

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SINIFLANDIRILAMAYAN SİLİYOPATİLERDEN
ETKİLENMİŞ HASTALARDA
TÜM EKZOM DİZİLEME YÖNTEMİYLE
MOLEKÜLER ETİYOLOJİNİN BELİRLENMESİ**

Doç. Dr. Özlem AKGÜN DOĞAN

**Genetik Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2024**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SINIFLANDIRILAMAYAN SİLİYOPATİLERDEN
ETKİLENMİŞ HASTALARDA
TÜM EKZOM DİZİLEME YÖNTEMİYLE
MOLEKÜLER ETİYOLOJİNİN BELİRLENMESİ**

Doç. Dr. Özlem AKGÜN DOĞAN

**Genetik Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Gülen Eda UTİNE**

**ANKARA
2024**

ONAY SAYFASI

Hacettepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Sınıflandırılmayan Siliyopatilerden Etkilenmiş Hastalarda Tüm Ekzom Dizileme

Yöntemiyle Moleküler Etiyolojinin Belirlenmesi

Öğrencinin Adı Soyadı: Özlem Akgün Doğan

Danışman: Prof. Dr. Gülen Eda Utine

Bu tez çalışması 17.01.2024 tarihinde jürimiz tarafından " Genetik Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Mehmet Alikashiçođlu (<i>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi</i>)	(<i>imza</i>)
Üye:	Prof. Dr. Fatih Süheyl Ezgü (<i>Gazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi</i>)	(<i>imza</i>)
Üye:	Prof. Dr. Deniz Doğru Ersöz (<i>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi</i>)	(<i>imza</i>)
Üye:	Prof. Dr. Pelin Özlem Şimşek Kiper (<i>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi</i>)	(<i>imza</i>)
Üye:	Doç. Dr. Hatice Mutlu (<i>Ankara Üniversitesi Tıp Fakóltesi</i>)	(<i>imza</i>)

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Müge YEMİŞCİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan "**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**" kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

13/02 /2024

(İmza)

Özlem Akgün Doğan

i

ⁱ"Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge"

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Prof. Dr. Gülen Eda Utine danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.

Doç. Dr. Özlem Akgün Doğan

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bana rehberlik eden, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan tüm hocalarıma ve akademik yolculuğumda yanımda olan herkese en derin şükranlarımı sunarım.

Prof. Dr. Gülen Eda Utine ve Prof. Dr. Pelin Özlem Şimşek Kiper, hem doktora hem de çocuk genetik hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca hocalarım ve ablalarım olarak bana ışık tuttunuz, yol gösterdiniz. Sizlerle çalışmak benim için büyük bir onurdu, çok teşekkür ederim.

Bana olan inancı ve her alanda sunduğu destek için Prof. Dr. Koray Boduroğlu'na, bakış açımı genişleten değerli öğütleri için Prof. Dr. Mehmet Alikışıfoğlu'na teşekkür ederim.

Tezim ile ilgili laboratuvar sürecimde yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Ekim Taşkiran ve Bio. Serkan Kabaçam' a teşekkür ederim.

Tez izleme komitemde yer alarak değerli zamanını ayıran Prof. Dr. Fatih S. Ezgü'ye şükranlarımı sunarım.

Destek ve motivasyonu her zaman yanımda olan Prof. Dr. Yasemin Alanay'a teşekkür ederim.

Aynı yollarda yürümenin büyük keyif verdiği, beraberken mutlulukların arttığı, sıkıntıların ise bir anda azaldığı canım kardeşim Dr. Gizem Ürel Demir'e, her zaman yanımda olduğu ve her koşulda beni desteklediği için çok teşekkür ederim.

Son olarak, sevgi ve desteklerini bir an olsun esirgemeyen sevgili ailem, canım anne ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Akgün Doğan Ö., Sınıflandırılmayan Siliyopatilerden Etkilenmiş Hastalarda Tüm Ekzom Dizileme Yöntemiyle Moleküler Etiyolojinin Belirlenmesi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik Programı Doktora Tezi, Ankara, 2024. Siliyopatiler, silya ve sentrozom ile ilişkili proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkan geniş bir hastalık grubudur. Bu çalışmanın amacı, siliyopati şüphesi ile izlenen hastalarda yeni nesil dizileme teknolojisi kullanarak moleküler etiyolojiyi aydınlatmak, genotipik-fenotipik spektrumunu genişletmektir. Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya çoklu anomali, global gelişme geriliği, dismorfik bulgular veya tekrarlayan akciğer enfeksiyonu nedeniyle siliyopati grubu hastalık ön tanısı ile izlenen sekiz hasta dahil edilmiş; demografik özellikler, klinik öykü, laboratuvar ve radyolojik bulgular kaydedilmiştir. Hastalara ait periferik kan örneğinden DNA izole edilerek bu örneklerde tüm ekzom dizileme gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda sekiz hastanın beşinde (%62,5) altta yatan moleküler etiyoloji aydınlatılmıştır. Tanı konulan hastalarda nedensel varyant saptanan genler *BBS10*, *TTC26*, *CC2D2A* ve *CEP290* olarak belirlenmiştir. Bu genlerde saptanan toplam altı varyanttan, üçünün daha önce bildirilmediği tespit edilmiştir. Hastalarda saptanan bulgulardan tuba uterina atrezisi *BBS10* geniyle ilişkili ve obezite ve hemofagositik sendrom *CC2D2A* geniyle ilişkili olabilecek daha önce tanımlanmamış klinik bulgular olarak belirlenmiştir. Moleküler tanı konulamayan hastalardan ikisinde herhangi bir aday varyant saptanamazken, bir hastada *KRT71* geninde hastadaki saç bulgularını açıklayabilecek bir aday varyant tespit edilmiştir. Bulgularımız siliyopati grubu hastalıklar ile ilgili fenotipik ve genotipik spektrumun genişletilmesine katkıda bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Silya, siliyopati, varyant, genotip, fenotip, tüm ekzom dizilemesi

ABSTRACT

Akgün Doğan Ö., Determination of Molecular Etiology by Using Whole Exome Sequencing in Patients Affected by Unclassified Ciliopathies, Hacettepe University, Graduate School of Health Sciences, Genetics Program Doctoral Thesis, Ankara, 2024. Ciliopathies are a broad group of diseases that arise due to mutations in genes coding for proteins associated with cilia and centrosomes. The aim of this study is to elucidate the molecular etiology in patients with a suspicion of ciliopathy using next-generation sequencing and to expand the genotypic-phenotypic spectrum. The study was conducted at Hacettepe University, Department of Pediatrics, Department of Pediatric Genetic Diseases. Eight patients with a preliminary diagnosis of ciliopathy due to multiple anomalies, global developmental delay, dysmorphic features, or recurrent lung infections, were included in the study. Demographic characteristics, clinical history, laboratory and radiological findings were recorded. Whole exome sequencing was performed on DNA samples isolated from peripheral blood. The underlying molecular etiology was elucidated in five of the eight patients (62.5%). In the diagnosed group, causal variants were identified in *BBS10*, *TTC26*, *CC2D2A*, and *CEP290* genes. Of the total 6 variants detected in these genes, 3 were novel variants. Previously unreported possible clinical associations were detected, such as *tuba uterina* atresia and the *BBS10* gene variants, obesity and hemophagocytic syndrome and the *CC2D2A* gene variants. In the remaining three patients without a molecular diagnosis, no candidate variants were detected in two, while a candidate variant in the *KRT71* gene was detected in one patient that could explain the hair findings. Our findings contribute to the expansion of the phenotypic and genotypic spectrum of ciliopathy group diseases.

Keywords: Cilia, ciliopathy, variant, genotype, phenotype, whole exome sequencing

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Silya ve Sınıflandırılması	2
2.2. Silya Yapısı	3
2.3. Bazal Cisim, Siliyer Kolye ve Transisyon Zonu	4
2.4. Aksonem	5
2.5. İntraflagellar Transport (IFT)	5
2.6. Silya İlişkili Sinyal Yolakları	6
2.6.1. Sonic Hedgehog Sinyal Yolağı	6
2.6.2. WNT Yolağı	7
2.6.3. PDGFR α Yolağı	8
2.6.4. G-protein Couplet Reseptör Yolağı (GPCR)	8
2.6.5. Notch Sinyal Yolağı	9
2.6.6. Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β) Sinyal Yolağı	9
2.6.7. Salvador-Warts-Hippo (SWH) ve mTOR Sinyal Yolakları	10
2.6.8. Siliyopati Morbid Genomu	10
2.7. Genotip - Fenotip Korelasyonu	11
2.8. Siliyopati Grubu Hastalıklar	13
2.8.1. Motil Siliyopatiler	13
2.8.2. Non-Motil (Primer) Siliyopatiler	16
2.9. Yeni Nesil Dizileme Teknolojileri	28
2.9.1. Siliyopati Tanısında Yeni Nesil Dizileme	29

3. GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1. Klinik Genetik Değerlendirme	30
3.2. Laboratuvar Yöntemleri	30
3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	30
3.2.2. Tüm Ekzom Dizileme	31
4. BULGULAR	34
4.1. 1 No.'lu Birey	34
4.2. 2 No.'lu Birey	36
4.3. 3 No.'lu Birey	39
4.4. 4 No.'lu Birey	42
4.5. 5 No.'lu Birey	45
4.6. 6 No.'lu Birey	47
4.7. 7 No.'lu Birey	49
4.8. 8 No.'lu Birey	52
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	65
7. REFERANSLAR	66
8. EKLER	
Ek-1. Tez ile İlişkili Etik Kurul İzinleri	
Ek-2. Dijital Makbuz	
Ek-3. Tez Çalışması Orijinallik Raporu	
Ek-4. Çalışmada Kullanılan Onam Formları	
Ek-5. Hasta Değerlendirme Formu	
9. ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

ACMG	American College of Medical Genomics
AS	Alström Sendromu
AVSD	Atrioventriküler Septal Defekt
B	Benign
BBS	Bardet Biedl Sendromu
EVC	Ellis-Van Creveld Sendromu
ERG	Elektroretinografi
GPCR	<i>G-Protein Couplet</i> Reseptör Yolağı
HPO	<i>Human Phenotype Ontology</i>
IFT	İntraflagellar Transport
IGV	<i>Integrative Genomics Viewer</i>
JATD	Jeune Asfiktik Torasik Displazi
JS	Joubert Sendromu
LB	Olası Benign
LCA	Leber Konjenital Amarozi
LP	Olası Patojenik
MKKS	McKusick- Kaufman Sendromu
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NPHP	Nefronofitizis
OFDS	Orofasiyodijital Sendrom
OMIM	Online Mendelian Inheritance In Man
ODPKD	Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı
ORPKD	Otozomal Resesif Polikistik Böbrek Hastalığı
P	Patojenik
PCD	Primer Siliyer Diskinezi
PDGFRα	<i>Platelet-Derived Growth Factor Receptor Alpha</i>
PKD	Polikistik Böbrek Hastalığı
Ptc1	<i>Patched1</i>
RP	Retinitis Pigmentoza
SHH	<i>Sonic Hedgehog</i>
Smo	<i>Smoothened</i>
SRPS	Kısa Kosta Polidaktili Sendromu

SWH	Salvador-Warts-Hippo
TGF-B	<i>Transforming Growth Factor-Beta</i>
USG	Ultrasonografi
VUS	Klinik Önemi Belirsiz Varyant
WES	Tüm Ekzom Dizileme
WGS	Tüm Genom Dizileme
YND	Yeni Nesil Dizileme

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Motil ve non-motil silya yapısı	4
3.1. Çalışmamızda varyant filtrelemede kullanılan basamaklar	32
4.1. 1 no.'lu bireye ait soyağacı	35
4.2. 1 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında belirlenen aday varyant sayısı	35
4.3. 1 no.'lu bireyde saptanan CC2D2A, c.3347C>T varyantının IGV görüntüsü	36
4.4. 2 no.'lu bireye ait soyağacı	37
4.5. 2 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında belirlenen aday varyant sayısı	38
4.6. 2 no.'lu bireyde saptanan CEP290, c. 5932C> T; c. 1075G> T varyantlarına ait IGV görüntüsü.	39
4.7. 3 no.'lu bireye ait soyağacı	40
4.8. 3 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı	41
4.9. 3 no.'lu bireyde saptanan TTC26, c. 32dup varyantının IGV görüntüsü	42
4.10. 4 no.'lu bireye ait soy ağacı	43
4.10. 4 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı	43
4.11. 4 no.'lu bireyde saptanan BBS10, c . 456C>A varyantının IGV görüntüsü	44
4.12. 5 no.'lu bireye ait soyağacı	45
4.13. 5 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı	46
4.14. 5 no.'lu bireyde saptanan BBS10, c.145C> T varyantının IGV görüntüsü	47
4.15. 6 no.'lu bireye ait soyağacı	48
4.16. 6 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı	48
4.17. 7 no.'lu bireye ait soyağacı	50
4.18. 7.no'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları	

ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı	51
4. 19. 8 no.'lu bireyin soyağacı	52
4.20. 8 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı	53
4.21. 8 no.'lu bireyde saptanan KRT71, c.1198G > C varyantının IGV görüntüsü	54

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. IFT kompleksinde yer alan proteinlerin listesi.	6
2.2. PCD ile ilişkilendirilen önemli genler, etkiledikleri silyer kompartımanlar ve etiyolojideki oranları.	15
2. 3. Bardet Biedl Sendromu ile ilişkilendirilmiş gen listesi, bu gen ürünlerinin fonksiyon gördüğü silyer kompartımanlar ve kalıtım biçimleri	23
2.4. BBS tanısında kullanılan majör ve minör tanı kriterleri.	24
3.1. Varyant filtrenmesinde ve sınıflandırılmasında kullanılan veri tabanları ve araçlar.	33
4.1. 1 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.	35
4.2. 2 no'lu bireyde WES analizinde, fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri .	38
4.3. 3 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.	41
4.4. 4 no.'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.	44
4.5. 5 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.	46
4.6. 6 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri	49
4.7. 7 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri	51
4.8. 8 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.	53

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Siliyopatiler silya ve sentrozom ile ilişkili proteinleri kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlara ikincil görülen, çok geniş bir hastalık grubunu oluşturur (1). Silyalar hücre polaritesinin belirlenmesi, hücre döngüsünün düzenlenmesi, mekano-sensasyon gibi işlevlerinin yanı sıra, organizmanın gelişimi sırasında vertebra gelişimi ve organ farklılaşmasında görevli sinyal yollarında da görev alır (2). Silyaların bu geniş etkinlik alanları siliyopati grubu hastalıklarda fenotipe çoğunlukla multisistemik tutulum olarak yansır (1, 3). Silyalar motil ve non-motil (primer) silya olarak iki grupta sınıflanır. Motil silyaların disfonksiyonları heterotaksi, konjenital kalp hastalıkları, aspleni, infertilite, situs inversus ve primer siliyer diskinezi fenotiplerinden sorumlu tutulur (1, 3). Non-motil silya disfonksiyonları sonucu ise renal ve hepatik kistik hastalık, nöral tüp defektleri, retinal anomaliler, zihinsel yetersizlik, iskelet anomalileri, ektodermal defektler, obezite, genital anomaliler ve situs inversus gibi bulgular gözlenir (4). Bu bulgular izole ya da tanınabilir bir sendromun parçası olarak ortaya çıkabilir. Her geçen yıl daha da genişleyen siliyopati morbid genomunda son güncellemelerle 600'den fazla gen yer aldığı bildirilmektedir (5). Yeni tanımlanacak fenotipler ve moleküler patolojiler ile önümüzdeki yıllarda bu listenin uzayacağı öngörülmektedir. Günümüzde tanımlanmış siliyopati grubu hastalıklarda yeni, atipik bulguların tanımlanmaya başlanması, hastaların bir kısmında bilinen genlerde mutasyon saptanamaması ve altta yatan patofizyolojik yolların halen tam olarak aydınlatılmamış olması, siliyopati grubu hastalıklarda yeni klinik fenotipler ve bunlardan sorumlu genetik etiyolojiler üzerinde yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğunu göz önüne sermektedir.

Çalışmamızın amacı siliyopati grubu hastalık şüphesi olan bir grup hastada yeni nesil dizileme teknolojisi kullanarak altta yatan moleküler etiyolojinin aydınlatılmasıdır. Çalışmamızın sonucunda siliyopati grubu hastalıklarda yeni fenotiplerin tanımlanması, bunların genetik temelini ortaya konması, yeni genlerin veya yeni genotip-fenotip ilişkilerinin tanımlanması ve sonuçların literatüre bildirilmesi planlanmaktadır. Çalışma sonuçlarının daha sonraki dönemde bu grup sendromlarla ilgili tasarlanabilecek fonksiyonel çalışmalar için bir hazırlık oluşturması öngörülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

Silya ökaryotik hücrelerin yüzeyinden uzanan mikroskobik, kıl benzeri yapılar olarak tanımlanır (6). Motil ve non-motil olmak üzere iki gruba ayrılan silyalardan motil silya hücre yüzeylerinde çok sayıda bulunur; koordine hareketleriyle, solunum yollarında mukusun hareketinden, sperm hücrelerinin itilmesine kadar çeşitli işlevleri yerine getirirler (7, 8). Buna karşılık, non-motil silyalar hücre yüzeyinde duyuşal organel olarak işlev görür. Çevresel sinyalleri algılamada, hücre polaritesinin belirlenmesinde ve hücre büyümesi ve farklılaşmasında görevli hücre içi ana sinyal yollarının işlevinde kritik roller üstlenirler (6).

Siliyopatiler, motil ve non-motil silyaların yapı ya da işlevlerindeki sorunlara neden olan çeşitli genlerdeki patojenik varyantlara bağılı olarak ortaya çıkan geniş bir hastalık yelpazesini tanımlar (9). Bu sendromların, her biri nadir görülse de, toplu halde değerlendirildiğinde dünya genelinde her 2000 kişiden birini etkilediğı bilinmektedir. Silyaların geniş etkinlik alanları, siliyopati grubu hastalıklarda fenotipe çoğunlukla oldukça heterojen ve multisistemik tutulum olarak yansır (1, 3).

2.1. Silya ve Sınıflandırılması

Silyalar Antonie van Leeuwenhoek tarafından 1675 yılında ilk kez gözlemlenen, bilinen en eski hücreşel yapılardan biridir. Hücre yüzeyinden çıkan, kıl benzeri yapılar olan silyalar hücre polaritesinin tanımlanması, hücre döngüsünün düzenlenmesi ve mekanosensasyon gibi işlevlere ek olarak, organizmanın gelişim evresinde vertebra oluşumu ve organ diferansiyasyonunda görevli önemli sinyalizasyon yollarında da rol alır (7, 8). Silyalar yapısal özellikleri ve hareket yeteneklerine göre motil ve non-motil (primer) silyalar olmak üzere iki ana kategoride incelenir (1, 8).

Motil silyalar, salınım hareketleri yapabilme özelliğı ile non-motil silyalardan ayrılır ve solunum epiteli hücreleri, ependimal hücreler, sperm hücreleri, embriyonik nod hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerinde bulunurlar (4). Disfonksiyonları heterotaksi, konjenital kalp defektleri, aspleni, infertilite, situs inversus, Kartagener sendromu ve primer siliyer diskinezi gibi çeşitli fenotiplere yol açabilir (10).

Non-motil silyalar, hareket yeteneğinden yoksun olup, tüm hücre tiplerinde bulunabilir ve organizmanın gelişimi sırasında sinyal yolları, kemosenstasyon, fotosensasyon, mekanosenstasyon gibi temel işlevlerde ve hücreler arası iletişimde kritik roller üstlenir (1, 3).

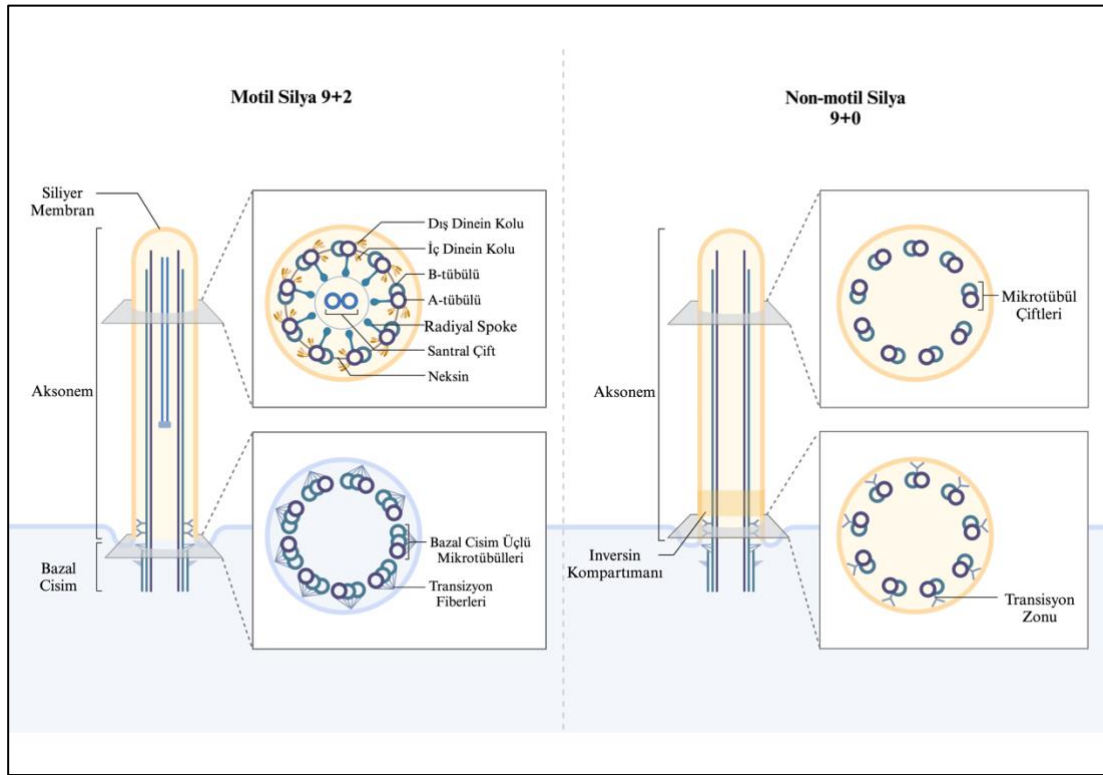
Özelleşmiş motil ve non-motil silyalar, yalnızca belirli hücre tipleri veya dokular için spesifik işlevler gerçekleştirir. Örneğin, duyuşal silyalar, özel reseptörleri sayesinde ses, koku ve ışığı algılama görevlerini yerine getirirken (11); sperm silyaları, kirpik benzeri yapılarıyla spermin dişi üreme sistemi boyunca hareketini ve yumurta ile birleşmesini sağlar (11). Beyin ve omurilikte bulunan nörosilyalar, yapısal destek ve nöronlar arası sinyalizasyon, nöronal farklılaşma ve migrasyonun düzenlenmesinde önemli işlevlere sahiptir (12, 13). Renal silyalar ise organogenez sırasında ve sonrasında hücre farklılaşması, hücre göçü, böbrek tübüllerindeki sıvı hareketi, sekresyon ve reabsorpsiyon süreçlerinin düzenlenmesinde etkin rol oynarlar (14, 15). Embriyonik nod hücrelerinde bulunan nodal silyalar ise, vücut ekseninin belirlenmesinde ve sağ- sol asimetrisinin oluşumunda temel rol oynar (16, 17).

2.2. Silya Yapısı

Motil ve non-motil silyaların yapısal farklılıkları, bu yapıların işlevsel çeşitliliğini ve biyolojik rollerini anlamak için büyük öneme sahiptir. Motil silyalar, genellikle 9+2 mikrotübül düzenine sahip olan ve hücrelerin yüzeyinde belirli bir düzen çerçevesinde hareket eden yapılardır (18) (Şekil 2.1.). Bu 9+2 yapısı, dokuz çift periferik mikrotübül ve iki tane merkezi mikrotübülü içeren karakteristik bir düzenlemeden oluşur. Buna karşın, non-motil silyalar, genellikle 9+0 mikrotübül düzenine sahip olup, merkezi mikrotübül çifti olmadan sadece 9 adet periferik mikrotübül çiftlerinden oluşur (18) (Şekil 2.1.). Siliyopati grubu hastalıklarda saptanan mutasyonların, bu yapısal bileşenler üzerindeki etkilerini incelemek, hastalıkların etiolojisinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunmasının yanı sıra, potansiyel terapötik hedeflerin ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için değerlidir.

Silyalar, mikrotübüller ve bu mikrotübülleri saran matriks materyalle birlikte aksonem; silyayı hücreye tutandıran ve silyanın köken noktası olarak hizmet veren

bazal cisim ve aksonemi hücre zarı ile entegre eden siliyer membranı içeren kompleks bir yapı sergiler (18) (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Motil ve non-motil silya yapısı (www.BioRender.com ile oluşturulmuştur.)

