T	p.(Ala403Val)	rs5030857	%0.18	% 0.058	% 0.268	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
PAH NM_000277.3	8	c.898G>T	p.(Ala300Ser)	rs5030853	%0.23	% 0.0538	% 0.461 (1 Homozigot)	P	P	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri

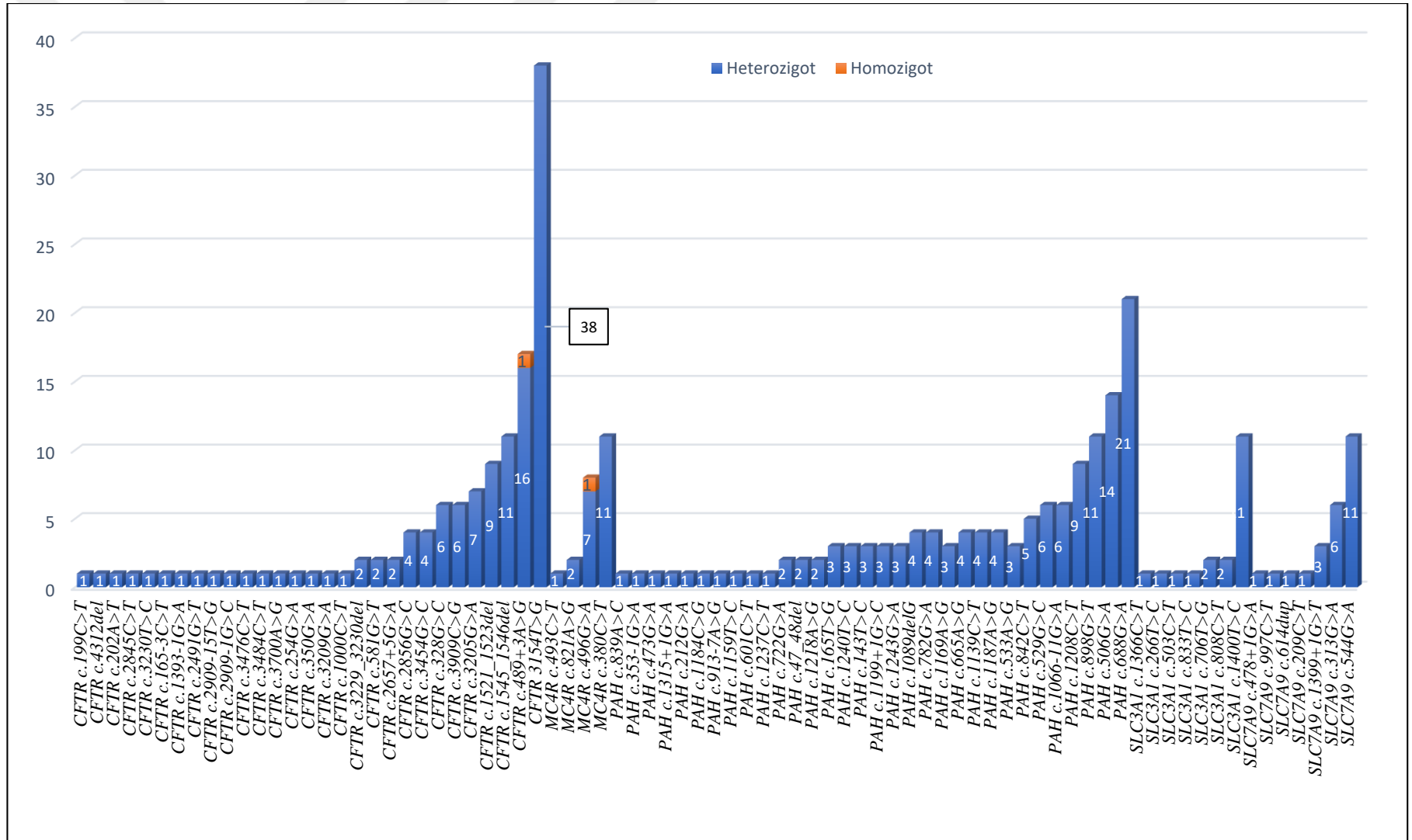
**Tablo 4.9.** Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>PAH</i> NM_000277.3	5	c.506G>A	p.(Arg169His)	rs199475679	%0.29	% 0.5895	% 0.1341	P	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
<i>PAH</i> NM_000277.3	6	c.688G>A	p.(Val230Ile)	rs62516152	%0.44	% 0.0499	% 0.4315 (2 Homozigot)	LP	P-LP	Hiperfenilalanine mi, PKU olmayan hafif; Fenilketonüri
<i>SLC3A1</i> NM_000341.4	8	c.1366C>T	p.(Arg456Cys)	rs139251285	%0.02	% 0.0024	% 0.0177	LP	-	Sistinüri
<i>SLC3A1</i> NM_000341.4	1	c.266T>C	p.(Leu89Pro)	rs1453871309	%0.02	% 0.004	-	LP	LP	Sistinüri
<i>SLC3A1</i> NM_000341.4	2	c.503C>T	p.(Ser168Leu)	rs200001778	%0.02	% 0.0032	-	LP	-	Sistinüri
<i>SLC3A1</i> NM_000341.4	4	c.833T>C	p.(Phe278Ser)	rs762218116	%0.02	% 0.0004	% 0.0531	LP	-	Sistinüri
<i>SLC3A1</i> NM_000341.4	3	c.706T>G	p.(Tyr236Asp)	-	%0.04	-	-	LP	-	Sistinüri
<i>SLC3A1</i> NM_000341.4	4	c.808C>T	p.(Arg270*)	rs200483989	%0.04	% 0.0357	% 0.0708 (1 Homozigot)	P	P-LP	Sistinüri
<i>SLC3A1</i> NM_000341.4	8	c.1400T>C	p.(Met467Thr)	rs121912691	%0.23	% 0.2414 (4 Homozigot)	% 0.119	P	P-LP	Sistinüri
<i>SLC7A9</i> NM_014270.5	İntron	c.478+1G>A	p.(?)	rs1163022861	%0.02	% 0.0032	-	LP	-	Sistinüri
<i>SLC7A9</i> NM_014270.5	10	c.997C>T	p.(Arg333Trp)	rs121908484	%0.02	% 0.0085	-	P	P-LP	Sistinüri

**Tablo 4.9.** Kalıtsal metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen Transkript	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	Clin Var	Fenotip
<i>SLC7A9</i> NM_014270.5	3	c.209C>T	p.(Ala70Val)	rs769448665	%0.02	% 0.002	% 0.0647	LP	LP	Sistinüri
<i>SLC7A9</i> NM_014270.5	İntron	c.1399+1G>T	p.(?)	rs1355387159	%0.08	-	-	LP	-	Sistinüri
<i>SLC7A9</i> NM_014270.5	4	c.313G>A	p.(Gly105Arg)	rs121908480	%0.2	% 0.0266 (1 Homozigot)	% 0.0745	P	P-LP	Sistinüri
<i>SLC7A9</i> NM_014270.5	5	c.544G>A	p.(Ala182Thr)	rs79389353	%0.23	% 0.2571 (2 Homozigot)	% 0.2533 (1 Homozigot)	LP	P-LP-VUS	Sistinüri

AF: Allel Frekansı



Şekil 4.15. Kılavuz dışı incelenen genlere göre metabolik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı

### 4.3.3. Hematolojik Hastalık Fenotipleri ile İlgili Kılavuz Dışı Genlerdeki Varyantlar

Hematolojik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar açısından *F5*, *G6PD*, *HBB* ve *VWF* olmak üzere 4 gen değerlendirildi. 130 kişide 4 farklı gende 32 farklı varyant tespit edildi. Varyant çeşitliliği değerlendirildiğinde çoktan aza doğru sıralama 11 farklı varyant *HBB* (n:20 kişi), 9 farklı varyant *VWF* (n:26 kişi), 6'şar farklı varyant *F5* (n:48 kişi) ve *G6PD* (n:38 kişi) şeklindeydi. Ayrıca en sık saptanan gen 48 kişide tespit edilen *F5* geniydi. Onu 38 kişide saptanan *G6PD* geni izledi. En sık saptanan varyant ise 35 kişide bulunan *F5* c.1601G>A (p.Arg534Gln)) idi.

130 kişide saptanan varyantlar zigosite açısından değerlendirildiğinde 7 kişide (4 *F5*, 2 *HBB*, 1 *G6PD*) homozigot 8 kişide (*G6PD*) hemizigot durumdaydı.

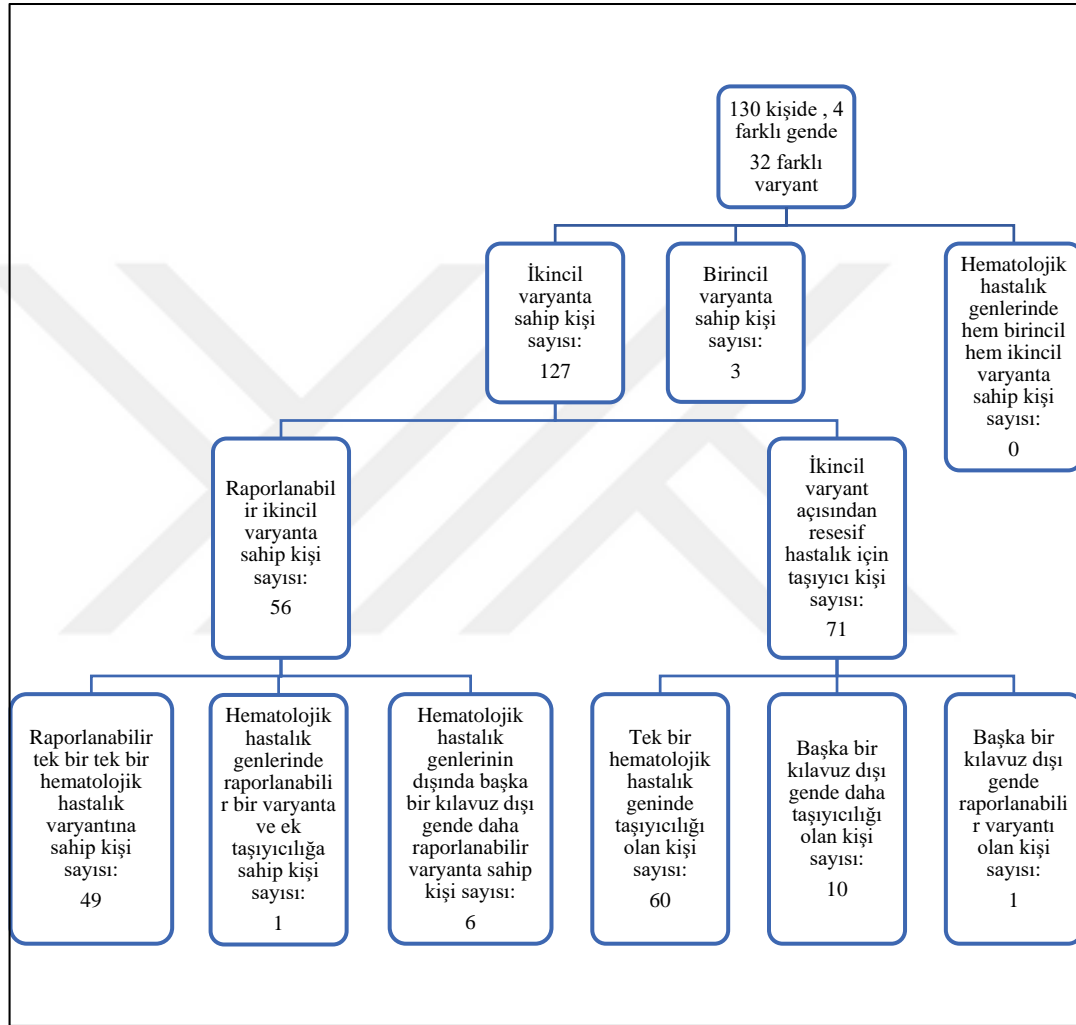
Hastaların ön tanılarına göre sahip olduğu varyantlar kontrol edildiğinde *G6PD* varyantı taşıyan 1 kişi; *VWF* varyantı taşıyan 1 kişi ve *HBB* varyantı taşıyan 1 kişinin fenotipik özellikleri sahip oldukları varyantlar ile örtüşüyordu ve bu varyantlar birincil bulgu olarak değerlendirildi ve ikincil bulgular listesine dahil edilmedi. *G6PD* heterozigot varyantı taşıyan kişinin anemisi mevcuttu ve doğrudan Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (*G6PD*) enzim eksikliği ön tanısı ile başvurduğu görüldü. *VWF* heterozigot varyantı taşıyan kişinin pıhtılaşma bozukluğu öyküsü vardı. *HBB* varyantı homozigottu ve kişinin  $\beta$ -tal hastalığı önceden biliniyordu, tarafımıza ek olarak var olan farklı bir endikasyonla başvurmuştu.

Tespit edilen 32 varyanttan 6 tanesi ClinVar' da bildirilmemiş varyantlardı. Bunların 4 tanesi ise ClinVar' a ek olarak dbSNP, GnomAD gibi veri tabanlarında daha önce bildirilmemişti ve literatür taraması yapıldığında herhangi bir veriye rastlanmadığı için yeni varyant olarak kabul edildi. *F5* ve *VWF*' de ikişer yeni varyant vardı.

Birincil varyantlar ve OR kalıtımla hastalık yapan genlerdeki taşıyıcılık (heterozigot) durumunda olan varyantlar çıkarıldığında toplam 56 kişide ikincil bulgu olarak rapor edilebilir varyant tespit edildi. 7 hasta birden fazla varyanta sahipti. Kılavuz dışı hematolojik hastalık fenotipi yapan genlerdeki ikincil bulgu oranı %2,3 olarak saptandı.

Hematolojik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar Tablo 4.10.'da sunulmuştur ve saptanan her varyant için zigosite ve proband sayısı Şekil 4.17.'de sunulmuştur.

Hematolojik hastalık fenotipleriyle ilişkilendirilmiş kılavuz dışı genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan kişi sayıları Şekil 4.16.'da özetlenmiştir.



**Şekil 4.16.** Kılavuz dışı incelenen genlere göre hematolojik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları

**Tablo 4.10.** Hematolojik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar

Gen	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	ClinVar	Fenotip
<i>F5</i> NM_000130.5	23	c.6304C>T	p.(Arg2102Cys)	rs118203910	%0.02	% 0.0008	-	LP	LP	F5 eksikliği, Trombofili
<i>F5</i> NM_000130.5	15	c.5093del	p.(Asn1698Metfs*37)	-	%0.02	-	-	LP	-	F5 eksikliği, Trombofili
<i>F5</i> NM_000130.5	22	c.6163C>T	p.(Arg2055*)	rs199690772	%0.02	% 0.0012	-	LP	-	F5 eksikliği, Trombofili
<i>F5</i> NM_000130.5	12	c.1819_1820del	p.Thr607Cysfs*7	-	%0.04	-	-	LP	-	F5 eksikliği, Trombofili
<i>F5</i> NM_000130.5	7	c.1001G>C	p.(Arg334Thr)	rs118203906	%0.18	% 0.0227 (1 Homozigot)	-	LP	P	F5 eksikliği, Trombofili
<i>F5</i> NM_000130.5	10	c.1601G>A	p.Arg534Gln	rs6025	%0.8	% 2.1432 (450 Homozigot)	-	P	P	F5 eksikliği, Trombofili
<i>G6PD</i> NM_001360016.2	4	c.202G>A	p.Val68Met	rs1050828	%0.02	% 1.1535 (731 Homozigot)	-	P	P-LP	G6PD eksikliği, Konjenital nonsferositik anemi
<i>G6PD</i> NM_001360016.2	11	c.1360C>T	p.Arg454Cys	rs398123546	%0.02	% 0.0142 (5 Homozigot)	% 0.0211	P	P-LP	G6PD eksikliği, Konjenital nonsferositik anemi
<i>G6PD</i> NM_001360016.2	9	c.949G>A	p.Glu317Lys	rs137852339	%0.04	% 0.1111 (137 Homozigot)	-	P	P-LP	G6PD eksikliği, Konjenital nonsferositik anemi
<i>G6PD</i> NM_001360016.2	12	c.1376G>C	p.Arg459Pro	rs72554665	%0.04	% 0.0011	% 0.0189	P	P	G6PD eksikliği, Konjenital nonsferositik anemi

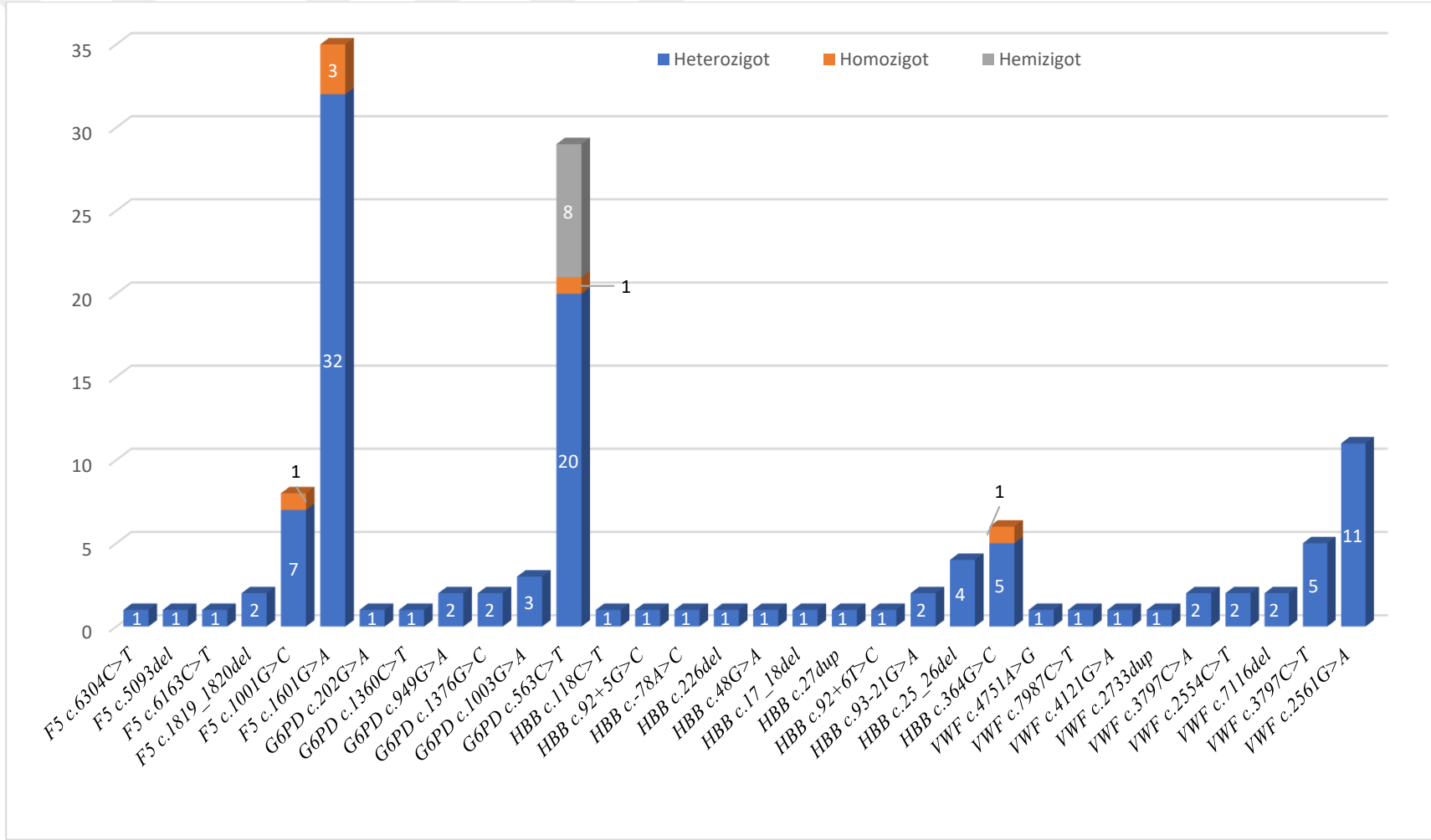
**Tablo 4.10.** Hematolojik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	ClinVar	Fenotip
<i>G6PD</i> NM_001360016.2	9	c.1003G>A	p.Ala335Thr	rs5030869	%0.06	% 0.0192 (23 Homozigot)	% 0.0364	P	P	G6PD eksikliği, Konjenital nonsferositik anemi
<i>G6PD</i> NM_001360016.2	6	c.563C>T	p.Ser188Phe	rs5030868	%0.62	% 0.2301 (262 Homozigot)	% 0.8582 (18 Homozigot)	P	P-LP	G6PD eksikliği, Konjenital nonsferositik anemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	2	c.118C>T	p.(Gln40*)	rs11549407	%0.02	% 0.0308	% 0.0178	P	P	Beta Talasemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	İntron	c.92+5G>C	p.(?)	rs33915217	%0.02	% 0.0534	% 0.0178	P	P	Beta Talasemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	5' UTR	c.-78A>C	p.(?)	rs33931746	%0.02	-	-	P	P	Beta Talasemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	2	c.226del	p.(Leu76Trpfs*14)	rs34218908	%0.02	-	-	LP	LP	Beta Talasemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	3	c.48G>A	p.(Trp16*)	rs34716011	%0.02	-	-	P	P	Beta Talasemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	1	c.17_18del	p.(Pro6Argfs*17)	rs34889882	%0.04	% 0.0044	% 0.0178	P	P	Beta Talasemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	1	c.27dup	p.(Ser10Valfs*14)	rs35699606	%0.02	% 0.0251	% 0.0647	P	P	Beta Talasemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	İntron	c.92+6T>C	p.(?)	rs35724775	%0.02	% 0.011	% 0.1294	P	P-LP	Beta Talasemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	İntron	c.93-21G>A	p.(?)	rs35004220	%0.04	% 0.0149	% 0.1941	P	P-LP	Beta Talasemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	1	c.25_26del	p.(Lys9Valfs*14)	rs35497102	%0.08	% 0.0008	% 0.0178	P	P	Beta Talasemi
<i>HBB</i> NM_000518.5	3	c.364G>C	p.(Glu122Gln)	rs33946267	%0.15	% 0.064 (4 Homozigot)	% 0.0297	P	P-LP	Beta Talasemi
<i>VWF</i> NM_000552.5	28	c.4751A>G	p.(Tyr1584Cys)	rs1800386	%0.02	% 0.263 (4 Homozigot)	% 0.1803	LP, AZALMIŞ PENETRANS	P-LP- VUS	Von Willebrand hastalığı (AD)

**Tablo 4.10.** Hematolojik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	ClinVar	Fenotip
VWF NM_000552.5	49	c.7987C>T	p.(Arg2663Cys)	rs370662678	%0.02	% 0.0039	-	LP	P-LP	Von Willebrand hastalığı (AD)
VWF NM_000552.5	28	c.4121G>A	p.(Arg1374His)	rs61750072	%0.02	-	-	P	P	Von Willebrand hastalığı (AD)
VWF NM_000552.5	21	c.2733dup	p.(Lys912*)	-	%0.02	-	-	LP	-	Von Willebrand hastalığı (AD)
VWF NM_000552.5	28	c.3797C>A	p.(Pro1266Gln)	rs61749370	%0.04	% 0.027 (2 Homozigot)	% 0.1627	LP	P-LP-VUS	Von Willebrand hastalığı (AD)
VWF NM_000552.5	20	c.2554C>T	p.(Gln852*)	rs772534075	%0.04	% 0.0004	-	LP	-	Von Willebrand hastalığı (AD)
VWF NM_000552.5	42	c.7116del	p.(Ser2374Profs*30)	-	%0.04	-	-	LP	-	Von Willebrand hastalığı (AD)
VWF NM_000552.5	28	c.3797C>T	p.(Pro1266Leu)	rs61749370	%0.1	% 0.0832 (1 Homozigot)	% 0.1203	LP	P-LP-VUS	Von Willebrand hastalığı (AD)
VWF NM_000552.5	20	c.2561G>A	p.(Arg854Gln)	rs41276738	%0.23	% 0.3465 (5 Homozigot)	% 0.2085 (1 Homozigot)	P	P	Von Willebrand hastalığı tip 2N (AR)

AF: Allel Frekansı



**Şekil 4.17.** Kılavuz dışı incelenen genlere göre hematolojik hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı

#### 4.3.4. Diğer fenotipler ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar

Diğer hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar açısından *DMD*, *MEFV*, *GJB2*, *PKD1* ve *PKD2* olmak üzere 5 gen değerlendirildi. 307 kişide 5 farklı gende 28 farklı varyant tespit edildi. Varyant çeşitliliği değerlendirildiğinde çoktan aza doğru sıralama 13 farklı varyant *GJB2* (n:67 kişi), 7 farklı varyant *MEFV* (n:234 kişi), 3'er farklı varyant *DMD* (n:5 kişi) ve *PKD1* (n:6 kişi) ve 2 farklı varyant *PKD2* (n:2 kişi) şeklindeydi. Ayrıca en sık saptanan gen 234 kişide tespit edilen *MEFV* geniydi. Onu 67 kişide saptanan *GJB2* geni izledi. En sık saptanan varyant ise 83 kişide bulunan *MEFV* c.2080A>G (p.(Met694Val)) idi.

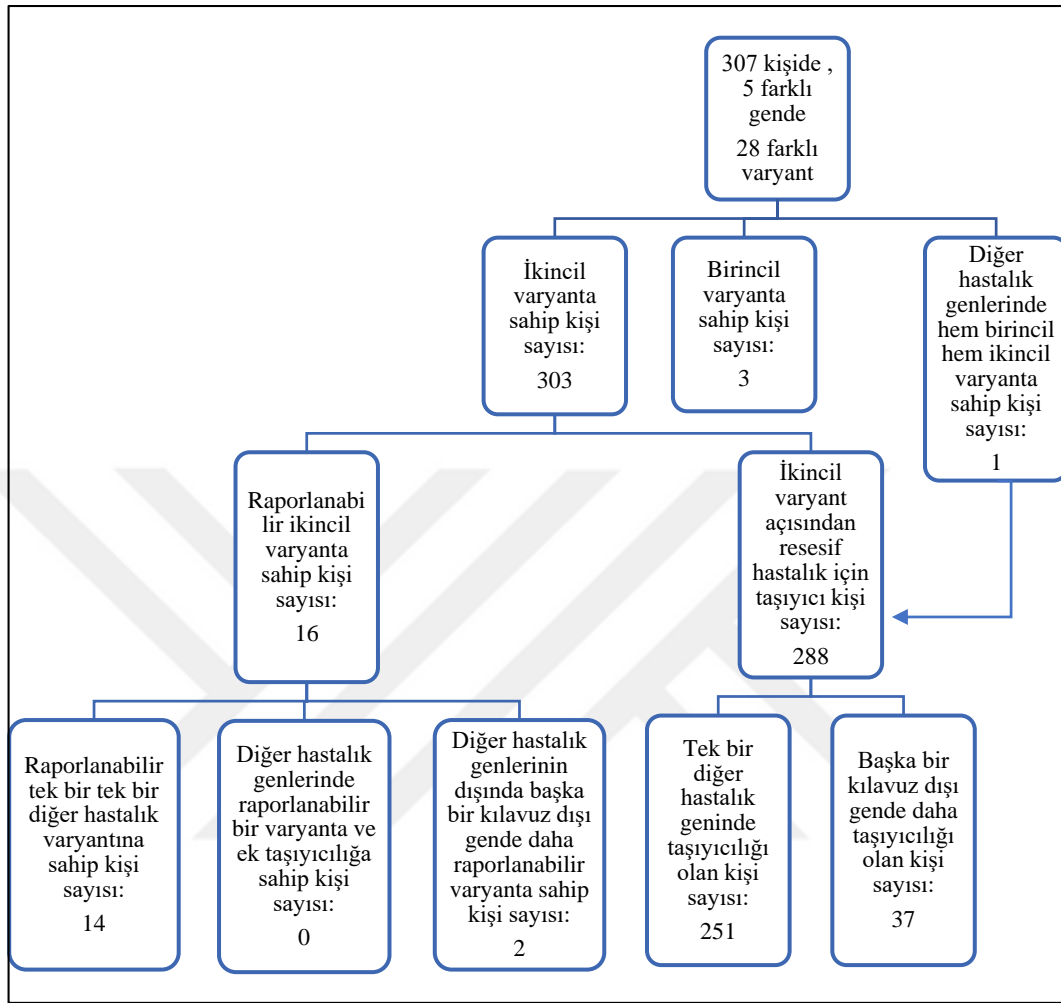
307 kişide saptanan varyantlar zigosite açısından değerlendirildiğinde 8 kişide (6 *MEFV*, 1 *DMD*, 1 *GJB2*) homozigot, 1 kişide (*DMD*) hemizigot durumdaydı. Ayrıca 3 hasta aynı anda iki farklı patojenik/olası patojenik *MEFV* varyantına sahipti.

Hastaların ön tanılarına göre sahip olduğu varyantlar kontrol edildiğinde *MEFV* c.2080A>G (p.Met694Val) homozigot varyantına sahip 2 kişi, *DMD* c.7959\_7969del varyantı taşıyan bir kişi ve *PKD1* c.9829C>T varyantı taşıyan bir kişinin fenotipik özellikleri sahip oldukları varyantlar ile örtüşüyordu ve bu varyantlar birincil bulgu olarak değerlendirildi. *DMD* hemizigot varyantı taşıyan erkek çocuk hastanın hipotonik infant ve kas güçsüzlüğü ön tanısıyla, heterozigot *PKD1* varyantı taşıyan kişinin ise böbrek yetmezliği ön tanısı ile başvurduğu görüldü. *MEFV* varyantı olan bireyler ise karın ağrısı, ateş ve artrit atağı geçiren FMF tanısı bilinen kişilerdi.

Tespit edilen 28 varyanttan *DMD* c.7959\_7969del (p.(Asp2654Lysfs\*18)) varyantı ClinVar, dbSNP, GnomAD gibi veri tabanlarında daha önce bildirilmemişti ve literatür taraması yapıldığında herhangi bir veriye rastlanmadığı için yeni varyant olarak kabul edildi.

Birincil varyantlar ve OR kalıtımla hastalık yapan genlerdeki taşıyıcılık (heterozigot) durumunda olan varyantlar çıkarıldığında toplam 16 kişide ikincil bulgu olarak rapor edilebilir varyant tespit edildi. 2 kişi başka bir rapor edilebilir varyanta daha sahipti. Kılavuz dışı diğer hastalık fenotipi yapan genlerdeki ikincil bulgu oranı %0,67 olarak saptandı. Diğer hastalık fenotiplerindeki genlerde taşıyıcılığı olan kişi sayısı 288'di (%12).

Diğer hastalık fenotipleriyle ilişkilendirilmiş kılavuz dışı genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan kişi sayıları Şekil 4.18.'de özetlenmiştir.



**Şekil 4.18.** Kılavuz dışı incelenen genlere göre diğer hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki birincil ve ikincil bulgu saptanan toplam kişi sayıları

Diğer hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar Tablo 4.11.'de sunulmuştur ve saptanan her varyant için zigosite ve proband sayısı Şekil 4.19.'da sunulmuştur.

**Tablo 4.11.** Diğer hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar

Gen	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	ClınVar	Fenotip
<i>DMD</i> NM_004006.3	41	c.5881_5882del	p.(Ser1961Glnfs*18)	rs886044193	%0.02	-	-	LP	P	Musküler Distrofi, Duchenne -Becker; Dilate Kardiyomyopati ,3B
<i>DMD</i> NM_004006.3	İntron	c.960+1G>T	p.(?)	rs199783662	%0.08	% 0.0006	% 0.0177	LP	LP	Musküler Distrofi, Duchenne -Becker; Dilate Kardiyomyopati ,3B
<i>MEFV</i> NM_000243.3	10	c.1958G>A	p.(Arg653His)	rs104895085	%0.02	% 0.0035	% 0.0354	LP	P- LP	Ailevi Akdeniz Ateşi
<i>MEFV</i> NM_000243.3	10	c.2082G>A	p.(Met694Ile)	rs28940578	%0.12	% 0.0127	% 0.1062	P	P- LP	Ailevi Akdeniz Ateşi
<i>MEFV</i> NM_000243.3	10	c.2282G>A	p.(Arg761His)	rs104895097	%0.23	% 0.0205	% 0.3572	P	P- LP	Ailevi Akdeniz Ateşi
<i>MEFV</i> NM_000243.3	10	c.2230G>T	p.(Ala744Ser)	rs61732874	%0.54	% 0.1764 (2 Homozigot)	% 0.5504 (2 Homozigot)	LP	P- LP- VU S	Ailevi Akdeniz Ateşi
<i>MEFV</i> NM_000243.3	10	c.2040G>C	p.(Met680Ile)	rs28940580	%0.86	% 0.0103	% 0.6692	P	P	Ailevi Akdeniz Ateşi
<i>MEFV</i> NM_000243.3	10	c.2177T>C	p.(Val726Ala)	rs28940579	%1.44	% 0.1983 (9 Homozigot)	% 1.4723 (2 Homozigot)	P	P- LP	Ailevi Akdeniz Ateşi
<i>MEFV</i> NM_000243.3	10	c.2080A>G	p.(Met694Val)	rs61752717	%1.82	% 0.0272 (1 Homozigot)	% 1.8006 (1Homozigot)	P	P- LP	Ailevi Akdeniz Ateşi

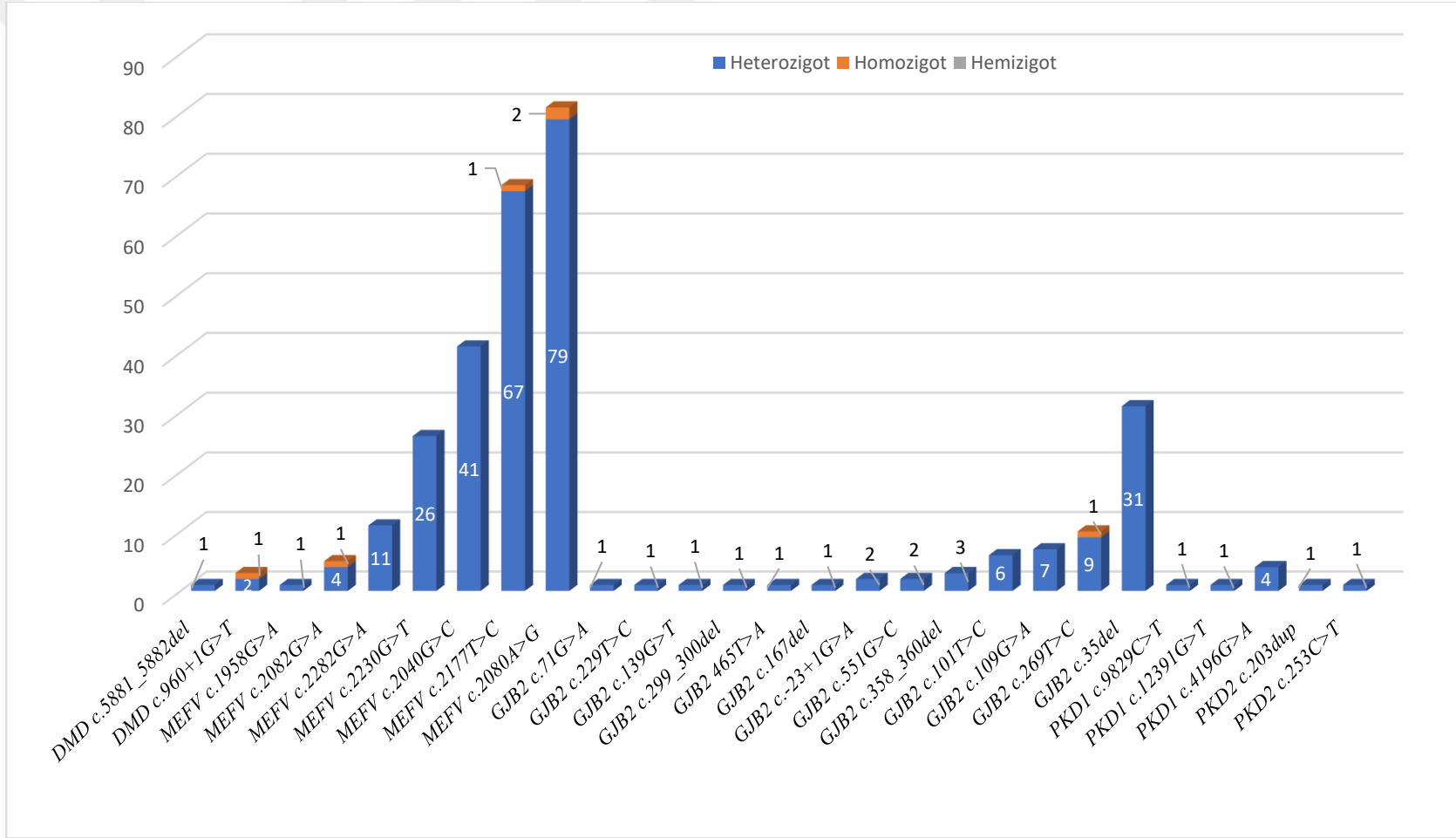
**Tablo 4.11.** Diğer hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	ClinVar	Fenotip
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.71G>A	p.(Trp24*)	rs104894396	%0.02	% 0.0522 (1 Homozigot)	% 0.0177	P	P	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.229T>C	p.(Trp77Arg)	rs104894397	%0.02	% 0.004	-	P	P	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.139G>T	p.(Glu47*)	rs104894398	%0.02	% 0.0124	-	P	P	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.299_300del	p.(His100Argfs*14)	rs111033204	%0.02	% 0.0064	-	P	P	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	465T>A	p.(Tyr155*)	rs772264564	%0.02	% 0.0004	% 0.0177	LP	P	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.167del	p.(Leu56Argfs*26)	rs80338942	%0.02	% 0.0804 (3 Homozigot)	% 0.0355	P	P	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	5'UTR	c.-23+1G>A	p.(?)	rs80338940	%0.04	% 0.0192	% 0.3234	P	P-LP	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.551G>C	p.(Arg184Pro)	rs80338950	%0.04	% 0.006	% 0.0177	P	P-VUS	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.358_360del	p.(Glu120del)	rs80338947	%0.06	% 0.0071	% 0.0894	P	P	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.101T>C	p.(Met34Thr)	rs35887622	%0.12	% 0.8996 (28 Homozigot)	% 0.1935	P	P-LP	İşitme Kaybı