2.3. Bazal Cisim, Siliyer Kolye ve Transisyon Zonu

Bazal cisim, silyaların tabanında bulunan, küçük ve silindirik bir yapıdır. Silyaların yapısal desteğinin ve hücre ile bağlantısının sağlanmasının yanı sıra, silyogenez ve siliyer trafiğin koordinasyonunda da görev alır (18-20). Bazal cisim, dokuz adet A, B ve C mikrotübül tripletinden oluşan dairesel bir yapıdır. Bu tripletler, hücre membranına bağlanarak transisyonel fiberleri oluşturur (18-20). Neksin proteinlerinden oluşan transisyonel fiberlerin matris tarafından sarılması ile oluşan komplekse siliyer kolye adı verilir (18). Siliyer kolye, bazal cismi hücre yüzeyine sıkıca bağlar, aynı zamanda intraflagellar taşıma moleküllerinin seçici geçişini düzenleyen bir filtre işlevi de görür(18-20).

Transisyon zonu, gelişmekte olan silyanın uzamasının gerçekleştiği bölgedir ve bazal cismin hemen distalinde yer alır. Bu zon, triplet mikrotübüllerin, A ve B fiberlerinden oluşan doublet mikrotübüllere dönüştüğü yer olarak tanımlanır (19, 20) (Bkz. Şekil 2.1.).

2.4. Aksonem

Aksonem, silyanın hücre dışında yer alan bölümünü oluşturur. Mikrotübüller iskelet, mikrotübüllerin çevresini saran, ATPaz motor proteinleri de içeren matriks, ve siliyer membran, aksonemin ana yapısal bileşenlerini oluşturur (18-20). Mikrotübül iskeletinin yapısal organizasyonu, motil ve non-motil silyalar arasında önemli farklılıklar sergiler. Her iki silya türünde de, alfa ve beta heterodimerlerinden oluşan ve daire şeklinde düzenlenmiş dokuz adet mikrotübül çifti bulunur (18-20). Motil silyalar, santral yerleşimli bir çift mikrotübül, bu mikrotübüllere bağlanan iç- dış dinein kolları ve radyal spokeların varlığı ile non-motil silyalardan ayrılır. Bu yapısal özellik, motil silyalarda mikrotübül organizasyonunun 9+2 düzeninde, primer silyalarda ise 9+0 düzeninde görülmesine yol açar (18-20). Her iki silya türü de, aksonemin distal uçlarında, esas olarak A filamanından oluşan tek mikrotübül ile sonlanır (18-20) (Bkz. Şekil 2.1.). Çoğunlukla motil silyalar 9+2 ve non-motil silyalar 9+0 mikrotübül konfigürasyonlarına sahip olmalarına rağmen, 9+0 konfigürasyonunu gösteren motil nodal silyalar ve 9+2 düzenine sahip non-motil olfaktör silyalar gibi istisnalar bulunmaktadır (18-20).

2.5. İntraflagellar Transport (IFT)

Silyalar içerisinde protein sentezi gerçekleşmediğinden, hem silyanın formasyonu, hem de işlevselliği için çeşitli moleküllerin dışarıdan sağlanması ve silyanın içinde uygun yerlere taşınması gereklidir. İntraflagellar transport, bu moleküllerin silya içinde taşınmasını sağlayan bir mekanizmadır. Bu transport iki ana protein alt kompleksi olan IFT-A ve IFT-B' nin koordine aktivitesi ile yürütülür. IFT-A kompleksi, yükleri silyanın distaline doğru taşımakla yükümlüdür ve IFT144 ve IFT122 başta olmak üzere çeşitli proteinlerden oluşur (21-23) (Tablo 2.1.). Silyanın tabanından yüklenecek kargoyu aldıktan sonra, ATP hidrolizi ile elde edilen enerjiyi kullanarak, kinesin motor protein kompleksine bağlanır ve kargoyu siliyer ucun

distaline taşır. Varış noktasına ulaştığında, IFT-A kompleksi kargoyu bırakır ve ardından silya tabanına geri döner (21-23).

IFT-B kompleksi ise, silya distal ucundan aldığı kargoyu silya tabanına geri taşıma görevini üstlenir. IFT-B, IFT20 ve IFT88 başta olmak üzere pek çok proteinlerden oluşan kompleks bir yapıdır (21-23) (Tablo2.1.). Retrograd taşıma olarak bilinen bu süreçte, IFT-B molekülünün hareketine dinein motor proteinleri destek verir.

IFT kompleksi ve motor proteinleri çeşitli moleküllerin gerekli yerlere taşınmasının yanı sıra bu moleküllerin seçiminden, silya içine alınmasından da sorumludur. Bu süreçlerin koordinasyonu, silyanın yapısal bütünlüğünü ve fonksiyonel dinamiklerini sürdürmek için kritik öneme sahiptir (21-23).

Tablo 2.1. IFT kompleksinde yer alan proteinlerin listesi.

IFT Kompleksi	Proteinler
IFT-A	IFT144, IFT140, IFT122, IFT121, IFT43, IFT39
IFT-B	IFT20, IFT22, IFT25, IFT27, IFT46, IFT52, IFT54, IFT74, IFT80, IFT81 IFT88, CLUAP, IFT70, IFT56, IFT172

2.6. Silya İlişkili Sinyal Yolakları

Primer silyalar, hücre dışı sinyal moleküllerini algılama ve bu sinyalleri hücre içine aktarma konusunda anten işlevi görürler. Hücre dışından gelen sinyallerin hücre içine etkin bir şekilde iletilmesinde, silya membran içinde konumlanan reseptörler, iyon kanalları, IFT elemanları, transizyon zonu, bazal cisim ve distal bölgede yer alan düzenleyici proteinler gibi çeşitli yapılar görev alır (8, 24, 25). Bu bileşenler, hücre içi sinyalizasyon yollarının düzenlenmesinde büyük rol oynar. *Sonic Hedgehog* (SHH), WNT, *Notch*, Hippo, *G protein coupled* (GPCR), *platelet-derived growth factor receptor alpha* (PDGF), mTOR ve *transforming growth factor-beta* (TGF-beta) sinyal yolları silya ile ilişkili oldukları belirlenen, başlıca sinyal yolları olarak öne çıkmaktadır (8, 24, 25).

2.6.1. *Sonic Hedgehog* Sinyal Yolağı

SHH sinyal yolağı, sinir ve iskelet sistemleri başta olmak üzere birçok organ sistemini etkileyen morfogenez, büyüme, rejenerasyon ve homeostazis süreçlerinde kritik bir role sahiptir (8, 26-28). Primer silyalar, SHH sinyal yolağının aktivasyonu ve inhibisyonunda oldukça kompleks ve temel bir işleve sahiptir. Yolağın aktif olmadığı durumda, *Patched1*(Ptc1) proteini, silya membranında konumlanarak *Smoothened* (Smo) reseptörünü inhibe eder ve silya membranının dışında tutar (29). Aynı zamanda silyaların distal ucunda yer alan Gli transkripsiyon faktörleri de SuFu proteini tarafından baskılanır. Yolak aktifleştğinde, Ptc1'in Smo üzerindeki baskısı ortadan kalkar, Smo silya membranına taşınır ve SuFu'nun inhibisyonunu kaldırarak Gli transkripsiyon faktörlerinin serbest kalmasını sağlar (29). Aktif hale gelen Gli, IFT mekanizması aracılığıyla silyanın içinde taşınır ve silya tabanına ulaştıktan sonra nükleusa girerek ilgili genlerin ekspresyonunu artırır (29).

Silya yapısı ve işlevselliği SHH sinyal yolağının düzgün çalışması için kritik önem taşır. Silya ile ilgili yapısal ve işlevsel unsurlardaki herhangi bir aksaklık veya fonksiyon kaybı, vücuttaki çeşitli dokularda farklı patolojiler şeklinde bulgu verebilir (28, 30). Örneğin, silya yapısı, intraflagellar transport (IFT) ve ilgili diğer siliyer fonksiyonlarla ilgili genlerde meydana gelen fonksiyon kaybı mutasyonları, Gli'nin aktivatör rol oynadığı nöral dokuda, nöral tüp defektlerine yol açarken (31), fonksiyon kazanımı mutasyonları Gli'nin represör rol oynadığı iskelet dokusunda ekstremitte defektleri ile sonuçlanabilir (32). Silyaların SHH sinyal yolağı üzerindeki bu önemli etkisi, siliyopatilerde gözlemlenen multisistemik tutulumu açıklamada büyük ipuçları taşımaktadır (30).

2.6.2. WNT Yolağı

WNT sinyal yolağı, embriyonik gelişim, homeostazis ve rejenerasyon süreçlerinde temel rol oynayan sinyal yollarından biridir (30, 33, 34). Bu yolak, primer silyaların katılımıyla, kanonik WNT yolağı (Wnt/ β -katenin yolu) ve non-kanonik yolak olmak üzere iki farklı yolak üzerinden işlev görür (30). Kanonik WNT yolağı, hücre döngüsünün modülasyonu, hücresel diferansiyasyonu, proliferasyon, adezyon ve migrasyon gibi süreçlerde etkin bir rol alır. Özellikle embriyogenez sırasında kalp, akciğer, böbrek, göz ve nöroektodermal dokular gibi birçok organ sisteminin oluşması ve gelişiminde büyük önem taşır (35-37).

Non-kanonik sinyal yolağı ise embriyogenez sırasında hücre polaritesini, gastrulasyon ve nöral tüp oluşumunu düzenlerken, dorsal mezodermal ve ektodermal hücrelerin konumlandırılmasında ve post-embriyonik dönemde aktin iskeletinin modifikasyonunda ve reorganizasyonunda kritik roller oynar (38).

Primer silyaların kanonik sinyal yollarındaki rolü tartışmalı olmakla birlikte, non-kanonik sinyal yollarındaki rolleri iyi tanımlanmıştır (39, 40). Silya oluşumu ve bazal cisim göçü süreçlerinde görev alan proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar, non-kanonik sinyal yollarının işlevinde sorunlara yol açtığı fare modeli çalışmalarında gösterilmiştir (39-41). Özellikle, embriyogenezde önemli rol oynayan WNT yolağı üzerindeki silyaların etkileri, siliyopati grubu hastalıklarda görülen çoklu sistem tutulumlarını açıklamada önemli bilgiler sunmaktadır.

2.6.3. PDGFR α Yolağı

Platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFR α) yolağı, Ras-Mek1/2-Erk1/2 sinyal yollarının aktivasyonu üzerinden hücrel migrasyon, proliferasyon, diferansiyasyon ve apoptozisi düzenleyen kritik sinyal yollarından biridir (42). Nöronlar, oligodendrositler, astrositler, alveolar düz kaslar, fibroblastlar ve kemik hücreleri gibi çok çeşitli hücrelerin gelişiminde kritik bir role sahiptir (42, 43). PDGFR α reseptörü, primer silyaların membranında bulunan PDGF ligandı ile etkileşime girdiğinde yolağı tetikler (43). Primer silyaların yapısal ve fonksiyonel bozuklukları, bu yolağın işleyişini etkileyerek siliyopatilerde görülen multisistemik fenotipik bulgulara neden olur. Ek olarak, PDGFR α yolağının, mitoz sırasında silya demontajı ve sentriyollerin mitoz katılımının düzenlenmesinde rolü bulunmaktadır (44). Bu rollerine bağlı PDGFR α yolağını düzenleyen proteinleri kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlar da, dolaylı yoldan siliyopati fenotiplerine yol açabilmektedir (42).

2.6.4. G-protein Couplet Reseptör Yolağı (GPCR)

GPCR grubu, transmembran yerleşimli, altı farklı sınıfa (A- F) ayrılan reseptörlerden oluşur. Bu reseptör ailesinin içinde, sınıf A (rodopsin benzeri reseptörler), sınıf B (sekretin reseptör ailesi) ve sınıf F (*Frizzled/ Smoothened*)

reseptörleri, silya membranında lokalize olup, çeşitli hücreler ve fizyolojik süreçlerde kritik roller üstlenirler (45). Opsinler, olfaktör reseptörler, serotonin, vazopressin, dopamin ve prostaglandin reseptörleri aracılığıyla, fotoresepsiyondan olfaktör algılamaya, beslenme davranışlarının düzenlenmesinden ağrı algısına, renal hücrelerin osmotik fonksiyonlarından, nöronal işlevlere ve enerji homeostazına kadar geniş bir yelpazede işlev görürler (45, 46). GPCR'ler aynı zamanda nöronal ve retinal siliyer fonksiyonların düzenlenmesi, siliyogenez ve siliyer büyümenin kontrolünde önemli roller oynarlar (46). Silya yapısını ve fonksiyonlarını düzenleyen genlerde meydana gelen mutasyonlar, GPCR sinyal yolağında disfonksiyona neden olarak beyin gelişimi, sinaptik iletişim ve çeşitli nöro-endokrin sorunlara yol açarak multisistemik fenotipik bulguların ortaya çıkmasına katkıda bulunabilir (46).