**Tablo 4.11.** Diğer hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki ikincil varyantlar (devamı)

Gen	Ekzon	cDNA	Protein	Rs numarası	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	Patojenite	ClınVar	Fenotip
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.109G>A	p.(Val37Ile)	rs72474224	%0.15	% 0.7556 (99 Homozigot)	% 0.0894	P	P-LP	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.269T>C	p.(Leu90Pro)	rs80338945	%0.23	% 0.063	% 0.2234	P	P	İşitme Kaybı
<i>GJB2</i> NM_004004.6	2	c.35del	p.(Gly12Valfs*2)	rs80338939	%0.65	% 0.6188 (10 Homozigot)	% 0.9088 (1 Homozigot)	P	P	İşitme Kaybı
<i>PKD1</i> NM_001009944.3	29	c.9829C>T	p.(Arg3277Cys)	rs148812376	%0.02	% 0.0214	-	P	P-LP	Polikistik böbrek hastalığı 1, OD
<i>PKD1</i> NM_001009944.3	45	c.12391G>T	p.(Glu4131*)	rs764447736	%0.02	% 0.0032	-	P	P	Polikistik böbrek hastalığı 1, OD
<i>PKD1</i> NM_001009944.3	15	c.4196G>A	p.(Trp1399*)	-	%0.08	-	-	LP	LP	Polikistik böbrek hastalığı 1, OD
<i>PKD2</i> NM_000297.4	1	c.203dup	p.(Ala69Glyfs*23)	rs1187336837	%0.02	-	-	P	P	Polikistik böbrek hastalığı 2, OD
<i>PKD2</i> NM_000297.4	1	c.253C>T	p.(Gln85*)	-	%0.02	-	-	LP	P	Polikistik böbrek hastalığı 2, OD

AF: Allel Frekansı



**Şekil 4.19.** Kılavuz dışı incelenen genlere göre diğer hastalık fenotipleriyle ilgili genlerdeki ikincil varyantların zigositesi ve tespit edilen proband sayısı

#### 4.3.5.Kılavuz Dışı Genlerdeki Yeni Varyantlar

Çalışmada kılavuz dışı 23 genin 10'unda saptanan 21 farklı varyant daha önce ClinVar'da bildirilmemiştir ancak burada bildirilmeyen bazı varyantların farklı veri tabanlarında veya literatürde bildirildiği görülmüştür. Bunlardan daha önce herhangi bir veri tabanında, hasta bireylerde veya literatürde bildirilmemiş olan 9 gendeki 13 varyant yeni varyant olarak değerlendirilmiştir. En sık ikişer varyantla *F5*, *VWF*, *SLC3A1* ve *ATM* geninde yeni varyantlar tespit edilmiştir. Bunu birer varyantla *DMD*, *CFTR*, *CHEK2*, *RAD50* ve *BRIP1* genleri takip etmektedir. Yeni varyantlar Tablo 4.12. 'de gösterilmiştir.



**Tablo 4.12.** Kılavuz Dışı Genlerdeki Yeni Varyantlar

Gen	Ekzon	cDNA	Protein	Zigosite	Patojenite	Proband sayısı (n)	Çalışmadaki AF	GnomAD MAF	Turkish Variome AF	ClinVar	Fenotip
<i>ATM</i> NM_000051.4	İntron	c.3746+1G>C	p.(?)	Heterozigot	LP	1	%0.02	-	-	-	Meme kanseri, yatkınlık
<i>ATM</i> NM_000051.4	47	c.6813_6814insA	p.(Glu2272Argfs*8)	Heterozigot	P	2	%0.04	-	-	-	Meme kanseri, yatkınlık
<i>BRIP1</i> NM_032043.3	12	c.1668C>G	p.(Tyr556*)	Heterozigot	LP	1	%0.02	-	-	-	Erken başlangıçlı meme kanseri, yatkınlık
<i>CFTR</i> NM_000492.4	3	c.202A>T	p.(Lys68*)	Heterozigot	LP	1	%0.02	-	-	-	Kistik Fibrozis
<i>CHEK2</i> NM_007194.4	2	c.264_273del	p.(Thr89Profs*18)	Heterozigot	LP	1	%0.02	-	-	-	Tümör yatkınlığı sendromu 4, meme/prostat/kolorektal
<i>DMD</i> NM_004006.3	54	c.7959_7969del	p.(Asp2654Lysfs*18)	Hemizigot	LP	1	%0.02	-	-	-	Musküler Distrofi, Duchenne -Becker; Dilate Kardiyomyopati 3B
<i>F5</i> NM_000130.5	15	c.5093del	p.(Asn1698Metfs*37)	Heterozigot	LP	1	%0.02	-	-	-	F5 eksikliği, Trombofili
<i>F5</i> NM_000130.5	12	c.1819_1820del	p.(Thr607Cysfs*7)	Heterozigot	LP	2	%0.04	-	-	-	F5 eksikliği, Trombofili
<i>RAD50</i> NM_005732.4	23	c.3530_3537del	p.(Asp1177Alafs*4)	Heterozigot	LP	1	%0.02	-	-	-	Meme kanseri, yatkınlık
<i>SLC3A1</i> NM_000341.4	10	c.1973dupG	p.(Gln659Profs*7)	Homozigot	LP	1	%0.04	-	-	-	Sistinüri
<i>SLC3A1</i> NM_000341.4	3	c.706T>G	p.(Tyr236Asp)	Heterozigot	LP	2	%0.04	-	-	-	Sistinüri
<i>VWF</i> NM_000552.5	21	c.2733dup	p.(Lys912*)	Heterozigot	LP	1	%0.02	-	-	-	von Willebrand hastalığı
<i>VWF</i> NM_000552.5	42	c.7116del	p.(Ser2374Profs*30)	Heterozigot	LP	2	%0.04	-	-	-	von Willebrand hastalığı

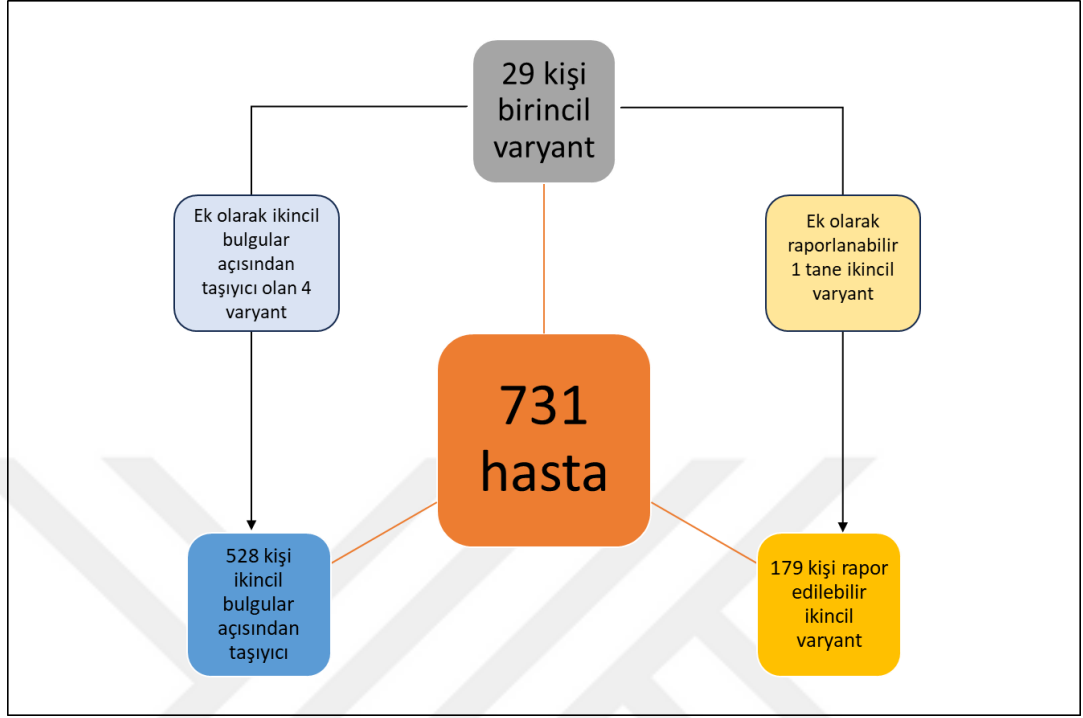
AF: Allel Frekansı

#### 4.3.6.Kılavuz Dışı Genlerdeki İkincil Bulguların Yaygınlığı

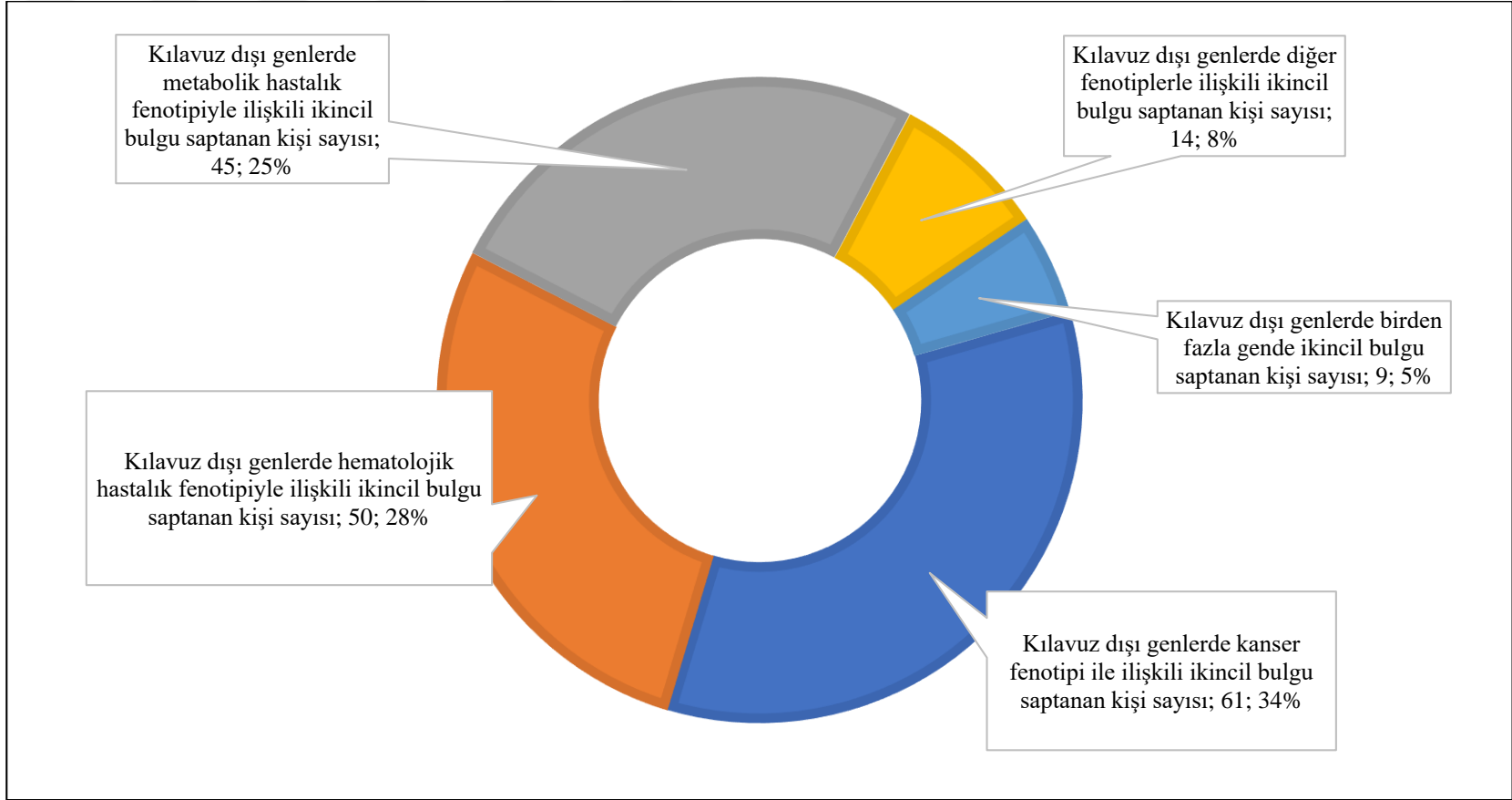
Kılavuz dışı önerilen genlerde varyant saptanan toplam 731 kişi vardı. 731 kişiden 29'u birincil varyanta sahipti ve birincil varyantlar hesaplama dahil edilmedi. Birincil varyantı olan 29 kişinin 5 'inde ise kılavuz dışı başka bir gende raporlanabilir veya taşıyıcı durumda eşlik eden ikincil bulgu vardı. 531 kişi ise raporlanabilir herhangi bir varyantı olmadan sadece biallelik durumunda raporlanması önerilen genlerde taşıyıcılığa sahipti ve bu ikincil bulgu oranı hesaplamasının dışında tutuldu.

Hastalarda kılavuz dışı genlere göre raporlanabilir varyantlara bakıldığında kanser fenotipi açısından 61 kişi; hematolojik hastalık fenotipi açısından 50 kişi; metabolik hastalık fenotipi açısından 45 kişi; diğer fenotiplerle ilgili olarak 14 kişi olduğu görüldü. 4 kişide kılavuz dışı genlerde raporlanabilir olan 2 varyant, 1 kişide ise 3 varyant vardı. Toplamda 179 kişide kılavuz dışı genlerde raporlanabilir varyant tespit edildi. Kohorttaki kılavuz dışı genlerde ikincil bulgu saptanma oranı %7,55 olarak hesaplandı. Raporlanabilir varyant olmadan taşıyıcılığa sahip 530 kişiye baktığımızda 466 kişi bir varyant, 61 kişi iki varyant, 3 kişi ise üç varyant için taşıyıcıydı. Taşıyıcılık için oran %22,2 olarak hesaplandı.

Çalışmada kılavuz dışı genlerde birincil varyant, raporlanabilir ikincil varyant ve taşıyıcılık tespit edilen toplam kişi sayıları Şekil 4.20.'de gösterilmiştir. Kılavuz dışı genlerde raporlanabilir ikincil varyant saptanan 179 kişinin fenotip gruplarına göre dağılımı ise Şekil 4.21'de sunulmuştur.



**Şekil 4.20.** Çalışmada kılavuz dışı genlerde birincil varyant, raporlanabilir ikincil varyant ve taşıyıcılık tespit edilen toplam kişi sayıları



Şekil 4.21. Kılavuz dışı genlerde raporlanabilir ikincil varyant saptanan 179 kişinin fenotip gruplarına göre dağılımı

## 5.TARTIŞMA

İkincil bulgular hastanın klinik sunumuyla ilgisi olmayan, ancak öneriler bağlamında aktif olarak aranıp analiz edilen bulgulardır. Tesadüfi bulgular ise test endikasyonu ile ilgisiz, beklenmedik şekilde bulunan bulgulardır. Aktif olarak aranmazlar. Hangi genlerin rapor edileceğine veya hangi koşullarda rapor edileceğine dair bir fikir birliği oluşturulmamıştır (90, 103) .

Uluslararası kılavuzlar, ikincil bulgular ve tesadüfi bulguların raporlanması konusunda farklı yaklaşımlar benimsemiştir. ACMG, eyleme dönüştürülebilir ikincil bulgular için belirli listeler oluşturulmuş ve laboratuvar protokollerine dahil etmiştir. İkincil bulguların hasta ayırt etmeksizin bildirilmesi gerektiği görüşünü savunurken tesadüfi bulgular için özel politikaları bulunmamaktadır, ancak ekzom/ genom dizileme gibi genişletilmiş genomik testlerin rehber ihtiyacını artırdığı görüşünü savunur. ESHG, Kanada Tıbbi Genetikçiler Koleji (CCMG) ve EuroGentest gibi uluslararası kuruluşlar ikincil bulgular ve tesadüfi bulguların hastalara geri bildirimini yapılmasında daha temkinli yaklaşmaktadır. ESHG ve EuroGentest tesadüfi bulguların raporlanıp raporlanmaması konusunda laboratuvarlara esneklik tanır, ancak protokollerin iyi tanımlanmasını ister. CCMG ikincil bulguların aranmasını desteklemez ve sadece belirli tesadüfi bulguların geri bildirilmesini önerir. CCMG' ye göre pediatrik hastalarda, yüksek penetrasyonlu çocukluk başlangıçlı tesadüfi bulguların bildirilmesi öngörülür; yetişkin başlangıçlı tesadüfi bulgular ise yalnızca ebeveynin isteği ve ciddi zarar riskini önleme durumunda raporlanır. Sonuç olarak bu kurumlar ikincil bulgu ve/veya tesadüfi bulgu tanımlamasını azaltmak için hedefli veri analizini önermektedir, ancak laboratuvarların hastalara bu tür bulguları alma seçeneği sunmasını önermektedir (104-106).

Çocuk hasta popülasyonu endikasyon dışında tespit edilen bu tür genetik bulguların bildirilip bildirilmemesi konusunda en çok tartışma yaratan konudur. Çocuklarda genetik testlerde, fenotipi açıklayabilecek P/LP varyantlar önceliklidir. Ancak ACMG, katılımcının klinik durumu ne olursa olsun, ek bulguların (ikincil bulguların) raporlanmasını önermektedir (90).

Tartışmalı nokta ise bu sonuçların bireye ve çevresine yüklediği psikolojik yük ve özerklik hakkının ihlal edildiği düşüncesidir. Çocukluk döneminde müdahale edilemeyecek durumların raporlanması, gereksiz psikolojik strese neden olabilir. Ayrıca çocuk kendi hayatıyla ilgili böyle önemli bir bilgiyi öğrenmek isteyip istemediğine henüz karar veremez. Genetik testlerle ilgili kararlar, birey yetişkin olduğunda alınmalıdır (97). Klinik uygulamada ise pediatrik kohortlarda ikincil bulguların açıklanmasına yönelik kararlar, yasal vasilerin onayı ile alınır. Ancak, çocuklar reşit olduğunda, ikincil bulguların açıklanması için yeniden onay alınması gereklidir. İkincil bulguların ne zaman ve nasıl bildirileceği, özellikle geç başlangıçlı hastalıklarda tartışmalıdır. İkincil bulguların erken açıklanması, gereksiz kaygıya neden olabilir. Klinik önemi netleşmemiş veya düşük penetrasyonlu varyantlar hasta ve hekim için karmaşa yaratabilir (90).

Bu çalışma KED çalışılan 2383 bireyin ACMG kılavuzu v3.2’de bulunan 81 gendeki ikincil bulgular açısından ve kılavuz dışı 23 gendeki tesadüfi bulgular açısından değerlendirilmesini ve eyleme geçilebilir genlerin sıklığının ortaya koyulmasını amaçlamaktadır. Bilindiği kadarıyla Türk popülasyonunda ikincil varyantların aranmasına yönelik daha az hasta sayısı veya daha dar bir kapsama yönelik yapılmış çalışmalar literatürde bildirilmiştir (107-109). Bu çalışma, Türk popülasyonunda ikincil varyantların tespit edilmesine yönelik olarak şimdiye kadar gerçekleştirilen en geniş hasta kohortunu içeren ve kılavuzda belirtilmeyen ACMG dışı tesadüfi bulguların da araştırıldığı ilk çalışmadır.

### **5.1. ACMG KILAVUZU v3.2’YE GÖRE İKİNCİL BULGULAR**

Çalışmada 107 kişide hastaların birincil bulguları ile ilgili olmayan ACMG v3.2’ye göre raporlanabilir P/LP varyant tespit edildi. İkincil bulgu saptama oranı %4,49 olarak hesaplandı. Raporlanabilir varyanta sahip olmadan resesif hastalık genleri açısından taşıyıcılığa sahip 225 kişi vardı. 218 kişi bir varyant, 7 kişi ise iki varyant için taşıyıcıydı. Taşıyıcılık için oran %9,44 olarak hesaplandı.

Türk popülasyonu üzerinde yapılan diğer çalışmalarda 622 hastalık bir kohortta KED verileri üzerinden yapılan çalışmada %2,1 oranında, 216 hasta ile TED verileri üzerinden yapılan bir çalışmada %4,6 oranında ikincil bulgu tespit edildiği görülmüştür. 216 hastalık çalışmada bizim çalışmamız ile benzer şekilde ACMG v3.2'ye göre değerlendirme yapılmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir (107, 108). Farklı genetik testler üzerinden değerlendirmeler yapılırsa da değerlendirilen genler iki çalışmada da ortak olduğu için ve bizim panelimiz bu genleri kapsadığı için birbirine yakın sonuçlar elde edilmesi beklenen bir durumdur. 622 hastalık kohortta KED verileri kullanılmış olsa da v2.0' göre 59 gen açısından incelenmiştir. Bu durum bizim çalışmamıza kıyasla daha düşük oranda ikincil bulgu saptanmasını açıklayabilir. Farklı yıllarda yapılmış olan ikincil bulgu araştırmalarının o dönemdeki güncel olan ACMG kılavuzundaki genler (56, 59, 73 veya 78 gen) bazlar alınarak değerlendirilmesi nedeniyle oranlar değişkenlik göstermekte ve kıyaslamada zorluk oluşabilmektedir. 2020 hasta ile yapılan başka bir çalışmada ekzom dizileme verileri üzerinden v3.2'ye göre ikincil bulgu incelemesi yapılmıştır ancak sadece kanser fenotipiyle ilgili olan genler değerlendirilmiştir (109). Bu çalışmada kanser genlerinde ikincil bulgu saptama oranı %1,38 olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda kanser genlerinde saptanan ikincil bulgu oranı benzer şekilde %1,25'tir. Literatür taraması yapıldığında diğer popülasyonlarda yapılan çalışmalarda ikincil bulgu saptama oranı en düşük 1005 hasta ile yapılan bir çalışmada %0,59, en yüksek 2049 hasta ile yapılan bir çalışmada %21 olarak tespit edilmiştir (110, 111). Ancak %21 saptanan Japonya çalışmasında 2049 hastadan elde edilen veriler değerlendirilirken v2.0'daki otozomal genlerde yer alan tüm rapor edilebilir varyantlar hesaba dahil edilmiştir. Bu durum v2.0'da yer alan *ATP7B* ve *MUTYH* gibi biallelik durumda bildirilmesi önerilen genlerdeki heterozigot yani taşıyıcılık durumlarının da bu orana dahil edilmesine neden olmuştur. Saptanan ikincil bulgu oranı bu nedenle beklenenden daha yüksek hesaplanmıştır. Bu çalışmadan sonraki en yüksek çalışmada ise 1559 hastada 73 gen değerlendirilmiş ve %11,9 oranında ikincil bulgu saptamıştır (112). Yapılan çalışmalardaki katılımcı sayılarının 160 hasta ile 57933 hasta arasında değiştiği görülmüştür (113, 114). Ancak örneklem büyüklüğü ile tespit edilen ikincil bulgu oranında bir korelasyon yoktur (Tablo 5.1.).

Bizim çalışmamız, 2383 kişide %4,49 ikincil bulgu saptama oranıyla literatürdeki geniş aralığın içerisinde yer almaktadır. Yapılan çok sayıda çalışmada daha yüksek

veya düşük saptama oranları bildirilmiştir. Bu durum yapılan genetik testin kapsamı, versiyona göre değerlendirilen gen sayısı, allel frekansının <0.01 veya <0.05 seçilmesi gibi belirlenen varyant filtreleme kriterlerinin çalışmalar arasında değişkenliği, çalışmanın yapıldığı kohortun etnisitesinin saptanan varyantları etkileyebilmesi gibi sebeplerle açıklanabilir. Literatürde bildirilen bazı çalışmalar ve ikincil bulgu saptama oranları Tablo 5.1.'de özetlenmiştir.

Bundan sonraki kısımda her fenotip grubu ayrı başlıklar altında tartışılmıştır.

**Tablo 5.1.** Farklı çalışmalardan elde edilen ikincil bulgu oranlarının karşılaştırılması

Çalışma	Katılımcı sayısı	Etnisite	Değerlendirilen genler	İkincil Bulgu Oranı (%)
Lawrence ve ark., 2014 (115)	543	Karışık etnisite	ACMG v1, 56 gen	8,8
Jang ve ark., 2015 (116)	196	Kore	ACMG v1, 56 gen	6,6
Arslan Ateş ve ark., 2021 (107)	622	Türkiye	ACMG v2.0, 59 gen	2,1
Tang ve ark., 2018 (117)	954	Çin- Vietnam	ACMG v2.0, 59 gen	2,5
Aloraini ve ark., 2021 (118)	1254	Suudi Arabistan	ACMG v2.0, 59 gen	8
Jain ve ark., 2018 (111)	1005	Katar	ACMG v2.0, 59 gen	0,59
Martone ve ark., 2022 (119)	383	İtalya	ACMG v2.0, 59 gen	7
Rodríguez-Salgado ve ark., 2022 (113)	160	Kolombiya	ACMG v2.0, 59 gen	8,13

**Tablo 5.1.** Farklı çalışmalardan elde edilen ikincil bulgu oranlarının karşılaştırılması  
(devamı)

Çalışma	Katılımcı sayısı	Etnisite	Değerlendirilen genler	İkincil Bulgu Oranı (%)
eMERGE Clinical Annotation Working Group, 2020 (120)	21.915	Karışık etnisite	ACMG v2.0, 59 gen	2,54
Kuo ve ark., 2020 (112)	161	Tayvan	ACMG v2.0, 59 gen	1,86
Jalkh ve ark., 2020 (121)	280	Lübnan	ACMG v2.0, 59 gen	6
Yamaguchi-Kabata ve ark., 2018 (110)	2049	Japonya	ACMG v2.0, Otozomal genler (57 gen)	21
Huang Y. ve ark., 2022 (122)	2987	Çin	ACMG v3.0, 73 gen	5,3
Chetruengchai, W., Shotelersuk, V., 2022 (123)	1559	Tayland	ACMG v3.0, 73 gen	11,9
Jensson ve ark., 2023 (114)	57.933	İzlanda	ACMG v3.0, 73 gen	4
Shkarin ve ark., 2023 (124)	863	Pakistan	ACMG v3.1, 78 gen	2,7
Kim ve ark., 2023 (125)	7472	Kore	ACMG v3.1, 78 gen	3,75
Saeidian ve ark., 2024 (85)	16.713	Karışık etnisite	ACMG v3.2, 81 gen	5,81
Elfatih ve ark., 2024 (126)	14.392	Katar	ACMG v3.2, 81 gen	3,5
Balasar ve ark., 2024 (108)	216	Türkiye	ACMG v3.2 , 81 gen	4,6
Demir ve ark., 2024 (109)	2020	Türkiye	ACMG v3.2 (Kanser fenotipiyle ilgili 28 gen)	1,38
<b>Bu çalışma</b>	2383	Türkiye	ACMG v3.2, 81 gen	4,49

### **5.1.1. ACMG v3.2'ye göre kardiyovasküler hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar**

Çalışmamızda KVH fenotipi ile ilgili genler %60 oranıyla en sık ikincil bulgu saptanan gruptu (64/107). Bu grubu %28 ile kanser fenotipiyle ilgili genler grubu takip ediyordu (30/107). Metabolik hastalık fenotipi %2,8, diğer hastalık fenotipleri %5,6'sını oluşturmaktaydı. Aynı anda birden fazla fenotiple raporlanabilir varyantı olan 4 kişi vardı (%3,7). Bu 4 kişi hem KVH hem de kanser fenotipiyle ilgili 2 farklı P/LP varyanta sahipti. Daha öncesinde yapılan ACMG ikincil bulgu çalışmalarında da KVH fenotipi ve kanser fenotipi genlerinin ikincil bulgu saptanan gruplarda öne çıkmaktadır. Ayrıca önceki versiyonlara göre yapılan çalışmalarda ailesel hiperlipidemi grubunun ayrı sınıflandırılması KVH fenotipinin parçalı olarak değerlendirilmesine neden olduğu için kanser fenotipi bazı çalışmalarda daha yüksek orandadır. Yapılan çalışmalarda ikincil bulgu saptanan genler içinde KVH genlerinde oranının %11,7 ile %75 arasında değiştiği görülmektedir (121, 124). Kanser genlerinde ise bu oran %16,7 ile %46,2 arasındadır (89, 116). Bizim çalışmamızda da oranlar literatür ile benzer olarak sonuçlandı. Daha eski ACMG versiyonları baz alınarak yapılan çalışmalarda KVH fenotipinin oranlarının yakın tarihlilere göre daha düşük olduğu ve baskın olan KVH fenotiplerinin hipertrofik kardiyomyopati ve Brugada, uzun QT gibi aritmiler olduğu dikkat çekmektedir (114, 118-121). Bu durum *TTN* geninin v3.0 güncellemesi ile aranması gereken genlere dahil edilmesinden kaynaklı olabilir. Çalışmamız bunu destekler nitelikte en sık rapor edilebilir varyantı dilate kardiyomyopatinin iyi bilinen genetik nedenlerinden olan *TTN* geninde saptamıştır (n:17 kişi). Bunu ailesel hiperlipidemi geni olan *LDLR* izlemiştir (n:10 kişi).

### **5.1.2. ACMG v3.2'ye göre kanser fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar**

Önceki çalışmalarda kanser fenotipinde ise en sık kalıtsal meme over kanseri nedeni olan *BRCA1* ve *BRCA2* genleri ve Lynch sendromu genleri öne çıkmaktadır (85, 114, 120, 125, 127). Bu çalışmada kanser genleri içerisinde en çok *MUTYH* geninde varyant tespit edilmiştir ancak hastaların tamamı heterozigot olup taşıyıcıdır (n:23 kişi). Raporlanabilir olanlarda ise en sık *APC* geni (n:13 kişi) daha sonra da *BRCA1* geni (n:7 kişi) tespit edilmiştir. Ancak *APC* varyantı saptanan 13 kişinin 12'sinde c.3920T>A (p.I1307K) değişikliği dikkat çekmektedir. Bu değişiklik hakkında

ClinVar veri tabanında çelişkili sınıflandırmalar mevcuttur. Bu değişiklik Aşkenazi Yahudi toplumlarında %6-8 oranında yüksek sıklıkta tespit edilmiştir. Başlangıçta iyi huylu bir polimorfizm olduğu düşünülse de Aşkenazi Yahudi bireylerde yapılan çalışmalarda kolorektal kanser riskini 1,7-2,17 kat artırdığı gösterilmiştir (128-131). Aşkenazi-Yahudi mirası olmayan bireylerde riski belirlemek için yeterli kanıt olmasa da in-vivo ve in-vitro çalışmalar bu germ hattı varyantının somatik çerçeve kayması mutasyonlarına daha yüksek bir eğilime sahip bir (A)8 mono nükleotid yolu oluşturarak çok daha fazla değişebilir stabil olmayan bir allel ile sonuçlanabileceğini göstermiştir (128, 132, 133). Dündar ve ark. (2007) kolorektal ve mide karsinomu olan 113 Türk hastada yaptığı çalışmada bu allelin kolorektal kanser için tahmini 1,9'luk bir göreceli riske neden olduğunu ve *APC* p.I1307K taşıyıcılarının taşıyıcı olmayanlara göre hasta başına daha fazla sayıda adenom ve kolorektal kansere sahip olduğu tespit etmişlerdir (134).

*APC* p. I1307K için yönetim önerilerini ele alan tek kılavuz Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı' dır (NCCN). NCCN yönergeleri, bu hastaların aile öyküsü olmasa bile 40 yaşından itibaren kolonoskopi yaptırmasını ve her beş yılda bir takip edilmesini önermektedir (135). Bu nedenle çalışmamızda bu varyant kolorektal kansere yatkınlık oluşturan bir risk alleli olduğu kabul edilerek kayıt altına alındı ve frekansı %0,5 (12/2383) olarak tespit edildi. Yapılan literatür incelemesinde Türk popülasyonundaki frekansına yönelik başka bir çalışma tespit edilememiştir. Diğer ACMG ikincil bulgu araştırmaları minör allel frekansının yüksekliğinden dolayı bu varyantı çalışmaya dahil etmemiş olabilir. Literatürdeki çalışmalarla benzer olarak *APC* p. I1307K varyantı göz ardı edildiğinde en sık *BRCA1* geninde (n: 7 kişi) varyant saptanmıştır. Literatürde de kanser fenotipi içerisinde en sık kalıtsal meme over kanseri genlerinde ikincil bulgu saptanmaktadır. Ancak önceki çalışmalarda genellikle *BRCA2* geni *BRCA1*'e göre daha sık tespit edilmektedir (85, 114, 118, 120, 125, 127). Yakın zamanda ACMG v3.2 kanser genlerinin değerlendirildiği bir Türk çalışmada da *BRCA2* geni daha sık tespit edilmiştir (109). Bizim çalışmamızda *BRCA1* oranının daha yüksek olmasını etnisite ile açıklamamız mümkün olmamakla birlikte çalışmaya katılan kişilerin sahip olduğu bölgesel genetik farklılıklar bu duruma yol açmış olabilir.