2.6.5. *Notch* Sinyal Yolağı

Notch sinyal yolağı, sinir sistemi, kardiyovasküler sistem başta olmak üzere pek çok organın gelişiminde kritik bir role sahiptir. Embriyolojik gelişim sürecinde özellikle nöral tüp yapısında yer alan nöroepitel hücrelerde *Notch* ve SHH sinyal yollarının aktivasyonu, nöral tüp oluşumu ve dorsal-ventral patern gelişiminde önemli roller üstlenir (47). Bu yolağın kontrol mekanizmasında önemli rol oynayan presenilin proteini, primer silyaların bazal cisimciğinde yer alır. *Notch* yolağının aktifleştirilmesinden sorumlu reseptör olarak görev yapan bir diğer protein olan *Notch3* ise primer silyaların membranında yerleşmiştir (47). Primer silyalar bu proteinler vasıtasıyla yolağın kontrolünde rol oynar. *Notch* sinyal yolağı ayrıca, embriyonik nodda yer alan özelleşmiş bir silya olan nodal silyaların fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynar (30). Özellikle primer silya yapısında ve işlevinde meydana gelen sorunlar, *Notch* sinyal yolu disfonksiyonuna yol açarak nöral tüp defektleri ile; *Notch* sinyal yolları ile ilgili sorunlar ise nodal silyaların fonksiyonunda sorunlara neden olarak, fenotipe siliyopati grubu hastalıklarının bir bölümünde bildirilen situs anomalileri ile yansıyabilmektedir (30, 47).

2.6.6. *Transforming Growth Factor-Beta* (TGF- β) Sinyal Yolağı

Transforming Growth Factor-Beta sinyal yolağı kardiyomiyositler, miyofibroblastlar ve osteositlerin gelişimi ve farklılaşması üzerindeki etkili bir yolak

olarak öne çıkar. Bu yolağının aktivasyonunda görev alan ana reseptörler olan TGF- β 1 ve TGF- β 2, silyaların uç kısımlarındaki membranda yer alır (48). Primer silyalar bu reseptörler aracılığı ile sinyalin hücre içine taşınmasında ve yolağın aktivasyonunda etkin rol oynarlar (48). Primer silyaların biyogenezi ve uzaması ile ilişkili sorunların, TGF- β sinyal yolağının işleyişini bozduğu ve bunun sonucunda osteoblastlarda matürasyon ve mekanosensasyon defektlerine yol açtığı bildirilmiştir (49, 50). Bu bulgular, siliyopati spektrum bozukluklarında görülen, özellikle iskelet sistemi bulgularının patofizyolojisinin aydınlatılmasında önemli bir yere sahiptir (49-51).

2.6.7. Salvador- Warts- Hippo (SWH) ve mTOR Sinyal Yolakları

SWH ve mTOR hücre proliferasyonu ile organ büyümesinin düzenlenmesinde rolleri bulunan ve silya ile ilişkileri yeni keşfedilen sinyal yollarıdır. Primer silya ve SWH yolağı arasındaki ilişki, silya membranında bulunan Nefrosistin-4 veya Crumbs-3 gibi reseptörlerin yolağın aktivasyonuna katkısı ve SWH yolağının temel bileşenlerinden MST1/2'nin siliyogenez süreci üzerindeki kontrolü ile çift yönlü olarak düzenlenmiştir (52). mTOR yolağı ise hücre büyümesi ve metabolizmanın ana düzenleyicisi olarak işlev görür. Primer silyalarda lokalize olan LKB1, AMPK, polisistin-1 ve polisistin-2 gibi tümör baskılayıcı proteinler aracılığıyla mTOR yolağının inhibisyonu gerçekleşir (53). Bu inhibisyon, aynı zamanda siliyogenez ve silya stabilitesinin dolaylı olarak kontrolüne de katkıda bulunur. mTOR yolağındaki disfonksiyonlar, malignansi, diyabet, nörodejeneratif bozukluklar ve renal kistler dahil olmak üzere siliyopatilerde gözlenebilen çeşitli yaygın ve çeşitli fenotipik bulgularla ilişkilendirilmiştir (51, 53).

2.6.8. Siliyopati Morbid Genomu

Siliyopati grubu hastalıklar, oldukça heterojen fenotipik özelliklerle karşımıza çıkarlar. Bu klinik değişkenliğin altında genellikle genetik etiolojinin de heterojen olması yatmaktadır. Yaklaşık 20 yıl önce ilk sorumlu genler tanımlanmaya başlamış ve son on yılda giderek daha erişilebilir hale gelen yeni nesil dizileme teknolojileri sayesinde siliyopati grubu fenotiplerle ilişkilendirilen gen sayısı her geçen yıl katlanarak artmıştır. Günümüzde çok merkezli çalışma grupları tarafından yapılan çalışmalar sonucunda siliyopati grubu hastalıklarla ilişkisi tanımlanmış 686 gen

bildirilmiştir (5). Her geçen yıl artan ilişkili gen sayısı ve genellikle her bir genin silya yapısı ve fonksiyonunda birden fazla rol üstlenmesi nedeniyle siliyopati ile ilişkili genlerin sınıflandırılması giderek daha zorlaşmaktadır. Güncel terminolojide siliyopati ile ilişkili genler, birincil ve ikincil genler olmak üzere iki ana grupta sınıflandırılır (1). Birincil genler, silyum ve bazal cisimde lokalize olarak, silya yapı ve işlevine katkıda bulunan proteinleri kodlayan genleri tanımlarken; ikincil genler, silya yapısına katılmayan ancak dolaylı yoldan siliyer aktivite üzerinde etkisi olan proteinleri kodlayan genler olarak tanımlanır. Siliyopati ile ilişkili olduğu bildirilen genler arasında birincil genleri içeren grup, büyük kısmı oluşturmakta ve yakın zamanda doygunluğa ulaşacağı öngörülmektedir. Özellikle yeni nesil dizileme ile bilinen siliyopati genlerinde varyant saptanamayan hastalarda silya ile ilişkili sinyal yollarında görevli, ekstra siliyer proteinleri kodlayan yeni ikincil genlerin keşfinin yeni genotip - fenotip keşifleri için büyük bir olanak sunduğu öngörülmektedir.

2.7. Genotip - Fenotip Korelasyonu

Siliyopatilerde gen- fenotip ilişkisi, genellikle tek bir genin tek bir fenotipe yol açtığı Mendelyan modelden daha karmaşıktır. Bir gen, aralarında fenotipik örtüşme olmayan birden fazla siliyopati fenotipi ile ilişkilendirilebilir; aynı fenotipik bulgulardan sorumlu birden fazla farklı gen tanımlanabilir; aynı gendeki farklı mutasyonlar farklı şiddette fenotipik bulgulara neden olabilir (1). Siliyopati ile ilişkili genlerde varyant saptanan hasta sayısının artması ve yeni nesil dizileme teknolojilerindeki ilerlemeler, genotip- fenotip korelasyonlarının kurulmasını ve siliyopati morbid genomunun genişlemesini mümkün kılmıştır.

Siliyopati ile bazı genlerin siliyopati ile ilişkili sık görülen fenotipik bulgulara ek olarak spesifik organ tutulumuna neden olabildiği bildirilmektedir. Örneğin, Joubert sendromu ile ilişkilendirilen genlerden biri olan *TMEM67* ile ilişkili varyantlar, belirgin karaciğer fibrozisi ile seyreden Joubert sendromu tipine neden olurken (54), bir diğer ilişkili gen olan *ARL13B*'deki varyantlar yalnızca nörolojik sistem tutulumu ile ilişkili Joubert sendromu ile ilişkilendirilmektedir (55). Aynı sendroma neden olsalar da, bazı genlerde yer alan varyantlar ise çoklu organ tutulumu ile birlikte daha şiddetli fenotipik bulgulara neden olabilmektedirler. Örneğin, Joubert

sendromu ile ilişkilendirilen *CEP290* varyantları retina, böbrek, karaciğer ve santral sinir sistemi dahil olmak üzere geniş bir siliyopati yelpazesinde bulgu verirken (56), *KIAA0586* varyantlarının orofasiodijital sendrom özelliklerine sahip nispeten hafif, saf Joubert sendromu formuna neden olduğu bilinmektedir (57-59).

Siliyer yapıda aynı kompartımanda yer alan, farklı proteinleri kodlayan genlerde saptanan varyantların, silyada spesifik fonksiyon bozukluklarına neden olarak, benzer fenotiplerle sonuçlandığı da bildirilmiştir (60). Örneğin, iskelet sistemi tutulumunun ön planda olduğu siliyopatilerde IFT bileşenlerini kodlayan genlerdeki varyantlar öne çıkmaktadır (1, 60, 61). Benzer biçimde Bardet Biedl sendromu ile ilişkilendirilen genlerin çoğunluğunun, siliyer kökte yer alan BBSome yapısına katıldığı gösterilmiştir (62).

Siliyopati grubu hastalıklarda aynı gende tanımlanan farklı tipte varyantlar da farklı tipte klinik bulgularla ilişkilendirilebilmektedir. Örneğin *CC2D2A* genindeki nonsense mutasyonlar Meckel sendromu ile ilişkilendirilirken, *missense* mutasyonlar Joubert sendromu Tip 9 ile ilişkilendirilmektedir (63). Aynı gendeki farklı *missense* mutasyonlar da şiddetlerine göre farklı klinik fenotiplerle ilişkilendirilebilmektedirler. Örneğin *IFT172* ile ilişkili hipomorfik, *missense* varyantlar iskelet tutulumu ile giden siliyopatiye neden olurken, diğer *missense* varyantlar retinitis pigmentosa veya Bardet Biedl sendromuna (BBS) neden olmaktadır (64). Benzer biçimde *TMEM231*'de bildirilen farklı alellerin Meckel sendromu, orofasiodijital sendrom, Joubert sendromu ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir (65).

Siliyopati grubu hastalıklara sıklıkla otozomal genlerdeki biallelik varyantlar neden olur. Nadir olarak bazı orofasiodijital sendrom ve retinitis pigmentosa tiplerinde X' e bağlı kalıtım tanımlanmıştır. Triallelik/ oligogenik kalıtım Bardet Biedl sendromunda bildirilmiş olup; diğer siliyopati grubu fenotiplerde oligogenik kalıtım kanıtlanamamıştır (66, 67). Bununla birlikte, aynı aile içerisinde, aynı varyantları taşıyan bireyler arasında bile fenotipin şiddet ve yaygınlık açısından değişken olduğunun bildirilmesi, modifiye edici başka lokusların da fenotip üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir (65). Model organizmalardaki bulgular, allel türleri, modifiyer genler, siliyer yapıdaki proteinler arasındaki örtüşen işlevler ve hücre tipi özgülüğünün, fenotipik sonucu etkileyebileceğini göstermiş (68, 69). Bu çalışmalar

benzer etkenlerin insan siliyopatilerinin altında yatabileceğini desteklemektedir (68, 69).

2.8. Siliyopati Grubu Hastalıklar

Siliyopatiler siliyer yapıların oluşumundaki veya işlevlerindeki sorunlar nedeniyle gözlenen, ortak bazı klinik özellikleri paylaşan ve genellikle çoklu organ tutulumu ile seyreden, kompleks fenotiplerle karakterize bir hastalık grubudur (25, 70, 71). Kalıtım biçimleri, altta yatan moleküler patolojiler ve etkilenen silyum tipleri gibi çeşitli özellikler göz önünde bulundurularak sınıflandırılan siliyopati grubu hastalıkların sayısı, yeni tanımlanan fenotipler ve genler nedeniyle her geçen yıl artmaktadır. Her bir alt tip nadir olarak gözlense de, ana kategori altında değerlendirildiğinde siliyopatilerin tüm dünyada yaklaşık olarak 2000 kişiden birini etkilediği bildirilmektedir (72).

Siliyopatiler, tipik olarak non-motil ve motil siliyopati sendromları olarak ikiye ayrılır (25, 73, 74), fenotipik örtüşmenin arttığı ara formlar da daha sık olarak bildirilmektedir (73, 75, 76). Bu nedenle siliyopati sınıflandırılmasında bakış açısının değiştirilmesi, klasik sınıflandırmaların ötesinde, organ tutulumunun tipine ve kapsamına dayalı yeni bir sınıflandırmaya geçilmesi güncel bir yaklaşım olarak kabul edilmeye başlanmıştır (25).