### 5.1.3. ACMG v3.2'ye göre metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili genlerdeki varyantlar

Metabolik hastalık fenotipiyle ilişkili genlerde sadece 3 hasta raporlanabilir varyanta sahipti. 3 kişide de *BTD* c.1270G>C (p.Asp424His) değişikliği homozigot tespit edildi. Bu varyant patojenik bir varyant için beklenenden daha yüksek bir allel frekansına sahip hipomorfik bir alleldir (GnomAD %3,2). p.Asp424His varyantı için homozigot olan bireylerin, ortalama normal serum biyotinidaz aktivitesinin yaklaşık %50'sine sahip olması beklenir; bu oran heterozigot bireylerin aktivitesine benzerdir. Ancak *BTD* geninde ağır patojenik bir varyantla bileşik heterozigot olarak bulunduğu, bu varyantın kısmi biyotinidaz eksikliğinin en yaygın nedeni olduğu bildirilmiştir (136, 137). Geriye kalan hastalar metabolik hastalık fenotipleri açısından taşıyıcı durumda saptanmıştır (n:162 kişi). En sık *BTD* c.1270G>C (p.Asp424His) varyantı (n:136) taşıyıcı olarak tespit edilmiştir. Bunu *GAA* c.-32-13T>G (n:7 kişi) patojenik varyantı izlemiştir. Çalışmada bu kadar yüksek oranda *BTD* taşıyıcılığı saptanmasının nedeni, Türk toplumunun biyotinidaz eksikliği açısından dünya genelinde en sık etkilenen toplumlardan biri olması ve bu hastalığın insidansının 1:7116 olarak belirlenmiş olması olabilir. *BTD* c.1270G>C (p.Asp424His) varyantı Türklerde yenidoğan taramasında sık saptanan varyantlardan biridir (138). *GAA* -32-13T>G varyantı, intron 1'in alıcı ekleme bölgesinde meydana gelir ve normal olarak eklenen *GAA* transkriptlerinin seviyesinin azalmasına yol açar. Tarihsel olarak IVS1-13T>G ve -45T>G olarak adlandırılan bu varyant, geç başlangıçlı Pompe hastalığı olan bireylerde en yaygın tanımlanan *GAA* varyantıdır. Geç başlangıçlı Pompe hastalığı olan bireylerin yaklaşık %36-90'ında bu varyant bileşik heterozigot olarak tespit edilmiştir (139-141). Türk popülasyonunda geç başlangıçlı Pompe hastalığı sıklığı veya *GAA* varyant taşıyıcılığı hakkında yeterli veri yoktur. Bu çalışmada 12 kişi *GAA*'da P/ LP varyant taşıyıcısıdır (%0,5).

### 5.1.4. ACMG v3.2'ye Göre Diğer Hastalık Fenotipleri ile İlgili Genlerdeki Varyantlar

Diğer fenotiplerdeki genlerde ise 6 kişide raporlanabilir varyant tespit edilmiştir ancak en sık değişiklik *ATP7B* geninde heterozigot olarak bulunmuştur (n:52 kişi). En sık saptanan varyant *ATP7B* c.3688A>G'dir (n:10 kişi). *ATP7B* genindeki biallelik patojenik değişikliklerin neden olduğu Wilson hastalığı yaklaşık 1:30.000 yaygınlıkta

görülür ve bu tüm etnik gruplar arasında benzerdir. Dünya çapında heterozigot taşıyıcı oranı yaklaşık %1'dir (142). Bizim çalışmamızda bu oran %2,1 olarak tespit edilmiştir. Ancak ikincil bulguları saptarken aynı aileden bazen birden fazla hasta çalışmaya dahil edildiği için oranın beklenenden yüksek çıkması bu duruma atfedilebilir. Raporlanabilir varyantlara bakıldığında en sık malign hipertermi genlerinde varyant tespit edilmiştir (*RYR1*: 4 kişi, *CACNA1S*:1 kişi). Bir kişide de *MODY* ile ilişkili *HNFL1A* geninde ikincil varyant saptanmıştır.

Sonuç olarak ikincil bulguların hastalık potansiyeli olarak geri bildirilmesi, hastalar, aile üyeleri ve klinisyenler için en uygun tedavi ve takip stratejilerinin belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Bu yaklaşım, özellikle yüksek akrabalık oranlarına sahip topluluklarda ve tıbbi olarak eyleme geçirilebilir genetik varyantların farklı popülasyonlardaki penetrans ve ifade düzeylerinin anlaşılmasında büyük bir öneme sahiptir (126).

## 5.2.KILAVUZ DIŞI GENLERDEKİ TESADÜFİ BULGULAR

Çalışmamızda kılavuz dışı genlerde toplam 731 kişide varyant tespit edildi. 731 kişiden 29'u birincil varyanta sahipti ve birincil varyantlar hesaplama dahil edilmedi. Birincil varyantı olan 29 kişinin 5 'inde ise kılavuz dışı başka bir gende raporlanabilir veya taşıyıcı durumda eşlik eden ikincil bulgu vardı. 528 kişi ise raporlanabilir herhangi bir varyantı olmadan sadece biallelik durumda raporlanması önerilen genlerde taşıyıcılığa sahipti ve bu ikincil bulgu oranı hesaplamasının dışında tutuldu. Toplam 179 kişide kılavuz dışı genlerde raporlanabilir varyant tespit edildi. Kohorttaki kılavuz dışı genlerde tesadüfi bulgu saptanma oranı %7,55 olarak hesaplandı. Taşıyıcılık için bu oran %22,2 olarak hesaplandı. Tüm gruplar içerisinde en sık kanser fenotipi ile ilgili genlerde rapor edilebilir varyantlar tespit edildi (61/179, %34). Bunu %28 ile hematolojik hastalık fenotipi (50/179) ve %25 ile metabolik hastalık fenotipi (45/179) takip etti. Diğer hastalıklarla ilgili genler %8'ini (14/179) oluşturmaktaydı. Bunların dışında kalan 8 kişide iki gende, 1 kişide üç gende birden raporlanabilir tesadüfi bulgu saptandı (%5).

Literatür taraması yapıldığında kılavuz dışı tesadüfi bulguların araştırıldığı çalışma sayısının kılavuz önerilerine göre yapılan çalışmalara göre daha kısıtlı olduğu görüldü. 16.713 pediatrik hastadan oluşan bir çalışmada katılımcıların %2,95'inde ACMG

kılavuzu dışı genlerde tesadüfi bulgu saptanmıştır (85). Çalışmada, bizim çalışmamızdaki gibi sabit belirlenmiş bir gen listesi kullanmak yerine pediatrik başlangıç, yüksek penetrans, orta ila şiddetli fenotipler ve varyantların klinik eyleme geçirilebilirliğine odaklanan bir dizi kritere göre rapor edilip edilmemesine karar verilen bir prosedür kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda hem çocuk hem erişkin yaş grubu hastaların dahil olmasından dolayı sabit 23 gendeki P/ LP varyantların tüm bireylerde yaş, başlangıç, penetrans ve klinik faydaya göre ayırım yapılmadan değerlendirilmesi yapılmıştır. Bunlar göz önüne alındığında ACMG olmayan genlerdeki ikincil bulgu saptama oranımızın yüksek olması beklenen bir sonuçtur. Ancak her hastaya özel olarak güncellenmesi gereken bir yaklaşım türü ikincil bulguların raporlanması sürecinde standardizasyonun yapılamamasına ve merkezler arasında tecrübe ve tercihe göre farklılıklar ortaya çıkmasına neden olabilir. Bu nedenle eyleme geçilebilir genler için daha belirli sınırları olan raporlanma kriterleri belirlenmelidir. 863 kişiyle yapılan başka bir çalışmada ise ACMG dışı çeşitli fenotiplerle ilişkili sabit 39 gen değerlendirilmiş ve 14 gende %1,6 oranında tesadüfi bulgu saptanmıştır (124). Çalışmamız her iki çalışmadan da daha yüksek tesadüfi bulgu oranına sahiptir. Bunun sebebi seçilen genlerin birbirinden farklılığı, varyant değerlendirme kriterlerinin çalışmaya göre değişmesi ve popülasyonun genetik alt yapısı olabilir.

Bundan sonraki kısımda her fenotip grubu ayrı başlıklar altında tartışılmıştır.

### **5.2.1. Kanser fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar**

En yüksek oranda varyant kanser ilişkili genlerde saptandı (%34). Kanserle ilişkili genler genellikle orta penetransa sahip olması nedeniyle rapor edilip edilmemesi konusunda fikir birliği bulunmamaktadır. Bu grupta *CHEK2* ve *ATM* genleri en sık saptanan genlerdi. Başka bir endikasyonla başvurup yapılan genetik analizde tesadüfi *CHEK2* c.1169A>C patojenik varyantı tespit edilen 5 yaşında bir çocuk hastada klinik takiplerinde 2 yıl sonra lösemi tablosu ortaya çıkmıştır. Bu değişiklik, kendisinde ve/veya aile geçmişinde meme kanseri, kolorektal kanser, yumurtalık kanseri ve/veya rahim sarkomu olan kişilerde gözlemlenmiştir (143). *CHEK2* geninin kalıtsal lösemi yatkınlığı yapabileceğine dair çalışmalar vardır (144, 145). Hasta kalıtsal hematolojik kanserler açısından 2 yıl sonra tekrar değerlendirilmiş ve raporuna *CHEK2* patojenik

varyantı eklenmiştir. Yine 22 yaşındaki başka bir erişkin hastada *ATM* c.2251-4A>G patojenik varyantı tesadüfi olarak tespit edilmiş ve aile öyküsünde yaygın meme kanseri olduğu görülmüştür. c.2251-4A>G, literatürde içerisinde Türk hastaların da yer aldığı Ataksi-Telenjiektazi hastalığından etkilenen bileşik heterozigot bireylerde ve *ATM* ile ilişkili kanserlerin kişisel veya aile öyküsü olan bireylerde bildirilmiştir (146-149). Hastaya bu açıdan ayrıntılı genetik danışmanlık verilmiş ve onkolojik takibe alınmıştır. Kanser öyküsü olan diğer aile bireyelerine genetik inceleme önerilmiştir. Yukarıdaki hasta örneklerinden yola çıkarak orta penetranslı kanser genlerinde olan patojenik/ olası patojenik varyantların hastalara bildirilmesinin hastaların erken tanı ve tedavilerinde etkili olabileceği ve diğer aile bireyelerinin bu açıdan genetik danışmanlık almaları sağlanarak risk altındaki bireylere yönelik tarama ve takip planları oluşturmanın halk sağlığı stratejileri açısından faydalı olacağı öngörülebilir.

### **5.2.2. Hematolojik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar**

Hematolojik hastalık fenotipi %28'le ikinci en sık varyant saptanan gruptu. En sık *HBB* geninde (n:20 kişi) varyant saptandı. *HBB* geni  $\beta$ -tal hastalığıyla ilişkili olup Türkiye genelinde  $\beta$ -tal taşıyıcılığı %2 oranında görülürken, Ege Bölgesi'nin bazı illerinde bu oran %5'e, Akdeniz Bölgesi'nde ise bazı illerde %10'a kadar ulaşabilmektedir (150). Türkiye'de tahmini 1.300.000  $\beta$ -tal taşıyıcısı ve 4.500 kadar  $\beta$ -tal hastası vardır (151). Evlilik öncesinde hemoglobin elektroforezi yapılarak çiftlerde rutin olarak taranmaktadır (152). Çalışmada 19 kişi *HBB* geni taşıyıcısı iken 1 kişide c.364G>C homozigot varyantı saptanmıştır. *HBB* geninde en sık saptanan varyant yine c.364G>C'dir (n:6 kişi). Bu varyant hipomorfik bir allel olup HbD Los Angeles olarak da bilinir ve en sık görülen dördüncü Hb varyantıdır (<https://globin.bx.psu.edu/>). Homozigot iken asemptomatik veya çok hafif düzeyde bir klinikle ilişkili olduğu ancak başka bir patojenik varyantla bileşik heterozigot olduğu durumda  $\beta$ -tal tablosu yaptığı bildirilmiştir (153, 154). Literatürdeki verilerle uyumlu olarak homozigot saptanan çocuk hastanın Hb değeri 12,9 olarak sonuçlanmıştır ve hastanın herhangi bir semptomu bulunmamaktadır  $\beta$ -tal taşıyıcılığı ise %0,7 (19/2383) olarak tespit edilmiş olup literatürdeki tahmini taşıyıcılık sıklığının altında çıkmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastaların ülke geneli nüfusu homojen olarak yansıtmaması ve

yeni nesil dizilemenin *HBB*'de yaygın görülen P/ LP intronik varyantları tespit edememesi sebebiyle benzer sonuç elde edilememiş olabilir.

Yine bu grupta değerlendirilen başka bir gen olan *G6PD* yenidoğanlarda hiperbilirubinemi ve hemolitik anemi ile ilişkilidir ve XB kalıttır. Çoğunlukla erkekleri etkilemekle beraber kadınları da etkileyebilmektedir. *G6PD* enzim eksikliği olan bireyler normalde asemptomatik olup, anti-sıtma ilaçları başta olmak üzere asetaminofen (parasetamol), asetilsalisilik asit, kolşisin, izoniazid, rasburikaz, trimetoprim gibi bazı tedavi edici ajanların ve bakla gibi besinlerin *G6PD* eksikliğine bağlı olarak hemolitik anemiyi tetiklediği bilinmektedir (155). 2011 yılında yapılan bir çalışmada Türkiye'de *G6PD* eksikliği insidansı %7,1 olarak bulunmuştur (156). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), bu eksikliğin yaygın olduğu ülkelerdeki tüm bebeklerde *G6PD* aktivitesi için tarama yapılmasını önermektedir (157). Çalışmada *G6PD* c.563C>T (p.Ser188Phe) varyantı 8'i hemizigot, 1'i homozigot olmak üzere 29 kişide tespit edilmiş ve bu gende en sık saptanan varyant olmuştur. Önceki çalışmalar incelendiğinde c.563C>T varyantının Akdeniz coğrafyasında yaygın görülen bir varyant olduğu ve yenidoğan hiperbilirubinemisiyle ilişkili olduğu görülmüştür (158). Enzim eksiliğinin sık görüldüğü ülkemizde *G6PD* varyantlarının hastalara ve diğer hekimlere bildirilmesi ilaç seçimlerini ve beslenme tercihlerini bireye özel değiştirmelerini saplayacağı için önem arz etmektedir.

Bu gruptaki diğer genler *F5* ve *VWF*'dir. *F5* c.1601G>A (p.Arg534Gln) değişikliği bu grupta en sık tespit edilen değişikliktir (n:35; 32 heterozigot; 3 homozigot). Faktör V Leiden mutasyonu olarak da bilinen bu varyant, aktive protein C (APC) direncinin iyi belgelenmiş ve yaygın bir nedendir (159). Çalışmalar, diğer edinilmiş veya çevresel yatkınlıkların yokluğunda Faktör V Leiden varyantı ile ilişkili venöz tromboz için göreceli riskin heterozigotlar için yaklaşık 4 ila 7 kat ve homozigotlar için 80 kat olduğunu göstermektedir, ancak bireylerin büyük kısmı asemptomatik olarak hayatına devam etmektedir (160). Edinilmiş trombofilik durumlar (antifosfolipid antikor sendromu, paroksizmal noktürnal hemoglobinüri, miyeloproliferatif bozukluklar) ve gebelik, kanser, santral venöz kateterler, seyahat, kombine oral kontraseptif kullanımı ve diğer kombine kontraseptifler, oral hormon replasman tedavisi, obezite, bacak yaralanması ve ilerleyen yaş gibi risk faktörleri mevcut olduğundan profilaktik antikoagülan kullanımı gerekebilir (161). Pıhtılaşma yatkınlığı oluşturduğu bilinen

varyantların bu açıdan risk altında olan bireylerin takip ve koruyucu tedavilerinin zamanında uygulanabilmesi için geri bildirilmesi fayda sağlayabilir. *F5* c.1001G>C varyantı bir kişide homozigot olarak saptanmıştır. Bu varyant, İngiliz kökenli bir hastada proksimal derin ven trombozu ile ilişkili olarak tanımlanmış ve aynı zamanda anormal derecede düşük APC direnci sergileyen annesinde de tespit edilmiştir. Tromboembolizm öyküsü bulunan 600 bireyde ve sağlıklı kan bağışçılarında oluşan bir kontrol grubunda saptanmamış olması, varyantın nadir bir Faktör V mutasyonu olduğunu düşündürmektedir. Literatürde bu mutasyon, p.R306T/Arg306Thr veya Faktör V Cambridge olarak tanımlanmıştır (162).

*VWF* geninde ise c.2561G>A (p.Arg854Gln) en sık saptanan değişikliktir (n:11 kişi). Bu değişiklik OR kalıtım gösteren von Willebrand hastalığı (vWH) tip 2N olan bireylerde gözlemlenmiş olup bu alt grupta en sık görülen değişikliktir (163, 164). Varyant tespit edilen hastaların tamamı heterozigot olup bu hastalık için taşıyıcı durumundadır. Yine sık tespit edilen bir diğer değişiklik c.3797C>T (p.Pro1266Leu)'dir (n:5 kişi). Varyant literatürde çok sayıda vWH olan bireyde bildirilmiş olup geniş bir aile çalışmasında OD bir kalıtım paterninde hastalıkla birlikte ayrıştığı bulunmuştur (165-168). *VWF* geninde daha nadir saptanan diğer varyantların tamamı heterozigot olup, OD kalıtımla uyumlu oldukları görülmüştür. Bu hastalarda ameliyat, diş çekimi gibi girişimsel işlemler normalden daha fazla kanama riski oluşturmaktadır. Hastalarda tespit edilen tesadüfi varyantların bildirilmesi risk altındaki bireyler için kanamanın önlenmesi açısından faydalı olacaktır.

### **5.2.3. Metabolik hastalık fenotipleri ile ilgili kılavuz dışı genlerdeki varyantlar**

45 kişide metabolik hastalıklar ile ilgili rapor edilebilir varyant bulundu (%25). En sık varyant saptanan gen *PAH* (n:134 kişi) ve *CFTR* (n:118 kişi) idi. Ancak bu genlerde tespit edilen varyantlar büyük oranda heterozigot yani taşıyıcılık durumundaydı. En sık tespit edilen varyant ise 38 kişide bulunan *CFTR* c.3154T>G (p.Phe1052Val) idi. Ülkemizin bulunduğu coğrafyada sık görülen ve yenidoğan taraması kapsamında değerlendirilen hastalıklardan olan FKÜ ve KF taşıyıcılığı kohortumuzda oldukça yüksek saptandı. Normalde resesif hastalıklarda taşıyıcılıkların bildirilmesi ACMG kriterlerinde önerilmemektedir. Ancak akraba evliliği oranının fazlalığı göz önüne alındığında taşıyıcılıkların son derece önemli olduğu görülmektedir. Ayrıca *CFTR*'de

heterozigot P/ LP varyantı olan bazı taşıyıcı olgularda artan solunum yolu enfeksiyonu sıklığı, bronşektazi, infertiliteyle sonuçlanan doğuştan vas deferens yokluğu, kronik pankreatit gibi klinik durumlara sahip olmadaki rölatif risk vahşi tip varyanta sahip bireylere göre oldukça yüksek saptanmıştır (169). Ayrıca *CFTR* protein amino asit dizisindeki 508. kalıntıda fenilalaninin silinmesi (F508del) yaygın görülen bir hastalık yapıcı değişikliktir ve taşıyıcılığında kolorektal ve safra kesesi/safra yolu kanserleri, tiroid kanseri ve non-Hodgkin lenfoma dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinin daha sık saptandığı gösterilmiştir (170, 171). Bizim çalışmamızda 9 kişi'de F508del varyantı taşıyıcılığı tespit edildi. Sahip olunan riskler göz önünde bulundurulduğunda özellikle aile öyküsünün anlamlı olduğu bireyler için genetik danışma esnasında taşıyıcılıklar konusunda da bilgilendirme yapılması düşünülebilir.

*CFTR* c.489+3A>G değişikliği bu iki gende homozigot tespit edilen ikincil bulgu olarak raporlanabilir tek değişikliktir. *CFTR* c.489+3A>G değişikliğinin splicing (ekleme) üzerine olumsuz etki yaptığı ve anormal transkriplerin üretilmesine yol açtığı gösterilmiştir (172). Bu varyant KF hastalarında, konjenital bilateral vas deferens yokluğu, azospermi veya sarkoidozlu hastalarda bildirilmiştir (173-175). Ancak asemptomatik bir kız çocuğunda ikinci bir patojenik varyantla trans olarak da bildirilmiştir; ter klorür testi olası bir subklinik hastalığa (49-75 mEq/L) işaret etmiştir (172). Bizim çalışmamızda bu varyant 31 yaşında asemptomatik bir erkek bireyde tespit edilmiştir. Ancak hastanın herhangi bir ter testi sonucu bulunmamaktadır. Literatür verileri ve ikincil bulgu saptadığımız asemptomatik birey göz önüne alındığında bu varyantın hafif düzey bir fenotiple ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca çalışmamızda aynı varyant için taşıyıcı olan 16 birey tespit edilmişti ve toplam sıklığı %0,7 olarak hesaplanmıştır (17/2383). Bu varyantın Türk popülasyonunda görece sık olduğu görülmüştür. Bu durumda hafif klinik seyir gösteren hipomorfik bir varyantın çalışmada homozigot asemptomatik bireylerde tesadüfi olarak saptanması beklenebilir.

Fenotip bazında değerlendirildiğinde sistinüri fenotipinde de P/ LP varyanta sahip hasta sayısının yüksek olduğu görülmüştür (n:43; 19 *SLC3A1*, 24 *SLC7A9*). Ancak hastaların tamamı heterozigottur. Sistinüri temelde OR bir şekilde kalıtılır ve iki önemli gendeki mutasyonlar vardır: *SLC3A1* ve *SLC7A9*. *SLC3A1* geni, b(0,+) amino asit taşıma sisteminin işlevi için gerekli olan rBAT proteinini kodlarken, *SLC7A9*

taşıma kanalının kendisini kodlar (176). Sistinürinin kalıtım kalıpları, söz konusu genetik mutasyonlara göre farklı tiplere sınıflandırılabilir. En yaygın form olan tip I sistinüri, *SLC3A1* genindeki mutasyonlarla ilişkilidir ve klasik OR şekilde kalıtılır. Bu tipteki hastalar tipik olarak idrarlarında yüksek seviyelerde sistin ve dibazik amino asitler atarlar (177). Buna karşılık, OR ve eksik penetranslı OD kalıtımla karakterize olan Tip II ve III sistinüri, *SLC7A9* genindeki mutasyonları içerir. Bu tipler için heterozigotlar, homozigotlara göre daha az oranda da olsa, idrarla sistin atılımında artış gösterebilirler (178, 179). Son çalışmalar, hem *SLC3A1* hem de *SLC7A9*'daki mutasyonların fenotipe katkıda bulunduğu digenik kalıtım vakaları da dahil olmak üzere sistinüri kalıtımının karmaşıklığını da vurgulamıştır (180, 181). *SLC3A1* varyantına sahip 19 hasta taşıyıcı olarak değerlendirilmiştir. *SLC3A1* c.1400T>C (p.Met467Thr) (n:11 kişi) ve *SLC7A9* c.544G>A (p.Ala182Thr) (n:11 kişi) değişikliği en sık saptanan değişikliklerdir. *SLC3A1* mutasyonları arasında, p.Met467Thr en sık görülenidir ve bilinen mutant alellerin yaklaşık %30'unu oluşturur (178). *SLC7A9* ile ilgili yapılan bir çalışmada p.Ala182Thr heterozigot olan bireylerde sistin ve dibazik amino asitlerin idrarla atılımlarının şiddetli fenotip yapan allellere kıyasla daha düşük olduğu gösterilmiştir (182). Bu sonuç bu varyantı heterozigot tespit ettiğimiz hastalarda semptom olmamasını açıklayabilir.

Yine çalışmamızda tespit ettiğimiz *SLC7A9* c.1399+1G>T değişikliği 3 kişide tesadüfi bulgu olarak saptanmıştır. Aynı varyant sistinüri ön tanısıyla başvuran bir hastada heterozigot durumda birincil bulgu olarak tespit edilmiştir. Bu durum literatürle uyumlu olarak tip 1 dışı sistinüride (*SLC7A9*) eksik penetranslı OD kalıtımı desteklemektedir. Sistinüri hastalarında böbrek taşı, kronik böbrek hastalığı ve hipertansiyon riskiyle ilişkilidir (183-185). Son dönem böbrek yetmezliği oranı ise %5'tir (186). Sistin kristalleri, tübüler tıkanıklık, inflamasyon ve fibrozla böbrek hasarına yol açar. Tekrarlayan cerrahi ve enfeksiyonlar riski artırır. Bu nedenle sık takip ve tedavi gerekir (184). Yukarıdaki literatür verileri ışığında sistinüri genlerinde saptanacak hastalık yapıcı tesadüfi bulguların geri bildirim hastaların yararına olacaktır.

#### 5.2.4. Diğer Hastalık Fenotipleri ile İlgili Kılavuz Dışı Genlerdeki Varyantlar

Son grup olan diğer fenotiplerle ilgili genler en az varyantın tespit edildiği gruptur (%8). Burada *MEFV*, *DMD*, *GJB2*, *PKD1* ve *PKD2* genlerindeki tesadüfi bulgular araştırılmıştır. En sık değişiklik *MEFV* geninde saptanmış olup sırasıyla c.2080A>G (M694V) (n: 83 kişi), c.2177T>C (V726A) (n:68 kişi), c.2040G>C (M680I) (n:41 kişi)' dir. 2 kişi M694V, 1 kişi V726A, 1 kişi M694I olmak üzere 4 kişi homozigot, 2 kişi M694V/ V726A, 1 kişi R653H/ R761H olmak üzere 3 kişi bileşik heterozigot saptanmıştır. Türkiye dünya geneli FMF sıklığının en yüksek olduğu ülkelerdendir ve yaklaşık insidansın %0,1 olduğu tahmin edilmektedir (187). 2383 kişinin değerlendirildiği bu çalışmada 2 kişide birincil bulgu ve 7 kişide tesadüfi bulgu olmak üzere toplam 9 dokuz kişide biallelik varyant saptanmış olup tahmini sıklık %0,37 olarak hesaplandı.

Çalışmamızda *MEFV* geninde sık saptanan değişiklikler Dündar ve ark. 2022 yılında Türkiye ve Kuzey Kıbrıs'taki 35 farklı merkezden 27.504 hastanın verilerini değerlendirdiği çalışmadaki bireylerde sık saptanan varyantlar ile de uyumludur (188). V726A, M680I, E148Q, M694V ve M694I mutasyonlarının vakaların yaklaşık %70 ila %80'inden sorumlu olduğu bilinmektedir (189). FMF, genellikle OR kalıtılsa da M694V varyantı OD bulaşma örüntüsü gösteren ailelerde en sık tespit edilen mutasyondur. M694V ve M680I mutasyonları ise hastalığın en şiddetli fenotipleriyle ve amiloidoz, böbrek yetmezliği gibi artmış komplikasyon riski ile ilişkilidir (190). *MEFV* genindeki tesadüfi biallelik bulguların hastalara bildirilmesi tedaviye erişim imkânı sağlayabilir ve hastaların amiloidoz ve son dönem böbrek yetmezliğine gitmesini engelleyebilir.

Bu grupta ikinci sıklıkta saptanan gen *GJB2* 'dir. En sık saptanan değişiklik c.35del' dir (n:31 kişi). Bu varyant, OR sendromik olmayan işitme kaybının en yaygın varyantlarından biridir. Avrupa'da yaklaşık %2 olan c.35delG taşıyıcı sıklığı, bu genetik değişikliğin Kafkasyalılarda OR sağrlık için en önemli varyantlardan biri olduğunu göstermektedir (191). Bizim çalışmamızda hastaların tamamı taşıyıcıdır ve sıklık %1,3 olarak bulunmuştur. Diğer sık saptanan varyant c.269T>C (L90P)'dir ve biri homozigot olmak üzere 10 kişide tespit edilmiştir. Bu değişiklik literatürde OR sendromik olmayan işitme kaybından etkilenen bireylerde yaygın bir şekilde bulunur

(192). Homozigot tesadüfi bulgu saptanan çocuk hasta metabolik hastalık şüphesiyle genetik test yapılmış işitme kaybı ile ilgili daha önce değerlendirilmemiş bir hastaydı. Saptanan tesadüfi varyant neticesinde aile ile görüşüldü ve hasta işitme testine yönlendirildi. Yapılan işitme testi sonucunda hastada bilateral sensörinöral işitme kaybı olduğu ortaya çıktı ve işitme cihazı kullanmaya başladı. Daha sonra aileye ayrıntılı genetik danışmanlık verildi ve diğer risk altındaki bireylerin taranması için çalışmalar başlatıldı. *GJB2* c.109G>A (V37I) değişikliği ise 7 kişide heterozigot saptanan bir diğer sık görülen değişiklikti. Bu değişiklik %8,3 yüksek taşıyıcı oranı ile Doğu Asya popülasyonunda polimorfizm sıklığına ulaşsa da popülasyon kontrollerine kıyasla işitme kaybı hastalarında önemli ölçüde fazla temsil edildiği bulunmuştur (193, 194).

OD polikistik böbrek hastalığı için araştırma yapıldığında 6 *PKD1* ve 2 *PKD2* geninde olmak üzere 8 kişide tesadüfi patojenik/olası patojenik varyant tespit edilmiştir. *PKD1* c.4196G>A (p.Trp1399\*) değişikliği çalışmamızda bilinen böbrek hastalığı olmayan 4 kişide tespit edilen popülasyon veri tabanlarında sıklığı bilinmeyen nadir bir değişikliktir. Bilindiği kadarıyla hasta bireylerde tanımlanmamıştır. ClinVar 'da bir adet olası patojenik varyant girdisi olup varyant sınıflandırma kriterlerine göre de olası patojenik olarak değerlendirilmiştir. Varyant tespit edilen hastalardan üçü çocuk biri erişkin hastadır. Çocuk hastalarda OD böbrek hastalığı bulgu vermeyebilir. Genellikle erişkin bireylerde saptanır ve son dönem böbrek yetmezliğine ilerleyebilir. Hastalarda bilateral böbrek kistlerinin yanında karaciğer başta olmak üzere çoklu organ kistleri ve intrakraniyal anevrizma, mitral kapak prolapsusu ve aort diseksiyonu riskinde artış vardır (195). Hastaların daha erken dönemde hastalık riskini öğrenmesi yaşam tarzı değişiklikleri ve erken tanı ve tedavilerle böbrek sağlığının korunmasını olumlu yönde etkileyebilir. Ayrıca çocuk hastalarda erken dönem faydası tartışmalı olsa da ileriye dönük önlemler için katkısı olacak ve risk altındaki aile bireylerinin de taranmasını sağlayıp fayda görececek erişkinlere ulaşmayı sağlayacaktır. Risk altındaki hastalara nefrotoksik ajanların reçete edilmesinden kaçınılması açısından klinik uygulamalarda hekimlere de katkısı olacaktır.

Bu grupta değerlendirilen son gen *DMD*'dir. *DMD* genindeki P/ LP varyantlar , distrofin proteininde eksikliğe veya anormalliğe neden olarak Duchenne musküler distrofisi (DMD), Becker musküler distrofisi (BMD) ve *DMD* ile ilişkili dilate

kardiyomiyopati gibi hastalıklara yol açar (196). Bu gende 1'i homozigot olmak üzere 4 hastada varyant tespit edildi. Homozigot c.960+1G>T splice bölge varyantı saptanan 18 yaşındaki kadın hasta başka bir endikasyonla başvurmuş olup genetik analiz sürecinde BMD şüphesiyle tekrar değerlendirildi ve merdiven çıkarken zorlanma ve çabuk yorulma şikayetleri olduğu öğrenildi. Hastanın kreatin kinaz (CK) değerlendirmesinde anlamlı bir yükseklik saptanmaması üzerine hastaya kas biyopsisi önerildi ancak hasta kabul etmedi. BMD' de CK değerinin genellikle 5 kattan fazla yükselmesi beklenir (197). İlgili varyant ClinVar veri tabanında iki farklı kuruluşa ait olası patojenik varyant girdisine sahiptir. Girdilerden biri etkilenmiş bir bireyde tespit edildiğini göstermektedir (Variation ID: 1322321). Bu sebeple hastanın BMD tanısı kesinleştirilememiş veya tamamen dışlanamamış olup kas güçsüzlüğü açısından nörolojik takipleri devam etmektedir.

*DMD* geninde hastalık mekanizması çoğunlukla CNV ile gerçekleşmektedir. Bu sebeple YND ile yapılan çalışmalarda tesadüfi bulgu saptama oranı düşük olacaktır. Ancak yukarıda bahsedilen hastalarda olduğu gibi nadiren de olsa tek nükleotid değişiklikleri de saptanabilir. Taşıyıcı olan kadınların hasta bir erkek çocuk sahibi olma riskinin yüksek olması sebebiyle bu gende saptanan tesadüfi değişiklikler açısından bilgilendirilmesi faydalı olacaktır. Taşıyıcı bireylere genetik danışmanlık verilmesi preimplantasyon genetik tanı ve prenatal tanı olanaklarının sunulabilmesini kolaylaştıracaktır. Ayrıca tedavisi zor ve maliyetli olan bu hastalığın önlenmesi için sağlık politikalarına da destek olacaktır.

## 6. SONUÇLAR

Bu çalışmada 2383 hastanın KED çalışmasından elde edilen verilerinde saptanan ikincil bulgular retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada hem ACMG kılavuzu v3.2’de yer alan 81 gen hem de kılavuz dışı eyleme geçilebilirliği olan 23 gen ayrıntılı olarak incelenmiştir. Türk popülasyonun ikincil bulguların değerlendirildiği en kapsamlı çalışma olmakla birlikte kılavuz dışı tesadüfi bulguların değerlendirildiği ilk çalışmadır. Çalışmada CNV incelenmemiş olup sadece tek nükleotid varyantları değerlendirme kapsamına alınmıştır. Hastaların başvuru endikasyonları kaydedilmiş olup sahip olduğu birincil varyantlar ve biallelik hastalıklardaki taşıyıcılıklar ikincil bulgu saptama oranına dahil edilmemiştir. Buna göre 107 hastada ACMG kılavuzu v3.2’deki 81 gende raporlanabilir ikincil varyant tespit edilmiş ve ikincil bulgu sıklığının %4,49 olduğu görülmüştür. Raporlanabilir varyantı olmayan taşıyıcı bireylerin (n:225) sıklığı ise %9,44’ tür. Kılavuz dışı 23 gende ise 179 kişide rapor edilebilir tesadüfi bulgu saptanmış olup sıklık %7,55 olarak tespit edilmiştir. Raporlanabilir varyant olmadan taşıyıcılığa sahip 530 kişi olduğu bulunmuştur ve çalışmamız bu genlerde %22,2 gibi yüksek bir taşıyıcılık oranı göstermiştir.

KED, hem kılavuzda (v3.2) hem de kılavuz dışında yer alan ikincil bulguların saptanması için verimli bir testtir. Hastalara bu bulguların bildirilmesi hem erken tanı ve tedavi olanaklarına ulaşmalarını sağlayacak hem de risk altındaki diğer aile bireyelerine genetik danışmanlık verilmesinin ve gerektiğinde genetik test yapılabilmesinin yolunu açacaktır. Ayrıca gebelik isteği olan hastaların sonraki

nesiller için var olan riskleri, prenatal tanı ve preimplantasyon genetik tanı imkanlarından haberdar olmasına da katkısı olacaktır. Çocuk hastalarda ikincil bulguların bildirilmesine yönelik fikir ayrılıkları olsa da ikincil bulgulara odaklanarak yapılan erken müdahale ve izleme, sorunun etkisini azaltabilir ve bazı hastalarda semptomların ortaya çıkışını geciktirebilir, bu da klinik açıdan önemli bir avantaj sağlayacaktır. Ayrıca çalışmamızda tespit edilen yüksek taşıyıcılık oranları akraba evliliği oranlarının fazla olduğu ülkemizde genetik hastalık ortaya çıkma riskine vurgu yapmaktadır.