2.8.1. Motil Siliyopatiler

Motil siliyopatiler, motil silyaları içeren organ ve dokulardaki fonksiyon bozuklukları ile karakterize hastalık gruplarıdır (4). Hava yollarında bulunan motil silyalar, goblet hücrelerince salgılanan mukus tarafından tutulan patojenleri dışarı atmak için osilatör hareketler gerçekleştirir (4, 77, 78). Beyinde çok sayıda silya içeren hücreler, sayısız sinyal molekülünün taşınmasında kritik olan beyin omurilik sıvısının akışını koordine eder (79, 80). Ürogenital sistemde fallop tüplerinin epitelinde yer alan motil silyalar, ovumun uterusu taşınmasına yardımcı olurken, spermelerde gözlemlenen 9+2 yapılı motil silyalar, flagellanın hareketliliğini sağlayarak döllenmeyi mümkün kılar (81). Motil silyalar ayrıca, embriyonik gelişim sırasında sol-sağ düzenlemesinde ve situs solitus olarak adlandırılan normal asimetric konumlandırmanın oluşumundan

sorumlu embriyonik nodun bir bileşeni olarak görev yapar (4, 82). Motil silya bozuklukları, sıklıkla kronik solunum hastalıklarına yol açan mukosilyer temizliğin bozulması sonucu, kronik solunum sistemi hastalıkları ile karakterize olurken, lateralizasyon defektleri, infertilite, ektopik gebelik, gelişimsel beyin anomalileri, hidrosefali gibi sorunlara da neden olabilirler (4, 83).

Primer Siliyer Diskinezi

İlk kez 1976 yılında tanımlanan primer siliyer diskinezi (PCD), hareketli silyaların yapısını, sayısını veya işlevini düzenleyen genlerdeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkan ve genellikle kronik oto-sino-pulmoner sorunlara yol açan kalıtsal bir durumdur (83). Nadir görülen ve otozomal resesif kalıtım gösteren PCD'nin tahmini görülme sıklığı, 1:10.000 ile 1:20.000 arasındadır (83). PCD'nin tipik belirtileri arasında, neonatal solunum güçlüğü, yaşamın erken dönemlerinden başlayarak devam eden kronik öksürük, burun tıkanıklığı ve tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları bulunur. Solunum sistemi semptomlarının yanı sıra embriyonik nodda, üreme sisteminde ve nörolojik sistemde hareketli silyaların sayı ve işlev bozukluklarından kaynaklanan, infertilite, situs anomalileri ve nadiren hidrosefali gibi bulgular da gözlenebilir (83, 84). Lateralizasyon bozuklukları, genellikle motil silyaların fonksiyon bozuklukları ile ilişkilidir. Bu hastalarda situs inversus totalis, situs solitus, situs ambigu gibi anomalilere, polispleni/ aspleni, konjenital kalp anomalileri eşlik edebilir (4, 83, 85, 86). PCD'de semptomların değişken şiddeti ve yaygınlığı nedeniyle tanı koymak güçtür. Tanı genellikle klinik değerlendirme ve genetik analizler ile birlikte siliyer yapı ve hareketliliğinin incelenmesi için video mikroskopi veya elektron mikroskopi gibi özel görüntüleme tekniklerinin bir kombinasyonu ile koyulur (84).

Günümüzde primer siliyer diskinezi fenotipleri ile ilişkilendirilen 60'tan fazla gen bildirilmiştir (4, 87). Bu genler incelendiğinde bir kısmının siliyogenezde görev aldığı, patojenik varyantların siliyogenezin bozulmasına bağlı olarak motil silya sayısında azalmaya yol açtığı; bir kısmının ise siliyer hareketi düzenleyen, silya yapısındaki motor proteinleri kodlayan genler olduğu görülmektedir (4, 87). *MCIDAS*, *FOXJ1*, *CCNO* ve *TP73* gibi özellikle siliyogenezin kritik aşamalarını kontrol eden genlerdeki varyantlar, azalmış silya sayısının saptandığı PCD'li bireylerde sıkça

varyant saptanan genler olarak öne çıkmaktadır (4, 87). Bunun yanı sıra, siliyogenezin ve silya sayısının normal olduğu PCD vakalarında ise özellikle dış dinein kollarını (ODA) kodlayan *DNAH5*, *DNAH11* ve *DNAI1* [37] genlerde, dinein montaj proteinlerini kodlayan genlerde (örneğin *DNAAF2*, *DNAAF5*) ve aksonem boyunca işlev gören *ruler* proteinlerini kodlayan *CCDC39*, *CCDC40* gibi genlerde patojenik varyantlar tanımlanmaktadır (4, 87). Tablo 2.2.' de PCD ile ilişkilendirilen öne çıkan genler ve etkiledikleri siliyer kompartmanlar sunulmuştur.

Tablo 2.2. PCD ile ilişkilendirilen önemli genler, etkiledikleri siliyer kompartmanlar ve etiyojideki oranları (87).

Kompartman ve Gen Adı	Etiyolojik Oran (%)	Kompartman ve Gen Adı	Etiyolojik Oran (%)
Dış Dinein Kolu		Ruler Protein	
<i>ARM4C</i>	<%3	<i>CCDC39</i>	% 4–9
<i>CCDC103</i>	< %4	<i>CCDC40</i>	% 3–4
<i>CCDC151</i>	< %3	Santral Çift	
<i>DNAH1</i>	< %1	<i>HYDIN</i>	< %1
<i>DNAH5</i>	% 15–29	Radial Spoke	
<i>DNAH11</i>	% 6–9	<i>RSPH1</i>	< %1
<i>DNAH11</i>	% 2–10	<i>RSPH4A</i>	< %1
<i>TTC25</i>	< %1	Multisiliyogenez	
Dynein Axonemal Assembly Factor		<i>CCNO</i>	< %1
<i>DNAI2</i>	< %1	<i>FOXJ1</i>	< %1
<i>DNAI3</i>	< %1	<i>MCIDAS</i>	< %1
<i>DNAI4</i>	< %1		
<i>DYX1C1</i>	< %1		
<i>LRRC6</i>	<%1		
<i>SPAG1</i>	< %4		
<i>ZMYND10</i>	< %2–4		

Yeni gen ve hastaların tanımlanması, fenotipik spektrumun genişlemesi PCD' de genotip-fenotip korelasyonlarının oluşturulmasına katkı sağlamıştır. Örneğin, motil silya oluşumundan sorumlu *MCIDAS* (34) ve *CCNO* (33) gibi genler ile ruler proteinleri kodlayan *CCDC39* (105) ve *CCDC40* genlerinde patojenik varyantları olan hastalarda solunum sistemi semptomlarının başlangıcı daha erken ve şiddeti daha fazla olurken (88-93), *DNAH11* (103), *DNAH9* (27) ve *RSPH1* (104) gibi genlerde patojenik

varyantlar saptanan hastalarda solunum fonksiyonlarının daha az etkilendiği gözlemlenmektedir (94-97).

PCD, genellikle biallelik patojenik varyantlar sonucu ortaya çıkar ve otozomal resesif kalıtım biçimi gösterir, özellikle akraba evliliği öyküsü bulunan ailelerde daha sık görülür (4, 87). Otozomal resesif kalıtım biçiminin dışında, nadiren X'e bağlı resesif kalıtım özelliği gösteren *DNAAF6/PIH1D3*, *OFD1*, *RPGR* gibi yeni genler de PCD ile ilişkilendirilmiştir (98-101). Bunlara ek olarak, sıklıkla hidrosefali ile ilişkilendirilen monoallel *de novo FOXJ1* varyantları, otozomal dominant kalıtım paterni gösterir (86, 102). PCD ile ilişkili genlerin tanımlanmasındaki ilerlemelere rağmen, fenotipik olarak iyi karakterize edilmiş PCD'li bireylerin %20-30' unda hâlâ altta yatan moleküler patoloji tespit edilememekte, bu da henüz keşfedilmemiş yeni gen-fenotip ilişkilerinin varlığına işaret etmektedir (4, 87).

2.8.2. Non-Motil (Primer) Siliyopatiler

Primer siliyopatiler, non-motil silyaların yapısal veya işlevsel bozukluklarından kaynaklanan ve çok sayıda sistem ve organı etkileyebilen genetik sendromlar topluluğudur (25, 70, 71). Hücre yüzeyinde bulunan ve hücrelerin çevresiyle iletişim kurmasını sağlayan bu non-motil silyalar, hücre içi sinyal yollarının düzenlenmesinde kritik role sahiptirler (8, 24, 25). Bu nedenle, işlev bozuklukları durumunda çok çeşitli ve genellikle sistemik etkilere sahip klinik bulgularla ilişkilendirilirler. Klinik bulguların çeşitli derecelerde örtüştüğü primer siliyopati grubu sendromlar etkilenen başlıca organ sistemine göre incelenebilir.

Renal Siliyopatiler

Renal dokuda, özellikle tübül epitel hücrelerinde bulunan primer silyalar, renal hücrelerde hem mekanosensör, hem de IFT ve sinyal yolak düzenleyicileri olarak görev yaparlar (8). Bu yapılarla ilgili ortaya çıkabilecek disfonksiyonlar, renal tübüler akışı algılama ve hücrel sinyalleri aktarmada sorunlara neden olarak renal patolojilere yol açar (8).

Polikistik Böbrek Hastalığı (PKD)

PKD, kalıtsal renal silyopatiler arasında öne çıkan ve renal kistlerin oluşması ve zamanla sayı ve boyut olarak artması ile karakterize bir hastalık grubudur (15). Fenotipik ve genetik heterojenin yaygın olduğu grupta, Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı (ODPKD) ve Otozomal Resesif Polikistik Böbrek Hastalığı (ORPKD) iki ana alt grubu oluşturur (15, 103).

Genellikle yetişkinlik döneminde bulgu vermeye başlayan ODPKD'de kistler çocukluk döneminde oluşmaya başlar (104). Böbreklerin kistlerle büyümesi sonucu ortaya çıkan kronik ağrı, hematüri ve hipertansiyon gibi sorunlar yanında, karaciğer gibi diğer organlarda da oluşan kistler, kardiyovasküler sorunlar ve intrakraniyal anevrizmalar hastalarda gözlenen diğer bulgular arasında yer alır (104). ODPKD' de altta yatan genetik etiyolojinin çok büyük bir kısmından 16. kromozomda yer alan *PKD1* ve 4. kromozomda yer alan *PKD2* genlerindeki monoallelik varyantlar sorumludur (15). Primer silyalarda kritik bir mekanosensör olarak işlev gören polikistin-1 proteinini kodlayan *PKD1* ilişkili varyantlar, vakaların yaklaşık %85' inden sorumludur. Diğer yandan, kalsiyum geçirgen iyon kanalı olarak görev yapan polikistin-2 proteinini kodlayan *PKD2* ilişkili varyantlar geri kalan kısmı oluşturmaktadır. Genel olarak, *PKD2* ilişkili varyantlar, *PKD1* ilişkili varyantlara göre daha hafif klinik sonuçlar doğurur (105).

ODPKD' nin aksine, ORPKD genellikle doğumda veya bebeklik döneminde oluşan renal kistlerle karakterizedir (106). Renal toplayıcı kanallardaki kistler nedeniyle büyüyen böbrekler ve portal hipertansiyona sebep olan hepatik fibrozis ana klinik bulguları oluşturur (106). ORPKD' nin klinik seyri büyük oranda değişkenlik gösterir; bazı çocuklarda bulgular neonatal dönemde başlayabilirken, diğerlerinde bulgular ergenlik döneminde veya yetişkinlikte saptanabilir (107). ORPKD, 6. kromozomda bulunan, primer silyalarda yer alan ve hücreler arası etkileşimlerde rol oynayan fibrosistin/ poliduktini kodlayan *PKHD1* genindeki biallelik varyantlara bağlı gözlenir (106, 107).

Nefronofitizis (NPHP)

NPHP, genellikle ergenlik ya da erken yetişkinlik döneminde bulgu vermeye başlayan ve son evre böbrek yetmezliği ile sonuçlanan önemli bir kalıtsal

tübülointerstisyel nefropatidir (108, 109). Primer silyaların böbrek homeostazını sürdürmedeki kritik rollerini gösteren NPHP, özellikle tuz kaybına neden olan tübülopati ile ilişkili semptomlarla karakterizedir (110). Bu semptomlar arasında poliüri, polidipsi ve sekonder enürezis bulunur. Kronik tübülointerstisyel inflamasyon ve fibrozisin geliştiği NPHP'de, genellikle renal kortiko-medüller farklılaşmada azalma görülür (108, 109). Renal kistler PKD'ye göre daha az belirgindir, genellikle kortiko-medüller bileşkede yer alır. NPHP izole olarak görülebileceği gibi Senior-Loken sendromu, Joubert sendromu, Bardet Biedl ve Meckel Gruber sendromları gibi diğer sendromik hastalıkların da bir komponenti olarak saptanabilir (111). Genetik alt yapının oldukça heterojen olduğu NPHP'de 20'den fazla gendeki patojenik varyantlar klinik bulgularla ilişkilendirilmiştir (108, 109). Öne çıkan genler arasında vakalarının önemli bir kısmından sorumlu tutulan *NPHP1* ve *NPHP3*, *NPHP4* bulunur (108). Bu genler tarafından kodlanan proteinler, böbrek tübüllerinin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü korumada görevlidirler. Otozomal resesif kalıtım biçiminin gözlemlendiği NPHP'de genetik etiolojinin belirlenmesi, özellikle klinik tablo belirsiz olduğunda tanıda etkin bir rol oynar. Buna ek olarak hastalığın altında yatan moleküler mekanizmaların anlaşılması gelecekte hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi için de büyük önem taşımaktadır (112).

Retinal Siliyopatiler

Primer silyalar altında sınıflanan ve fotoreseptör hücrelerinde bulunan özelleşmiş bir yapı olan konektör silyum, bu hücrelerin iç ve dış segmentleri arasında kritik bir bağlantı görevi görür (11). Konektör silyalarda ortaya çıkabilecek disfonksiyonlar kliniğe görme bozuklukları olarak yansır (11).

Retinitis pigmentosa (RP), retinal siliyopati grubu hastalıklar içerisinde en sık görülen hastalık olup, genellikle çocukluk veya ergenlik döneminde gece körlüğü şeklinde ilk belirtilerini gösterir (113). Hastalık ilerledikçe, hastaların periferik görüş alanı giderek daralır ve klasik "tünel görüşü" ortaya çıkar. Fundus muayenesinde tipik iğ şeklinde pigmentasyonlar, retinal atrofi ve incelmış kan damarları görülür (113, 114). Elektoretinografide (ERG), ileri evrelerde çubuk ve koni tepkilerinin azalması veya tamamen kaybolması saptanır (113, 114). RP'nin genetik alt yapısı çok heterojendir, *RHO*, *PRPF31* ve *RPI* başta olmak üzere fototransdüksiyon, veya

fotoreseptörlerin yapısal bütünlüğünü kontrol eden 60' tan fazla gendeki patojenik varyantlar RP ile ilişkili olarak bildirilmiştir (115). RP'nin kalıtım biçimleri çeşitlilik gösterir; vakaların % 20- 30' unda otozomal dominant, % 15- 20' sinde otozomal resesif ve % 10-15' inde X' e bağlı olarak görülür (115).

Leber Konjenital Amarozi (LCA), daha şiddetli bir retinal siliyopatidir ve genellikle doğumdan itibaren ciddi görme kaybı veya körlükle karakterizedir (116, 117). Etkilenen bireylerde yüksek hipermetropinin eşlik ettiği nistagmus bulunur (116, 117). Çocuk büyüdükçe fundus muayenesinde RP'yi andıran değişiklikler gözlenebilir. LCA, çoğunlukla retinoid döngüsü ve fototransdüksiyonda görev alan *CEP290*, *GUCY2D* ve *RPE65* başta olmak üzere toplam 24 gendeki varyantlarla ilişkilendirilmektedir (118). LCA'lı bireylerin neredeyse tamamında AR kalıtım paterni gözlenir (118).

Retinal siliyopatiler izole görülmekle birlikte bazen Bardet Biedl sendromu, Usher sendromu ve Senior Loken sendromu gibi çoklu organ tutulumu olan siliyopatilerin bir komponenti olarak da gözlenebilir (115). BBS'den etkilenmiş bireylerde multisistemik anomalilerin yanı sıra tipik olarak RP'ye benzer, ilerleyici bir rod-kon distrofisi gözlenirken, Usher sendromundan etkilenmiş bireylerde, RP semptomları sensörinöral işitme kaybı ile birlikte gözlenir (119). Senior Loken sendromunda ise, RP'ye benzer retinal dejenerasyon yanında genellikle son evre renal yetmezliğe yol açan nefronofitizis eşlik eder (120).

İskelet Tutulumu ile Giden Siliyopatiler

Klinik genetik alanında iskelet tutulumu ile giden siliyopatiler, genetik etiyoloji ve fenotipik bulgular açısından karmaşık bir hastalıklar grubunu oluşturur (60, 61). İskelet tutulumu ile giden siliyopatilerin incelenmesi, silyaların iskelet biyolojisindeki rolünü; özellikle, encondral ossifikasyon, kondrosit farklılaşması ve kemik büyümesi gibi süreçlerdeki kritik rollerini ortaya çıkarmıştır (60). Hastalıkla ilişkili tanımlanmış her bir gen, silya işlevinde farklı roller oynar ve iskelet gelişimi için hayati önem taşıyan SHH, WNT ve PDGF gibi çeşitli sinyal yollarını etkiler (60, 61). İskelet tutulumu ile giden siliyopatiler, hafif iskelet deformasyonlarından ciddi ve

bazen yenidoğan döneminde fatal iskelet displazilerine kadar değişen geniş bir fenotipik yelpazede kendini gösterir (60).

Ellis-van Creveld Sendromu (EVC)

Ellis-van Creveld sendromu, temelde 4p16'da bölgesinde yer alan *EVC1* ve *EVC2* genlerindeki, biallelik patojenik varyantlara ikincil olarak gözlenen, iskelet tutulumunun ön planda olduğu multisistemik bir siliyopatidir (121). *EVC1* ve *EVC2* primer silyaların tabanında yer alan ve SHH sinyal yolunun bileşenleriyle yakından etkileşimde bulunan proteinleri kodlar (60, 122). SHH sinyal yolağı, özellikle ekstremitte morfogenez ve iskelet diferansiyasyonu açısından embriyonik gelişimde kritik bir role sahiptir (60, 121).

Klinik bulgularla ilişkili olarak, EVC birçok sistemde çeşitli belirtilerle karakterizedir. İskelet sistemiyle ilgili en belirgin anormallikler arasında, akromesomelik kısalık, dar göğüs kafesine neden olan kısa kostalar ve postaksiyel polidaktili yer alır (121). Etkilenmiş bireylerde ayrıca tırnak displazisi, el veya ayak parmaklarında parsiyel sindaktili gözlenebilir (121). Diş eksikliği ya da fazlalığı gibi dental anomaliler yaygındır. EVC' den etkilenen bireylerin % 50-60'ında doğumsal kalp defektleri, en sık olarak da tek atriyum veya atriyal septal defekt gözlenir (121).

Jeune Asfiktik Torasik Displazi (JATD)

JATD, dar göğüs kafesi ile karakterize, nadir görülen bir iskelet displazisidir (123). Temel olarak iskelet sistemi tutulumu ile bulgu vermesine rağmen etkilenmiş bireylerde diğer organ sistemlerine ait anomaliler de gözlenir (123, 124). JATD, siliyogenez ve silya idamesi için kritik olan intraflagellar taşıma sisteminde görevli proteinleri kodlayan genlerdeki, biallelik patojenik varyantlara ikincil gözlenir (123, 124). Bu genler arasında; siliyogenezde büyük rol oynayan bir intraflagellar taşıma proteini kodlayan *IFT80*, retrograd intraflagellar taşıma için önemli olan dinein proteinini kodlayan *DYNC2H1* ve hem anterograd, hem de retrograd taşımada rol oynayan bir protein kodlayan *TTC21B* patojenik varyantların en sık saptandığı genler olarak öne çıkmaktadır (124-127).

JATD, geniş bir klinik spektrumdaki bulgular ile ilişkilendirilir (123, 125). Hastalığın belirgin özelliği; neonatal dönemde respiratuvar yetersizlikle kendini gösteren, morbidite ve mortalitenin ana nedeni olarak öne çıkan, dar ve çan şeklinde bir göğüs kafesidir (123). Etkilenen bireylerde rizomelik orantısız boy kısalığının yanı sıra, renal anomaliler, retinal sorunlara bağlı görme kusurları, karaciğerde fibrozis, pankreatik kistler ve çeşitli kardiyak anormaliler gözlenebilir (123, 128).

Kısa Kosta Polidaktili Sendromu (SRPS)

SRPS, nadir görülen, genetik heterojenite ile dikkat çeken, kısa kosta, uzun kemiklerde kısalık ve polidaktili ile karakterize, sıklıkla letal bir iskelet displazisi grubudur (124). Şu ana kadar bildirilen 21 alt tipi olan sendrom, özellikle retrograd intraflagellar taşıma için önem taşıyan *DYNC2H1*, siliyogenez ve intraflagellar transportta görev yapan proteinleri kodlayan *IFT80*, *WDR34*, *WDR35* ve *WDR60*, yine siliyogenez ve hücre siklusunun düzenlenmesinde görevli *NEK1* genleri başta olmak üzere 20'den fazla gendeki biallelik patojenik varyantlara bağlı olarak gözlenir (61, 128). İlişkili genlerdeki varyantlar SHH sinyal yolağında disfonksiyona neden olarak, kondrosit proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozisini etkileyerek karakteristik iskelet anomalilerine neden olur (61). Klinik olarak SRPS, neonatal mortalitenin başlıca nedeni olan ve solunum yetersizliğine yol açan dar ve çan şeklindeki göğüs kafesi, polidaktili ve ekstremitte kısalığı ile bulgu verir (124). Etkilenmiş bireylerde ayrıca kardiyak, renal ve nöral dokuda anomaliler de saptanabilir (124, 128)

Orofasiyodijital Sendrom (OFDS)

OFDS; kraniyofasiyal dismorfik bulgular, orofaringeal ve parmak anomalileri ile karakterize, fenotipik ve genotipik heterojenitenin ön planda olduğu bir grup siliyopatidir (129, 130). OFDS grubunda, sorumlu genlerin tümü siliyer fonksiyonların düzenlenmesi ve silya ilişkili sinyal yolaklarının kontrolünde görev yapar (129). Altta yatan genetik etiyojolojiye bağlı olarak 16 alt tipin tanımlandığı OFDS grubunda klinik bulguların yaygınlığı ve kalıtım paterni altta yatan genetik etiyojolojiye bağlı olarak değişir (129). Örneğin, X' e bağlı kalıtım gösteren OFD1 ve OFD8, *OFD1* ve *OFD8* genindeki varyantlarla ilişkilendirilirken, OFD2, OFD4 ve OFD6 gibi alt tipler, *OFD2*, *TCTN3* ve *CPLANE1* genlerindeki biallelik varyantlara bağlı gözlenirler (129).

Klinik olarak, OFDS ‘den etkilenmiş bireyler yüz asimetrisi ve dudak yarığı gibi kraniyofasiyal anormallikler, dil hamartomu ve yarık damak gibi oral bulgular ve polidaktili, brakidaktili, sindaktili gibi parmak anomalileri sergiler (130). Bununla birlikte altta yatan genetik etiyolojiye göre yapısal kardiyak anomaliler, zihinsel yetersizlik, yapısal beyin anomalileri gibi nörolojik sorunlar, renal kistler ve karaciğerde fibrokistik hastalık gibi ek anomaliler de gözlenebilir (130).

Kraniyoektodermal Displazi

Kraniyoektodermal displazi otozomal resesif olarak kalıtılan, kraniyal iskelet ve ektodermal yapıları etkileyen anomalilerle karakterize nadir bir siliyopatidir (60). Hastalık etiyolojisinden silya oluşumu ve işlevi için kritik olan intraflagellar taşıma sistemine ait proteinleri kodlayan *IFT122*, *WDR35*, *IFT43* ve *WDR19* genlerinde saptanan biallelik patojenik varyantlar sorumludur (60, 61). Bu siliyer disfonksiyon, hücrel sinyal yollarını etkileyerek iskelet sistemi başta olmak üzere çeşitli fenotipik bulgulara neden olur (61). Kranioektodermal displazi başta kraniyal sütürler, ekstremiteler ve ektodermal yapılar olmak üzere saç, diş ve tırnak displazisi ile klinik bulgu verir (128). Hastalarda sıklıkla dolikosefali, sagittal kraniyosinostozis, dar göğüs kafesi, kısa ekstremiteler, brakidaktili ve progresif böbrek disfonksiyonuna yol açan nefronofitizis saptanır (60, 128).

Multisistemik Tutulum ile Giden Siliyopatiler

Vücutta neredeyse tüm hücre tiplerinde bulunan primer silyaların hücrel dengenin sürdürülmesindeki önemi, bu yapıların işlev bozukluğunun çok sayıda organ sisteminde fenotipik bulgulara yol açmasına neden olur. Bu bozukluklar, karmaşık genetik yapıları ve geniş klinik çeşitlilikleri ile öne çıkar. Multisistemik tutulumla giden siliyopati grubu hastalıklarda, klinik bulgular renal anomaliler, retinal patolojiler, iskelet sistemi tutulumundan nörogelişimsel bozukluklara kadar oldukça geniş bir spektrumda gözlenirler. Bu sendromlarda allelik heterojenite, modifiye edici genlerin varlığı gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanan ekspresyon ve penetrans değişikliği de tanımlanır. Ayrıca, binlerce proteinden oluşan karmaşık silya proteomu, bu bozukluklardaki genotip-fenotip korelasyonlarının kurulmasını zorlaştırır. Tezin bu

bölümünde sık görülen multisistemik tutulumlu siliyopati sendromları hakkında bilgi verilecektir.