Çalışmamızda, ACMG kılavuzunda yer almayan genlerde tespit edilen değişikliklerin oranı, ikincil bulgu araştırmalarının tüm dünyada tek bir standart yerine her popülasyonun genetik altyapısını dikkate alarak farklı yaklaşımlarla düzenlenmesinin hem hastalara hem de akılcı sağlık politikalarına önemli katkılar sağlayabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızdan elde edilen veriler ışığında ülkemizde tarama programları kapsamında takip edilen *PAH*, *CFTR* ve *HBB* genlerine ek olarak, çalışmamızda sık rastlanan ve bazı kanser vakalarında da tespit edilen *CHEK2*, *ATM* ve *BRIP1* genlerinin; erkek çocuklarda yüksek hastalık riski nedeniyle kadınlarda *DMD* genindeki taşıyıcılık durumunun; penetransı yüksek olup böbrek hasarıyla sonuçlanan ve sonraki nesilleri önemli ölçüde etkileyen *PKD1* ve *PKD2* genlerinin; erken tanı, tedavi ve yaşam tarzı değişiklikleriyle hastalık prognozunu iyileştirme potansiyeli taşıyan *SLC7A9*, *SLC3A1* ve *MC4R* genlerinin; kanama ve pıhtılaşma riski bulunan bireylerde önleyici müdahaleler açısından kritik olan *VWF* ve *F5* genlerinin; ülkemizde yaygın olarak görülen ve tedavi ile başarılı sonuçlar alınabilen *MEFV* geninin; ayrıca bireylerin beslenme ve ilaç seçimlerini etkileyebilme potansiyeline sahip *G6PD* geninin, ikincil bulguların değerlendirilmesi açısından ülkemiz popülasyonu için eyleme geçilebilir genler olarak dikkate alınması gerektiği çıkarımı yapılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Mardis ER. Next-generation DNA sequencing methods. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2008;9:387-402.
2. French CE, Delon I, Dolling H, et al. Whole genome sequencing reveals that genetic conditions are frequent in intensively ill children. *Intensive care medicine.* 2019;45:627-36.
3. Willig LK, Petrikin JE, Smith LD, et al. Whole-genome sequencing for identification of Mendelian disorders in critically ill infants: a retrospective analysis of diagnostic and clinical findings. *The Lancet Respiratory Medicine.* 2015;3:377-87.
4. Shendure J, Ji H. Next-generation DNA sequencing. *Nature biotechnology.* 2008;26:1135-45.
5. Driessnack M, Daack-Hirsch S, Downing N, et al. The disclosure of incidental genomic findings: an “ethically important moment” in pediatric research and practice. *Journal of Community Genetics.* 2013;4:435-44.
6. Loud JT, Bremer RC, Mai PL, et al. Research participant interest in primary, secondary, and incidental genomic findings. *Genetics in Medicine.* 2016;18:1218-25.
7. Kohane IS, Hsing M, Kong SW. Taxonomizing, sizing, and overcoming the incidentalome. *Genetics in Medicine.* 2012;14:399-404.
8. Maani N, Panabaker K, McCuaig JM, et al. Incidental findings from cancer next generation sequencing panels. *NPJ Genomic Medicine.* 2021;6:63.
9. Kalia SS, Adelman K, Bale SJ, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2. 0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genetics in medicine.* 2017;19:249-55.
10. Green RC, Berg JS, Grody WW, et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genetics in medicine.* 2013;15:565-74.
11. Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, et al. ACMG SF v3. 1 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Elsevier; 2022. p. 1407-14.

12. Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, et al. ACMG SF v3. 2 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine*. 2023;25:100866.
13. Miller DT, Lee K, Gordon AS, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2021 update: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine*. 2021;23:1391-8.
14. Green ED, Waterston RH. The human genome project: Prospects and implications for clinical medicine. *JAMA*. 1991;266:1966-75.
15. Evans GA. The Human Genome Project and public policy. *Public understanding of science*. 1999;8:161.
16. Weissenbach J. The Human Genome Project: from mapping to sequencing 1998.
17. Bentley DR. The human genome project—an overview. *Medicinal research reviews*. 2000;20:189-96.
18. Murray JC, Buetow KH, Weber JL, et al. A comprehensive human linkage map with centimorgan density. *Science*. 1994;265:2049-54.
19. Dunham I, Hunt A, Collins J, et al. The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature*. 1999;402:489-95.
20. Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *science*. 2001;291:1304-51.
21. Lander ES. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001;409:860-921.
22. Gross P, Oelgeschläger T. The human genome project. *Design and information in biology From Molecules to systems*. 2007:97-126.
23. Gibbs RA. The human genome project changed everything. *Nature Reviews Genetics*. 2020;21:575-6.
24. Consortium IHGS. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*. 2004;431:931-45.
25. Mardis ER. A decade's perspective on DNA sequencing technology. *Nature*. 2011;470:198-203.
26. Collins FS, Patrinos A, Jordan E, et al. New goals for the US human genome project: 1998-2003. *science*. 1998;282:682-9.

27. Yadav P, Mahant S. Personalized Medicines: Reforming Diagnostics and Therapeutics. *Journal of Basic & Applied Sciences*. 2015;11:418-27.
28. Consortium GP. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015;526:68.
29. Collins FS, McKusick VA. Implications of the Human Genome Project for medical science. *Jama*. 2001;285:540-4.
30. Verma M, Kulshrestha S, Puri A. Genome sequencing. *Bioinformatics: Volume I: Data, Sequence Analysis, and Evolution*. 2017:3-33.
31. Maxam AM, Gilbert W. A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1977;74:560-4.
32. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences*. 1977;74:5463-7.
33. Schloss JA, Gibbs RA, Makhijani VB, Marziali A. Cultivating DNA sequencing technology after the human genome project. *Annual review of genomics and human genetics*. 2020;21:117-38.
34. Pareek CS, Smoczynski R, Tretyn A. Sequencing technologies and genome sequencing. *Journal of applied genetics*. 2011;52:413-35.
35. Tucker T, Marra M, Friedman JM. Massively parallel sequencing: the next big thing in genetic medicine. *The American Journal of Human Genetics*. 2009;85:142-54.
36. Nguyen HT, Le HT, Nguyen LT, Lou H, LaFramboise T. The applications of massive parallel sequencing (next-generation sequencing) in research and molecular diagnosis of human genetic diseases. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*. 2018;60:30-43.
37. Zhang J, Chiodini R, Badr A, Zhang G. The impact of next-generation sequencing on genomics. *Journal of genetics and genomics*. 2011;38:95-109.
38. Slatko BE, Gardner AF, Ausubel FM. Overview of next-generation sequencing technologies. *Current protocols in molecular biology*. 2018;122:e59.
39. Hu T, Chitnis N, Monos D, Dinh A. Next-generation sequencing technologies: An overview. *Human Immunology*. 2021;82:801-11.
40. Van Dijk EL, Jaszczyszyn Y, Naquin D, Thermes C. The third revolution in sequencing technology. *Trends in Genetics*. 2018;34:666-81.

41. Luthra R, Chen H, Roy-Chowdhuri S, Singh RR. Next-generation sequencing in clinical molecular diagnostics of cancer: advantages and challenges. *Cancers*. 2015;7:2023-36.
42. Rabbani B, Nakaoka H, Akhondzadeh S, Tekin M, Mahdih N. Next generation sequencing: implications in personalized medicine and pharmacogenomics. *Molecular biosystems*. 2016;12:1818-30.
43. Gwinn M, MacCannell D, Armstrong GL. Next-generation sequencing of infectious pathogens. *Jama*. 2019;321:893-4.
44. Evans JP, Powell BC, Berg JS. Finding the rare pathogenic variants in a human genome. *JAMA*. 2017;317:1904-5.
45. Caratti S, Turrina S, Ferriani M, Cosentino E, De Leo D. MiSeq FGx sequencing system: a new platform for forensic genetics. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2015;5:e98-e100.
46. Yuguda YM. Application of Next Generation Sequencing (NGS) technology in forensic science: A review. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 2023;23:155-9.
47. Liu Z, Roberts R, Shi T, Mikailov M, Tong W. Advancing Genomics for Rare Disease Diagnosis and Therapy Development. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:598889.
48. Ferreira CR. The burden of rare diseases. *American journal of medical genetics Part A*. 2019;179:885-92.
49. Baynam G, Pachter N, McKenzie F, et al. The rare and undiagnosed diseases diagnostic service—application of massively parallel sequencing in a state-wide clinical service. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2016;11:1-7.
50. Lee H, Deignan JL, Dorrani N, et al. Clinical exome sequencing for genetic identification of rare Mendelian disorders. *Jama*. 2014;312:1880-7.
51. Baynam G, Broley S, Bauskis A, et al. Initiating an undiagnosed diseases program in the Western Australian public health system. *Orphanet journal of rare diseases*. 2017;12:1-8.
52. Ozguc Caliskan B, Uslu K, Sinim Kahraman N, Erkilic K, Oner A, Dundar M. Beyond the phenotype: Exploring inherited retinal diseases with targeted next-generation sequencing in a Turkish cohort. *Clinical Genetics*. 2024.

53. Warman Chardon J, Beaulieu C, Hartley T, Boycott KM, Dymment DA. Axons to exons: the molecular diagnosis of rare neurological diseases by next-generation sequencing. *Current neurology and neuroscience reports*. 2015;15:1-8.
54. Han S, Park J, Lee J, et al. Targeted next-generation sequencing for comprehensive genetic profiling of pharmacogenes. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2017;101:396-405.
55. Gordon AS, Fulton RS, Qin X, Mardis ER, Nickerson DA, Scherer S. PGRNseq: a targeted capture sequencing panel for pharmacogenetic research and implementation. *Pharmacogenetics and genomics*. 2016;26:161-8.
56. Gulilat M, Lamb T, Teft WA, et al. Targeted next generation sequencing as a tool for precision medicine. *BMC medical genomics*. 2019;12:1-17.
57. Fear VS, Forbes CA, Anderson D, et al. CRISPR single base editing, neuronal disease modelling and functional genomics for genetic variant analysis: pipeline validation using Kleefstra syndrome EHMT1 haploinsufficiency. *Stem Cell Research & Therapy*. 2022;13:69.
58. Stranneheim H, Lagerstedt-Robinson K, Magnusson M, et al. Integration of whole genome sequencing into a healthcare setting: high diagnostic rates across multiple clinical entities in 3219 rare disease patients. *Genome Medicine*. 2021;13:1-15.
59. Souche E, Beltran S, Brosens E, et al. Recommendations for whole genome sequencing in diagnostics for rare diseases. *European journal of human genetics*. 2022;30:1017-21.
60. Lee S, Choi M. Ultra-rare disease and genomics-driven precision medicine. *Genomics & informatics*. 2016;14:42.
61. Liu Z, Zhu L, Roberts R, Tong W. Toward clinical implementation of next-generation sequencing-based genetic testing in rare diseases: where are we? *Trends in Genetics*. 2019;35:852-67.
62. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine*. 2015;17:405-23.
63. Harrison SM, Dolinsky JS, Knight Johnson AE, et al. Clinical laboratories collaborate to resolve differences in variant interpretations submitted to ClinVar. *Genetics in Medicine*. 2017;19:1096-104.

64. Tavtigian SV, Greenblatt MS, Harrison SM, et al. Modeling the ACMG/AMP variant classification guidelines as a Bayesian classification framework. *Genetics in medicine*. 2018;20:1054-60.
65. Abou Tayoun AN, Pesaran T, DiStefano MT, et al. Recommendations for interpreting the loss of function PVS1 ACMG/AMP variant criterion. *Human mutation*. 2018;39:1517-24.
66. Mester JL, Ghosh R, Pesaran T, et al. Gene-specific criteria for PTEN variant curation: Recommendations from the ClinGen PTEN expert panel. *Human mutation*. 2018;39:1581-92.
67. Pejaver V, Byrne AB, Feng B-J, et al. Calibration of computational tools for missense variant pathogenicity classification and ClinGen recommendations for PP3/BP4 criteria. *The American Journal of Human Genetics*. 2022;109:2163-77.
68. Brnich SE, Abou Tayoun AN, Couch FJ, et al. Recommendations for application of the functional evidence PS3/BS3 criterion using the ACMG/AMP sequence variant interpretation framework. *Genome medicine*. 2020;12:1-12.
69. Kountouris P, Stephanou C, Lederer CW, et al. Adapting the ACMG/AMP variant classification framework: A perspective from the ClinGen Hemoglobinopathy Variant Curation Expert Panel. *Human Mutation*. 2022;43:1089-96.
70. Plazzer JP, Macrae F, Yin X, et al. Mismatch repair gene specifications to the ACMG/AMP classification criteria: Consensus recommendations from the InSiGHT ClinGen Hereditary Colorectal Cancer/Polyposis Variant Curation Expert Panel. *medRxiv*. 2024:2024.05. 13.24307108.
71. Orlov YL, Baranova AV. Bioinformatics of genome regulation and systems biology. *Frontiers Media SA*; 2020. p. 625.
72. Roy S, Coldren C, Karunamurthy A, et al. Standards and guidelines for validating next-generation sequencing bioinformatics pipelines: a joint recommendation of the Association for Molecular Pathology and the College of American Pathologists. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2018;20:4-27.
73. Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nature Reviews Genetics*. 2011;12:745-55.
74. Ashley EA, Butte AJ, Wheeler MT, et al. Clinical assessment incorporating a personal genome. *The Lancet*. 2010;375:1525-35.
75. Berg JS, Adams M, Nassar N, et al. An informatics approach to analyzing the incidentalome. *Genetics in Medicine*. 2013;15:36-44.

76. Wolf SM, Annas GJ, Elias S. Patient autonomy and incidental findings in clinical genomics. *Science*. 2013;340:1049-50.
77. Ochieng J, Kwagala B, Barugahare J, et al. Perspectives and experiences of researchers regarding feedback of incidental genomic research findings: A qualitative study. *PloS one*. 2022;17:e0273657.
78. Lohn Z, Adam S, Birch P, Friedman J. Incidental findings from clinical genome-wide sequencing: a review. *Journal of Genetic Counseling*. 2014;23:463-73.
79. Weiner C. Anticipate and communicate: Ethical management of incidental and secondary findings in the clinical, research, and direct-to-consumer contexts (December 2013 report of the Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues). *American Journal of Epidemiology*. 2014;180:562-4.
80. Baldwin EE, Boudreault P, Fox M, Sinsheimer JS, Palmer CG. Effect of pre-test genetic counseling for deaf adults on knowledge of genetic testing. *Journal of Genetic Counseling*. 2012;21:256-72.
81. Thomas M, Amlie-Wolf L, Baker L, Gripp KW. The Genetic Testing Stewardship Program:: A Bridge to Precision Diagnostics for the Non-genetics Medical Provider. *Delaware Journal of Public Health*. 2021;7:20.
82. Rudd I, Gill G, Buckley M, Downie L. An incidental finding in prenatal exome sequencing—A case study and review of the clinical and ethical considerations. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2023;191:2856-9.
83. Scheuner MT, Peredo J, Benkendorf J, et al. Reporting genomic secondary findings: ACMG members weigh in. *Genetics in Medicine*. 2015;17:27-35.
84. Carmona R, Perez-Florido J, Roldan G, et al. Unveiling the Landscape of Reportable Genetic Secondary Findings in the Spanish Population: A Comprehensive Analysis Using the Collaborative Spanish Variant Server Database. *medRxiv*. 2024:2024.08. 01.24311343.
85. Saeidian AH, March ME, Youssefian L, et al. Secondary ACMG and non-ACMG genetic findings in a multiethnic cohort of 16,713 pediatric participants. *Genetics in Medicine*. 2024;26:101225.
86. Webber EM, Hunter JE, Biesecker LG, et al. Evidence-based assessments of clinical actionability in the context of secondary findings: Updates from ClinGen's Actionability Working Group. *Human mutation*. 2018;39:1677-85.

87. O'Daniel JM, McLaughlin HM, Amendola LM, et al. A survey of current practices for genomic sequencing test interpretation and reporting processes in US laboratories. *Genetics in Medicine*. 2017;19:575-82.
88. Ormond KE, O'Daniel JM, Kalia SS. Secondary findings: How did we get here, and where are we going? *Journal of Genetic Counseling*. 2019;28:326-33.
89. Chen W, Li W, Ma Y, et al. Secondary findings in 421 whole exome-sequenced Chinese children. *Human Genomics*. 2018;12:1-6.
90. Bowling KM, Thompson ML, Kelly MA, et al. Return of non-ACMG recommended incidental genetic findings to pediatric patients: considerations and opportunities from experiences in genomic sequencing. *Genome medicine*. 2022;14:131.
91. Gray SW, Park ER, Najita J, et al. Oncologists' and cancer patients' views on whole-exome sequencing and incidental findings: results from the CanSeq study. *Genetics in Medicine*. 2016;18:1011-9.
92. Middleton A, Morley KI, Bragin E, et al. Attitudes of nearly 7000 health professionals, genomic researchers and publics toward the return of incidental results from sequencing research. *European Journal of Human Genetics*. 2016;24:21-9.
93. Rahm AK, Wrenn M, Carroll NM, Feigelson HS. Biobanking for research: a survey of patient population attitudes and understanding. *Journal of community genetics*. 2013;4:445-50.
94. Lemke AA, Hulick PJ, Wake DT, et al. Patient perspectives following pharmacogenomics results disclosure in an integrated health system. *Pharmacogenomics*. 2018;19:321-31.
95. Westerfield L, Darilek S, Van den Veyver IB. Counseling challenges with variants of uncertain significance and incidental findings in prenatal genetic screening and diagnosis. *Journal of Clinical Medicine*. 2014;3:1018-32.
96. Fernandez CV, Strahlendorf C, Avard D, et al. Attitudes of Canadian researchers toward the return to participants of incidental and targeted genomic findings obtained in a pediatric research setting. *Genetics in Medicine*. 2013;15:558-64.
97. Abdul-Karim R, Berkman BE, Wendler D, et al. Disclosure of incidental findings from next-generation sequencing in pediatric genomic research. *Pediatrics*. 2013;131:564-71.

98. Hart MR, Biesecker BB, Blout CL, et al. Secondary findings from clinical genomic sequencing: prevalence, patient perspectives, family history assessment, and health-care costs from a multisite study. *Genetics in Medicine*. 2019;21:1100-10.
99. Swanson K, Sparks TN, Lianoglou BR, et al. Preference for secondary findings in prenatal and pediatric exome sequencing. *Prenatal diagnosis*. 2022;42:753-61.
100. Meacham MC, Starks H, Burke W, Edwards K. Researcher perspectives on disclosure of incidental findings in genetic research. *Journal of Empirical Research on Human Research Ethics*. 2010;5:31-41.
101. Levesque S, Polasek TM, Haan E, Shakib S. Attitudes of healthy volunteers to genetic testing in phase 1 clinical trials. *F1000Research*. 2021;10.
102. Wolf SM, Branum R, Koenig BA, et al. Returning a research participant's genomic results to relatives: analysis and recommendations. *Journal of Law, Medicine & Ethics*. 2015;43:440-63.
103. Ells C, Thombs BD. The ethics of how to manage incidental findings. *CMAJ*. 2014;186:655-6.
104. Boycott K, Hartley T, Adam S, et al. The clinical application of genome-wide sequencing for monogenic diseases in Canada: position statement of the Canadian College of Medical Geneticists. *Journal of Medical Genetics*. 2015;52:431-7.
105. Van El CG, Cornel MC, Borry P, et al. Whole-genome sequencing in health care. *European Journal of Human Genetics*. 2013;21:580-4.
106. Matthijs G, Souche E, Alders M, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *European Journal of Human Genetics*. 2016;24:2-5.
107. Arslan Ateş E, Türkyilmaz A, Yıldırım Ö, et al. Secondary findings in 622 Turkish clinical exome sequencing data. *Journal of Human Genetics*. 2021;66:1113-9.
108. Balasar Ö, Başdemirci M. Tüm Ekzom Dizileme Verilerinde İkincil Bulguların Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*. 2024;44:91-6.
109. Demir O, Sağlam KA, Yılmaz M, Apuhan T, Cebi AH, Turkyilmaz A. Secondary findings in genes related to cancer phenotypes in Turkish exome sequencing data from 2020 individuals. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2024;194:e63806.
110. Yamaguchi-Kabata Y, Yasuda J, Tanabe O, et al. Evaluation of reported pathogenic variants and their frequencies in a Japanese population based on a whole-

genome reference panel of 2049 individuals. *Journal of human genetics*. 2018;63:213-30.