Bardet Biedl Sendromu (BBS)

Bardet Biedl sendromu, nadir görülen, otozomal resesif kalıtmı ve multisistemik tutulumlu bir siliyopatidir (131-133). Retinal rod-kon distrofisi, obezite, polidaktili, zihinsel yetersizlik, hipogonadizm ve renal kistik hastalık başta olmak üzere çeşitli renal etkilenim sendromun karakteristik bulgularını oluşturur (131-133). Bu bulgulara ek olarak, değişken nörolojik, gastrointestinal, endokrinolojik ve kardiyovasküler sistem bulguları da bildirilmiştir (131-133). Sendromun yaygınlığı coğrafi bölgelere göre değişmekte olup, Avrupa'da 1/160.000 olarak rapor edilirken, akraba evliliklerinin yaygın olduğu Ortadoğu gibi bölgelerde 1/13.500'e kadar yükselmektedir (134-136). BBS' de patofizyolojiden, başta bazal cisim oluşumundan sorumlu proteinler olmak üzere, siliyer membran, siliyer aksonem, transisyonel zonu ve fiberlerinin oluşumunu sağlayan proteinleri ve intraflagellar taşıma ile ilgili proteinleri kodlayan 25 gendeki biallelik/ triallelik fonksiyon kaybı mutasyonlar sorumludur. *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) veri tabanında BBS klinik bulgularıyla ilişkilendirilmiş gen listesi, bu gen ürünlerinin fonksiyon gördüğü siliyer kompartmanlar ve kalıtım biçimleri Tablo 2.3.'te sunulmuştur.

Tablo 2. 3. Bardet Biedl Sendromu ile ilişkilendirilmiş gen listesi, bu gen ürünlerinin fonksiyon gördüğü siliyer kompartmanlar ve kalıtım biçimleri

BBS Tipi	Gen	OMIM #	Etkilenen Silya Bölümü	Kalıtım
BBS1	<i>BBS1</i>	209901	Bazal Cisim	AR
BBS2	<i>BBS2</i>	606151	Bazal Cisim	AR
BBS3	<i>ARL6</i>	608845	Siliyer Membran	AR
BBS4	<i>BBS4</i>	600374	Siliyer Aksonem	AR
BBS5	<i>BBS5</i>	603650	Siliyer Membran	AR
BBS6	<i>MKKS</i>	604896	Bazal Cisim	AR
BBS7	<i>BBS7</i>	607590	Siliyer Aksonem	AR
BBS8	<i>TTC8</i>	608132	Transisyonel Zon	AR
BBS9	<i>BBS9</i>	615986	Bazal Cisim	AR
BBS10	<i>BBS10</i>	610148	Bazal Cisim	AR
BBS11	<i>TRIM32</i>	602290	Siliyer Aksonem	AR
BBS12	<i>BBS12</i>	610683	Bazal Cisim	AR
BBS13	<i>MKS1</i>	609883	Transisyonel Zon	AR
BBS14	<i>CEP290</i>	610142	Transisyon Fibri	AR
BBS15	<i>WDPCP</i>	613580	Bazal Cisim	AR
BBS16	<i>SDCCAG8</i>	613524	Siliyer Aksonem	AR

BBS17	<i>LZTFL1</i>	606568	Bazal Cisim	AR
BBS18	<i>BBIP1</i>	613605	Bazal Cisim	AR
BBS19	<i>IFT27</i>	615870	İntraflagellar Transport	AR
BBS20	<i>IFT74</i>	608040	İntraflagellar Transport	AR
BBS21	<i>C8orf37</i>	614477	Fotoreseptör Bağlantılı Silyum	AR
BBS22	<i>IFT172</i>	607386	İntraflagellar Transport	AR
BBS23	<i>CFAP298</i>	617845	Siliyer Aksonem	AR
BBS24	<i>C2CD3</i>	615779	Bazal Cisim	AR
BBS25	<i>KIAA0556</i>	616045	Bazal Cisim	AR

Sendromun klinik tanısı, Tablo 2.4. ' de sunulan klinik tanı kriterleri ile yapılır (137). Bu kriterlere göre, dört ana özelliğin varlığı veya üç ana ve iki yan özelliğin bir arada bulunması tanı koymak için yeterlidir (137). Ancak, bazı klinik bulguların henüz ortaya çıkmadığı erken çocukluk döneminde hastaları değerlendirirken tanı kriterleri yetersiz kalabilir (137, 138).

Tablo 2.4. BBS tanısında kullanılan majör ve minör tanı kriterleri (137).

Majör Bulgular	Minör Bulgular
Retinal Kon-Rod distrofisi	Nörolojik anomaliler (Ataksi, Koordinasyon bozukluğu, Konuşmada gecikme)
Santral Obezite	Olfaktör disfonksiyon
Postaksiyel Polidaktili	Oral/dental anomaliler
Zihinsel Yetersizlik	Gastrointestinal anomaliler
Hipogonadizm	Kardiyovasküler ve/veya Diğer Torakoabdominal Anomaliler (Konjenital kalp hastalıkları, situs ambiguus)
Renal hastalık	Endokrin/ Metabolik sorunlar

Bardet Biedl sendromu ile ilgili bildirilen tüm alt tiplerde, sendrom otozomal resesif kalıtım biçimi gösterir (137). Bununla birlikte bazı vakaların, triallelizm/ digenik kalıtım olarak adlandırılan, otozomal resesif kalıttan sapma gösterebildiği bildirilmiştir (67, 139). Bu durumun BBS' nin heterojen fenotipine katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (67, 139).

BBS fenotiplerin ayrıntılı incelenmesi, farklı BBS genlerindeki varyantlarla bu klinik bulguların eşleştirilmesi ile çeşitli genotip-fenotip korelasyonları kurulmuştur

(137, 140) . Bunlara göre, BBS ile ilgili en sık varyant saptanan genler *BBS1* ve *BBS10* olarak bildirilmektedir (133, 140, 141). *BBS1* varyantları olan bireylerin rod-kon distrofisi, santral obezite, öğrenme güçlüğü ve böbrek anomalileri gibi tipik, ancak hafif fenotiple bulgu verdiği bildirilirken, *BBS10* geninde varyant saptanan bireylerde erken başlangıçlı retina distrofisi, belirgin obezite, ağır ve erken başlangıçlı renal fonksiyon bozukluğu gibi daha şiddetli bir fenotip tanımlanmaktadır (133, 140, 141). Öte yandan *BBS3*, *BBS8*'de varyant saptanan hastalarda daha az sendromik fenotiplerin gözlendiği, *BBS2*, *BBS17* ve *BBS21* varyantların bulunduğu bireylerde ise klasik bulgulara polidaktilinin, daha fazla eşlik ettiği tanımlanmıştır (133, 137, 140, 141).

Alström Sendromu (AS)

Alström sendromu, retinal rod-kon distrofisi, santral obezite, sensörinöral işitme kaybı, kardiyomiopati, insülin direnci/tip 2 diyabet mellitus, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı ve kronik böbrek hastalığı dahil olmak üzere bir multisistemik bulgular ile karakterize bir silyopatidir (142, 143).

Otozomal resesif olarak kalıtılan AS'dan, 2p13 bölgesinde yer alan *ALMS1* genindeki bilallelik varyantlar sorumludur. *ALMS1* özellikle primer silyaların fonksiyonu üzerindeki etkisi ile hücre döngüsünün kontrolü ve hücre içi trafiğin düzenlenmesinde önemli roller oynar (144, 145).

AS'deki rod-kon distrofisi, genellikle doğumdan 15. aya kadar olan sürede başlayan ilerleyici görme bozukluğu, fotofobi ve nistagmus olarak kendini gösterir ve birçok bireyde ikinci dekada kadar tam görme kaybına ilerler (142, 143). AS'li çocuklar genellikle normal doğum ağırlığına sahiptir ancak ilk yıl içinde santral obezite geliştirirler. İlk dekatta bulgu vermeye başlayan sensörinöral işitme kaybı ikinci dekad sonuna kadar şiddetli seviyelere ilerleyebilir (142, 143). Kardiyak belirtiler arasında, infant döneminde dilate kardiyomiopati, ergenlik/yetişkin dönemde restriktif kardiyomiopati bulunur. Sendrom ayrıca hipotiroidizm, erkeklerde hipogonadotropik hipogonadizm, kadınlarda hiperandrojenizm gibi çeşitli endokrinolojik disfonksiyonlar ile de ilişkilidir (142, 143). İlerleyici böbrek yetmezliği ve hepatik disfonksiyon sendromun diğer bulguları arasında yer alır. Nörogelişimsel

alandaki etkilenen bireylerin yaklaşık %20'si, özellikle kaba ve ince motor becerilerde, erken gelişim döneminde gecikmeler yaşar (142, 143). Yaklaşık %30'u öğrenme güçlüğü çeker, ancak zihinsel yetersizlik nadir olarak gözlenir (142, 143). Klinik bulgular açısından aynı aile içerisindeki bireyler arasında bile değişken ekspresivite bildirilmektedir (146).

Joubert Sendromu (JS)

Joubert sendromu, beyin sapı ve serebellar bölgede yapısal anomalilere bağlı, beyin manyetik rezonans görüntüleme (MRG) "molar diş işareti" olarak tanımlanan ayırt edici bir görüntü ile karakterize nörogelişimsel bir siliyopatidir (147, 148). Molar diş işareti, serebellar vermisin hipoplazisi veya aplazisi, kalınlaşmış üst serebellar pedinküller ve genişlemiş interpedinküler fossa gibi anormalliklerin birleşiminden kaynaklanır (147, 148).

Sendromdaki nörolojik bulgular, infant döneminde hipotonisite, sonraki dönemlerde ise motor basamaklarda gerilik, ataksi ile kendini gösterebilir (147, 148). Global gelişme geriliği, öğrenme güçlükleri ve çeşitli derecelerde zihinsel yetersizlik gözlenebilir (147-150). Retinal distrofi, nistagmus ve okülomotor apraksi sendromla ilişkili olarak bildirilen göz bulgularıdır (151, 152). Renal kistler, hepatik fibrozis, hipotiroidizm, hipogonadotropik hipogonadizm gibi endokrinolojik sorunlar, otizm spektrum bozuklukları sendromla ilgili bildirilen diğer bulgular arasında yer alır (149, 150, 153, 154). Joubert sendromunda klinik bulguların yaygınlığı ve şiddeti, aynı aile içerisindeki bireyler arasında bile değişkenlik gösterebilir.

Joubert sendromundan, 35'ten fazla gende ve büyük bir çoğunluğu biallelik olan, fonksiyon kaybına yol açan varyantlar sorumlu tutulmaktadır. Etiyolojideki tanımlanan genler silya oluşumu (155), transisyonel fiber oluşumu (156), silya zarının korunması (157), intraflagellar taşıma (158) veya SHH sinyal yolağı (159) ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar içerisinde *TMEM67*, *CEP290* ve *AH11* en sık varyant saptanan genler olarak öne çıkmaktadır (160). *TMEM67*'deki varyantlar, siliyer membran oluşumu ve hücre içi sinyal yollarındaki kritik rolü nedeniyle birçok JS alt tipi ile ilişkilendirilir (161). Sentrozomal bir protein olan *CEP290*'daki varyantlar ise, siliyogenez bozarak renal, retinal ve hepatik sorunlar dahil olmak üzere JS ilişkili

multisistemik sorunlara neden olur (162-164). *AHII*'deki varyantlar ise çoğunlukla primer görme sorunları ile bulgu veren JS vakaları ile ilişkili olarak bildirilmektedir (165, 166). X'e bağlı kalıtımın bildirildiği tek Joubert sendromu fenotipi, *OFDI* genindeki varyantlara ikincil gözlenen, klasik JS bulgularına ek olarak orofasiyodijital anomalilerin de görüldüğü alt tiptir (167-169).

Meckel- Gruber Sendromu

Meckel-Gruber sendromu, kistik displastik böbrekler, posterior fossa anomalileri (okspital ensefalosel vb.) ve hepatik duktal displazi ile karakterize, otozomal resesif geçişli ve sıklıkla fatal bir siliyopatidir (170, 171). Karakteristik olarak tanımlanan bulgulara, hastaların %70-80'inde polidaktili de eşlik eder (170, 171). Ek olarak hastalarda, konjenital kalp defektleri, mikroftalmi veya anoftalmi, hidrosefali, mikrosefali ve polimikrogri gibi merkezi sinir sistemi anomalileri ve iskelet anomalileri de saptanabilir (170).