111. Jain A, Gandhi S, Koshy R, Scaria V. Incidental and clinically actionable genetic variants in 1005 whole exomes and genomes from Qatar. *Molecular Genetics and Genomics*. 2018;293:919-29.

112. Kuo CW, Hwu WL, Chien YH, et al. Frequency and spectrum of actionable pathogenic secondary findings in Taiwanese exomes. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*. 2020;8:e1455.

113. Rodríguez-Salgado LE, Silva-Aldana CT, Medina-Méndez E, et al. Frequency of actionable Exomic secondary findings in 160 Colombian patients: Impact in the healthcare system. *Gene*. 2022;838:146699.

114. Jensson BO, Arnadottir GA, Katrinardottir H, et al. Actionable genotypes and their association with life span in Iceland. *New England Journal of Medicine*. 2023;389:1741-52.

115. Lawrence L, Sincan M, Markello T, et al. The implications of familial incidental findings from exome sequencing: the NIH Undiagnosed Diseases Program experience. *Genetics in Medicine*. 2014;16:741-50.

116. Jang M, Lee S-H, Kim N, Ki C-S. Frequency and spectrum of actionable pathogenic secondary findings in 196 Korean exomes. *Genetics in Medicine*. 2015;17:1007-11.

117. Tang CS-m, Dattani S, So M-t, et al. Actionable secondary findings from whole-genome sequencing of 954 East Asians. *Human genetics*. 2018;137:31-7.

118. Aloraini T, Alsubaie L, Alasker S, et al. The rate of secondary genomic findings in the Saudi population. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2022;188:83-8.

119. Martone S, Buonagura AT, Marra R, et al. Clinical exome-based panel testing for medically actionable secondary findings in a cohort of 383 Italian participants. *Frontiers in Genetics*. 2022;13:956723.

120. Gordon AS, Zouk H, Venner E, et al. Frequency of genomic secondary findings among 21,915 eMERGE network participants. *Genetics in Medicine*. 2020;22:1470-7.

121. Jalkh N, Mehawej C, Chouery E. Actionable exomic secondary findings in 280 Lebanese participants. *Frontiers in Genetics*. 2020;11:208.

122. Huang Y, Liu B, Shi J, et al. Landscape of secondary findings in Chinese population: a practice of ACMG SF v3. 0 list. *Journal of Personalized Medicine*. 2022;12:1503.
123. Chetruengchai W, Shotelersuk V. Actionable secondary findings in the 73 ACMG-recommended genes in 1559 Thai exomes. *Journal of human genetics*. 2022;67:137-42.
124. Skrahin A, Cheema HA, Hussain M, et al. Secondary findings in a large Pakistani cohort tested with whole genome sequencing. *Life Science Alliance*. 2023;6.
125. Kim Y, Kim J-M, Cho H-W, Park H-Y, Park M-H. Frequency of actionable secondary findings in 7472 Korean genomes derived from the National Project of Bio Big Data pilot study. *Human Genetics*. 2023;142:1561-9.
126. Elfatih A, Mifsud B, Syed N, et al. Actionable genomic variants in 6045 participants from the Qatar Genome Program. *Human Mutation*. 2021;42:1584-601.
127. Elfatih A, Saad C, Biobank, et al. Analysis of 14,392 whole genomes reveals 3.5% of Qataris carry medically actionable variants. *European Journal of Human Genetics*. 2024:1-9.
128. Laken SJ, Petersen GM, Gruber SB, et al. Familial colorectal cancer in Ashkenazim due to a hypermutable tract in APC. *Nature genetics*. 1997;17:79-83.
129. Boursi B, Sella T, Liberman E, et al. The APC p. I1307K polymorphism is a significant risk factor for CRC in average risk Ashkenazi Jews. *European journal of cancer*. 2013;49:3680-5.
130. Liang J, Lin C, Hu F, et al. APC polymorphisms and the risk of colorectal neoplasia: a HuGE review and meta-analysis. *American journal of epidemiology*. 2013;177:1169-79.
131. Rozen P, Naiman T, Strul H, et al. Clinical and screening implications of the I1307K adenomatous polyposis coli gene variant in Israeli Ashkenazi Jews with familial colorectal neoplasia: Evidence for a founder effect. *Cancer*. 2002;94:2561-8.
132. Gryfe R, Di Nicola N, Lal G, Gallinger S, Redston M. Inherited colorectal polyposis and cancer risk of the APC I1307K polymorphism. *The American Journal of Human Genetics*. 1999;64:378-84.
133. Leshno A, Shapira S, Liberman E, et al. The APC I1307K allele conveys a significant increased risk for cancer. *International Journal of Cancer*. 2016;138:1361-7.

134. Dunder M, Caglayan AO, Saatci C, et al. How the I1307K adenomatous polyposis coli gene variant contributes in the assessment of risk of colorectal cancer, but not stomach cancer, in a Turkish population. *Cancer genetics and cytogenetics*. 2007;177:95-7.
135. Gupta S, Provenzale D, Regenbogen SE, et al. NCCN guidelines insights: genetic/familial high-risk assessment: colorectal, version 3.2017. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2017;15:1465-75.
136. Swango KL, Demirkol M, Hüner G, et al. Partial biotinidase deficiency is usually due to the D444H mutation in the biotinidase gene. *Human genetics*. 1998;102:571-5.
137. Strovel ET, Cowan TM, Scott AI, Wolf B. Laboratory diagnosis of biotinidase deficiency, 2017 update: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genetics in Medicine*. 2017;19:1079-.
138. Karaca M, Özgül RK, Ünal Ö, et al. Detection of biotinidase gene mutations in Turkish patients ascertained by newborn and family screening. *European journal of pediatrics*. 2015;174:1077-84.
139. Leslie N, Bailey L. Pompe disease 2017.
140. Dardis A, Zanin I, Zampieri S, et al. Functional characterization of the common c.-32-13T> G mutation of GAA gene: identification of potential therapeutic agents. *Nucleic Acids Research*. 2013;42:1291-302.
141. Hule M, Chen A, Tsujino S, et al. Aberrant splicing in adult onset glycogen storage disease type II (GSDII): molecular identification of an IVS1 (-13T→ G) mutation in a majority of patients and a novel IVS10 (+ 1GT→ CT) mutation. *Human molecular genetics*. 1994;3:2231-6.
142. Gitlin JD. Wilson disease. *Gastroenterology*. 2003;125:1868-77.
143. Toss A, Tenedini E, Piombino C, et al. Clinicopathologic profile of breast cancer in germline ATM and CHEK2 mutation carriers. *Genes*. 2021;12:616.
144. Stubbins RJ, Korotev S, Godley LA. Germline CHEK2 and ATM variants in myeloid and other hematopoietic malignancies. *Current Hematologic Malignancy Reports*. 2022;17:94-104.
145. Freiman L, Larcher L, Tueur G, et al. Germline CHEK2 mutations in patients with myeloid neoplasms. *Leukemia*. 2024;38:908-11.

146. Tsaousis GN, Papadopoulou E, Apeessos A, et al. Analysis of hereditary cancer syndromes by using a panel of genes: novel and multiple pathogenic mutations. *BMC cancer*. 2019;19:1-19.
147. Akcay IM, Celik E, Agaoglu NB, et al. Germline pathogenic variant spectrum in 25 cancer susceptibility genes in Turkish breast and colorectal cancer patients and elderly controls. *International Journal of Cancer*. 2021;148:285-95.
148. Mutlu-Albayrak H, Kirat E, Gürbüz G. Childhood-onset autosomal recessive ataxias: a cross-sectional study from Turkey. *neurogenetics*. 2020;21:59-66.
149. Asadollahi R, Britschgi C, Joset P, et al. Severe reaction to radiotherapy provoked by hypomorphic germline mutations in ATM (ataxia–telangiectasia mutated gene). *Molecular genetics & genomic medicine*. 2020;8:e1409.
150. Uludağ A, Uysal A, Ertekin Y, et al. Prevalence and mutations of  $\beta$ -thalassemia trait and abnormal hemoglobins in premarital screening in Çanakkale province, Turkey. *Balkan Journal of Medical Genetics*. 2016;19:29-34.
151. Sönmez Ç, ÖZTÜRK-KAYMAK A, Güntaş G. Halk sağlığı problemi olan talasemilerde laboratuvar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 2014;71:221-8.
152. Canatan D. Thalassemias and hemoglobinopathies in Turkey. *Hemoglobin*. 2014;38:305-7.
153. Das S, Mashon RS. Coinheritance of Hb D-Punjab and  $\beta$ -thalassemia: Diagnosis and implications in prenatal diagnosis. *Hemoglobin*. 2015;39:138-40.
154. Patel D, Purohit P, Dehury S, et al. Fetal hemoglobin and alpha thalassemia modulate the phenotypic expression of Hb SD-Punjab. *International journal of laboratory hematology*. 2014;36:444-50.
155. Luzzatto L, Ally M, Notaro R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2020;136:1225-40.
156. Yildiz SM, Ariyurek SY, Tahiroglu M, Aksoy K. Detection of 1311 polymorphism in the glucose-6-phosphate dehydrogenase gene by microarray technique. *Archives of Medical Science*. 2011;7:586-91.
157. Lee HY, Ithnin A, Azma RZ, Othman A, Salvador A, Cheah FC. Glucose-6-Phosphate dehydrogenase deficiency and neonatal hyperbilirubinemia: Insights on pathophysiology, diagnosis, and gene variants in disease heterogeneity. *Frontiers in Pediatrics*. 2022;10:875877.

158. Molou E, Schulpis KH, Thodi G, et al. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) deficiency in Greek newborns: the Mediterranean C563T mutation screening. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2014;74:259-63.
159. Greengard J, Sun X, Xu X, Fernandez J, Griffin J, Evatt B. Activated protein C resistance caused by Arg506Gln mutation in factor Va. *The Lancet*. 1994;343:1361-2.
160. Spector EB, Grody WW, Matteson CJ, et al. Technical standards and guidelines: venous thromboembolism (Factor V Leiden and prothrombin 20210G> A testing): a disease-specific supplement to the standards and guidelines for clinical genetics laboratories. *Genetics in Medicine*. 2005;7:444-53.
161. Pastori D, Menichelli D, Valeriani E, Pignatelli P. Factor V Leiden Thrombophilia. *GeneReviews*<sup>®</sup>[Internet]: University of Washington, Seattle; 2024.
162. Williamson D, Brown K, Luddington R, Baglin C, Baglin T. Factor V Cambridge: a new mutation (Arg306→ Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 1998;91:1140-4.
163. Bowen DJ, Standen G, Mazurier C, et al. Type 2N von Willebrand disease: rapid genetic diagnosis of G2811A (R854Q), C2696T (R816W), T2701A (H817Q) and G2823T (C858F)—detection of a novel candidate type 2N mutation: C2810T (R854W). *Thrombosis and haemostasis*. 1998;80:32-6.
164. Casonato A, Daidone V, Barbon G, et al. A common ancestor more than 10,000 years old for patients with R854Q-related type 2N von Willebrand's disease in Italy. *haematologica*. 2013;98:147.
165. Kasatkar P, Shetty S, Ghosh K. Genetic heterogeneity in a large cohort of Indian type 3 von Willebrand disease patients. *PLoS One*. 2014;9:e92575.
166. Gupta P, Saxena R, Adamtziki E, et al. Genetic defects in von Willebrand disease type 3 in Indian and Greek patients. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2008;41:219-22.
167. Federici AB, Mannucci PM, Castaman G, et al. Clinical and molecular predictors of thrombocytopenia and risk of bleeding in patients with von Willebrand disease type 2B: a cohort study of 67 patients. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2009;113:526-34.

168. Holmberg L, Dent J, Schneppenheim R, Budde U, Ware J, Ruggeri Z. von Willebrand factor mutation enhancing interaction with platelets in patients with normal multimeric structure. *The Journal of clinical investigation*. 1993;91:2169-77.
169. Miller AC, Comellas AP, Hornick DB, et al. Cystic fibrosis carriers are at increased risk for a wide range of cystic fibrosis-related conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117:1621-7.
170. Shi Z, Wei J, Na R, et al. Cystic fibrosis F508del carriers and cancer risk: Results from the UK Biobank. *International Journal of Cancer*. 2021;148:1658-64.
171. Polgreen PM, Comellas AP. Clinical phenotypes of cystic fibrosis carriers. *Annual review of medicine*. 2022;73:563-74.
172. Forzan M, Salviati L, Pertegato V, et al. Is CFTR 621+3 A>G a cystic fibrosis causing mutation? *Journal of human genetics*. 2010;55:23-6.
173. Amato F, Bellia C, Cardillo G, et al. Extensive molecular analysis of patients bearing CFTR-related disorders. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2012;14:81-9.
174. Soltysova A, Tothova Tarova E, Ficek A, et al. Comprehensive genetic study of cystic fibrosis in Slovak patients in 25 years of genetic diagnostics. *The Clinical Respiratory Journal*. 2018;12:1197-206.
175. Sermet-Gaudelus I, Girodon E, Roussel D, et al. Measurement of nasal potential difference in young children with an equivocal sweat test following newborn screening for cystic fibrosis. *Thorax*. 2010;65:539-44.
176. D'Ambrosio V, Capolongo G, Goldfarb D, Gambaro G, Ferraro PM. Cystinuria: an update on pathophysiology, genetics, and clinical management. *Pediatric Nephrology*. 2022:1-7.
177. Barbosa M, Lopes A, Mota C, et al. Clinical, biochemical and molecular characterization of cystinuria in a cohort of 12 patients. *Clinical genetics*. 2012;81:47-55.
178. Sadiq S, Cil O. Cystinuria: An overview of diagnosis and medical management. *Turkish archives of pediatrics*. 2022;57:377.
179. Langen H, von Kietzell D, Byrd D, et al. Renal polyamine excretion, tubular amino acid reabsorption and molecular genetics in cystinuria. *Pediatric nephrology*. 2000;14:376-84.
180. Espino M, Font-Llitjós M, Vilches C, et al. Digenic inheritance in cystinuria mouse model. *Plos one*. 2015;10:e0137277.

181. Font-Llitjos M, Jimenez-Vidal M, Bisceglia L, et al. New insights into cystinuria: 40 new mutations, genotype–phenotype correlation, and digenic inheritance causing partial phenotype. *Journal of medical genetics*. 2005;42:58-68.
182. Font M, Feliubadaló Ld, Estivill X, et al. Functional analysis of mutations in SLC7A9, and genotype–phenotype correlation in non-Type I cystinuria. *Human molecular genetics*. 2001;10:305-16.
183. Shang W, Li Y, Ren Y, Yang Y, Li H, Dong J. Nephrolithiasis and risk of hypertension: a meta-analysis of observational studies. *BMC nephrology*. 2017;18:1-6.
184. Zisman AL, Evan AP, Coe FL, Worcester EM. Do kidney stone formers have a kidney disease? *Kidney international*. 2015;88:1240-9.
185. Uribarri J. Chronic kidney disease and kidney stones. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2020;29:237-42.
186. Rhodes HL, Yarram-Smith L, Rice SJ, et al. Clinical and genetic analysis of patients with cystinuria in the United Kingdom. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2015;10:1235-45.
187. Ozen S, Karaaslan Y, Ozdemir O, et al. Prevalence of juvenile chronic arthritis and familial Mediterranean fever in Turkey: a field study. *The Journal of rheumatology*. 1998;25:2445-9.
188. Dundar M, Fahrioglu U, Yildiz SH, et al. Clinical and molecular evaluation of MEFV gene variants in the Turkish population: a study by the National Genetics Consortium. *Functional & integrative genomics*. 2022;22:291-315.
189. Consortium IF. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell*. 1997;90:797-807.
190. Rowczenio DM, Iancu DS, Trojer H, et al. Autosomal dominant familial Mediterranean fever in Northern European Caucasians associated with deletion of p. M694 residue—a case series and genetic exploration. *Rheumatology*. 2017;56:209-13.
191. Gasparini P, Rabionet R, Barbujani G, et al. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. *European Journal of Human Genetics*. 2000;8:19-23.
192. Janecke AR, Hirst-Stadlmann A, Günther B, et al. Progressive hearing loss, and recurrent sudden sensorineural hearing loss associated with GJB2 mutations—phenotypic spectrum and frequencies of GJB2 mutations in Austria. *Human genetics*. 2002;111:145-53.

193. Smith RJ, Azaiez H, Booth K. GJB2-related autosomal recessive nonsyndromic hearing loss2016.
194. Shen J, Oza AM, Del Castillo I, et al. Consensus interpretation of the p. Met34Thr and p. Val37Ile variants in GJB2 by the ClinGen Hearing Loss Expert Panel. *Genetics in Medicine*. 2019;21:2442-52.
195. Harris PC, Torres VE. Polycystic kidney disease, autosomal dominant2018.
196. Darras BT, Menache-Starobinski CC, Hinton V, Kunkel LM. Dystrophinopathies. *Neuromuscular disorders of Infancy, childhood, and adolescence*. 2015:551-92.
197. Thada PK, Bhandari J, Forshaw KC, Umapathi KK. Becker muscular dystrophy. *StatPearls [Internet]: StatPearls Publishing; 2024*.