Altta yatan genetik etiolojinin heterojen olduğu Meckel-Gruber sendromundan, siliyogenez ve silya fonksiyonunun idamesi için önem taşıyan, bir kısmı Joubert sendromu, COACH sendromu, orofasiyodijital sendrom, nefronofitizis ve Bardet-Biedl sendromu gibi diğer siliyopatilerle allelizm gösteren, yaklaşık 14 gendeki biallelik patojenik varyantlar sorumlu tutulmaktadır(170). Meckel-Gruber sendromunda fenotipik ekspresivite sıklıkla bildirilir; aynı aile içerisindeki bireylerde bile bulguların yaygınlık ve şiddeti değişken olabilir (170, 171). Altta yatan varyantın saptandığı gene göre de klinik bulguların yaygınlığı ve şiddeti değişiklik gösterebilir. Örneğin, *CEP290* genindeki varyantlar genellikle ciddi böbrek tutulumu ve retinal distrofi ile ilişkilendirilirken (172), *RPGRIP1L* varyantlarının şiddetli hepatik fibrozis ve ensefalosele yol açtığı bildirilmektedir (173). Benzer şekilde, *MKS1* ve *MKS3* varyantlarının, orofasiyal ve iskelet anomalileri dahil olmak üzere daha geniş bir semptom yelpazesi ile bağlantılı olduğu rapor edilmiştir (174, 175).

McKusick-Kaufman Sendromu (MKKS)

McKusick-Kaufman sendromu, kızlarda hidrometrokolpos, erkeklerde genital anomaliler, postaksiyal polidaktili ve konjenital kalp anomalileriyle karakterize, nadir

görülen bir otozomal resesif bir siliyopatidir (176). Etkilenen bireylerde tanının konulmasını sağlayan bu üç ana bulguya ek olarak, global gelişme geriliği, renal anomaliler, gastrointestinal sisteme ait malformasyonlar da gözlenebilir (176).

Otozomal resesif kalıtımın tanımlandığı MKKS' dan 20p12'de yer alan *MKKS* genindeki biallelik patojenik varyantlar sorumludur (177, 178). MKKS siliyer proteinlerin montajını ve işlevini etkileyen şaperonin benzeri bir protein kodlar. Bu gende meydana gelen mutasyonlar siliyer yapıda görevli bu proteinlerin işlevini bozarak hücre içi sinyalizasyonda sorunlara neden olarak özellikle Bardet Biedl sendromundaki klinik bulgularla örtüşen fenotipik bulgulara neden olur (177-179).

2.9. Yeni Nesil Dizileme Teknolojileri

İnsan Genom Projesi'nin gelişimiyle birlikte, düşük maliyetli dizileme teknolojileri de önemli bir ivme kazanmıştır (180). Bu yeni teknolojiler, genetik materyalin hızlı ve ekonomik bir şekilde analizini sağlayan, yüksek kapasiteli yöntemlerdir (181). Yeni nesil dizileme (YND), milyonlarca DNA parçasının aynı anda dizilenmesini mümkün kılarak hem yaygın, hem de nadir genetik varyantlar, yapısal varyantlar ve kopya sayısı değişimleri dahil olmak üzere, genoma geniş ve detaylı bir bakış açısı sağlamaktadır (181). YND temelde genomun küçük parçalara bölünerek çoğaltılması ve bu parçaların eklene adaptör moleküller sayesinde belirli bir yüzey üzerinde çoğaltılıp okunması prensibine dayanır. Bu yöntemde genomun her bir bölgesi çok kez okunur. Okumalardan elde edilen diziler referans genoma hizalanır ve farklılıklar belirlenmeye çalışılır (182). Çalışmanın güvenilirliği, ortalama okuma sayısını gösteren okuma derinliği (örneğin 50X, 90X) ve dizileme yapılan genom bölümünün ne kadarının okunduğunu yansıtan kapsama oranı (örneğin %90, %95) ile ifade edilir. YND ile tüm genom veya genomun belirli bir bölümü dizilebilir. Genomun transkripsiyona uğrayan kısmının dizilenmesine ekzom dizileme denir. Mendelyan hastalıkların büyük bir kısmından sorumlu olan varyantlar kodlayan bölgede yer aldığından, ekzom dizileme bu hastalıkların büyük bir kısmının çözümlenmesine olanak tanır. Genom dizileme analizinde ise mitokondriyal genom da dahil olmak üzere, tüm genom dizilenir. Ekzom veya genom dizileme sonucu elde edilen varyantlar arasından, nedensel olanı bulmak için, allel frekansı, varyantın

protein fonksiyonu üzerindeki etkisi, fenotip bilgisi ve kalıtım biçimi bilgisi gibi bilgiler kullanarak filtreleme yapılması gerekir (181).

YND'nin ilk kurulum maliyetleri yüksek olmakla birlikte, dizilenmiş baz çifti başına maliyetin önemli ölçüde azalması, geniş çaplı taramaların ekonomik ve hızlı olarak uygulanabilir hale gelmesini sağlamıştır. Bununla birlikte büyük verinin biyoinformatik analizinde ve yorumlanmasında güçlükler, klinik önemi bilinmeyen varyantları (VUS) yorumlamakla ilgili yaşanan zorluklar, bazı genomik bölgelerin dizilenmesinde yaşanan güçlükler, kapsama sorunları ve ikincil bulguları yönetme ile ilgili sorunlar YND tabanlı tanının potansiyelini tam olarak gerçekleştirmek için aşılması gereken engeller olarak karşımıza çıkmaktadır (181).

2.9.1. Siliyopati Tanısında Yeni Nesil Dizileme

Siliyopatilerin altında yatan karmaşık ve çeşitlilik gösteren genetik faktörleri anlamak ve bu alanda kesin tanı yöntemleri geliştirmek, hasta izlemine ve prognozu iyileştirmek açısından son derece önemlidir. Genomik tıpta dönüştürücü bir teknoloji olan YND siliyopati grubunda yer alan hastaların hızlı tanı almasına olanak sağladığı gibi araştırma alanında da siliyopatilerle ilişkili yeni genlerin keşfedilmesine, genotip-fenotip ilişkilerinin oluşturulmasına ve hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesine önemli katkılarda bulunmaktadır (183). Özellikle son dekatta Sanger dizilemeden *Illumina* ve *Ion Torrent* gibi YND platformlarına geçiş, analiz maliyetlerini önemli ölçüde azaltmış ve genomik veri üretiminin hızını ve kapsamını artırmıştır. Siliyopatilerde gözlemlenen fenotipik ve genotipik çeşitliliği göz önünde bulundurduğumuzda, tüm ekzom dizileme (WES) ve tüm genom dizileme (WGS) analizleri gibi yöntemler, klinik bulgularla ilişkili tüm genlerin eş zamanlı olarak incelenmesine olanak tanıyarak, hastaların tanılarını hem hızlı, hem de maliyet açısından etkin bir şekilde almalarını sağlamaktadır. Bu analizler, tanı sürecini hızlandırmanın ötesinde, etiyolojiden sorumlu yeni genleri ve genotip-fenotip ilişkilerini belirlemede de yeni yollar açmaktadır. Bu sayede, siliyopatilerin karmaşık yapısının daha iyi anlaşılmasına ve bu hastalıkların daha etkili bir biçimde ele alınmasına katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle, WES ve WGS, siliyopatilerin tanı ve yönetiminde kritik bir öneme sahip modern araçlar olarak kabul edilmektedir (183).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı'nda klinik bulguları nedeniyle siliyopati grubu hastalık ön tanısıyla izleme alınan, altta yatan olası genetik etiyojinin henüz aydınlatılmadığı ve tercihan soyağacında belirli bir Mendelyan kalıtım kalıbının izlenebildiği, toplam sekiz hasta dahil edildi.

Bu tez çalışmasına, Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayını almak için GO 18/623 kayıt numarası ile başvuru yapıldı. Başvuru 27.11.2018 tarihli toplantıda GO 18/623-02 karar numarası ile onay aldı.

3.1. Klinik Genetik Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilen hastalara ait demografik bilgiler, klinik öykü, aile ağacı bilgileri, fizik muayene, laboratuvar ve radyolojik görüntüleme bulguları, izlemde oldukları diğer bölümlere ait konsültasyon notları veri toplama formları aracılığı ile kaydedildi.

Ebeveynlerden ve uygun olduğunda hastalardan aydınlatılmış onam alınması sonrasında hastalardan, anne-baba ve belirlenen diğer etkilenmiş bireylerden DNA izolasyonu için periferik kan örnekleri alındı. Örnekler tüm ekzom dizileme için laboratuvara iletildi.

3.2. Laboratuvar Yöntemleri

3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Periferik kandan DNA elde etme işlemi, amonyum asetat kullanılarak çökelme yöntemi veya ticari kitler aracılığıyla gerçekleştirildi. Çökelme yöntemi uygulanırken, 10 cc hacmindeki EDTA içerikli kan, Falcon® tüplerine aktarıldı. Ardından otoklavlama yöntemiyle sterilize edilmiş soğuk distile su ile tüpler 50 ml hacme ulaşacak şekilde dolduruldu ve iyice karıştırıldı. Daha sonra 1750 rpm' de 20 dakika süren santrifüj işleminden geçirildi ve üstteki sıvı ayrıştırıldı. Kalan pelet, soğuk distile su ile tekrar 45 ml' ye tamamlanarak hafifçe karıştırıldı ve 1900 rpm' de 20 dakika daha

santrifüj edildi. Süpernatant döküldükten sonra tüpe 3 ml NLB solüsyonu ilave edilerek iyice çalkalandı ve solüsyona Proteinaz- K ve %10 SDS çözeltisi eklendi. Vortexlenip karıştırıldıktan sonra tüpler, DNA'nın çözünmesi için 37°C' lik inkübatörde 16 saat boyunca bekletildi. İşlem sonrasında, tüpe 3 ml amonyum asetat eklenip karıştırıldı ve oda sıcaklığında 20 dakika dinlendirildi. 4000 rpm' de 20 dakika santrifüj edilen karışımın süpernatantına alkol eklenerek, ikinci bir Falcon® tüpüne taşındı. Tüp çalkalandığında DNA kümeleri gözle görülür hale geldi ve bir pipet ucu yardımıyla TE tamponu içeren bir eppendorf tüpe aktarıldı. DNA' nın çözünmesi için tüp gece boyunca inkübatörde bekletildi ve sonrasında kullanıma hazır hale geldi. Kullanılmayan DNA ise - 20°C' de saklanmak üzere derin dondurucuya alındı.

3.2.2. Tüm Ekzom Dizileme

Tüm ekzom dizileme için laboratuvarımızda bulunan ve Ubuntu 10.04 işletim sistemine sahip, 128 GB RAM ve 27 TB veri depolama alanına sahip, çift sekiz çekirdekli 2.9 GHz işlemciye sahip Proton™ Torrent Server kullanıldı. Ayrıca, Windows tabanlı üçüncü parti biyoinformatik yazılımları çalıştırmak için, 32 GB RAM ve 1.25 TB depolama kapasitesine sahip, 2.33 GHz Intel Xeon işlemcili IBM x3650 sunucumuzdan yararlanıldı. Islak laboratuvar ve biyoinformatik analiz süreçleri laboratuvarımızda gerçekleştirildi. Islak laboratuvar sürecinde öncelikle DNA örneklerinin miktar ve saflık değerlendirmeleri için NanoDrop cihazı kullanılarak spektrofotometrik ölçüm yapıldı, sonrasında Qubit cihazıyla florometrik ölçümler gerçekleştirildi. Sonuçlar 260 nm/ 280 nm oranının değer aralığı 1.8- 2.0 ve 260 nm/ 230 nm oranının değer aralığı 2. 0- 2. 2 olacak şekilde değerlendirildi. Ardından, örnekler 50 nanogram DNA içerecek şekilde hazırlanıp kütüphane oluşturma sürecine alındı. Tüm ekzom kütüphanesi oluşturulurken, Ampliseq Exome RDY Kit kullanıldı. Bu kit sayesinde geniş bir primer havuzundan yaklaşık 290.000 hedef bölge amplifiye edildi. Bu amplifikasyon işlemleri sonrasında, her hastanın primer havuzları birleştirildi, FuPa solüsyonu ile uçlar düzeltildi ve adaptörlerle barkotlar eklendikten sonra AmPure boncukları kullanılarak kütüphaneler temizlendi. Elde edilen kütüphanelerin konsantrasyonları, üretici önerileri doğrultusunda (300- 3000 ng/ ml aralığında) Qubit cihazıyla ölçüldü. emPCR işlemiyle klonal amplifikasyon gerçekleştirilerek kütüphaneler çoğaltıldı. Ion One Touch cihazı kullanılarak

(ACMG) varyant sınıflandırma kanıtları kullanılarak rehberde belirtilen benign (B), olası benign (LB), klinik önemi belirsiz (VUS), olası patojenik (LP), patojenik (P) olmak üzere beş sınıftan birine dahil edildi (184). Hastadaki klinik bulgular ile ilişkili olan P, LP ve VUS varyantlar bulgular kısmında sunuldu.

Tablo 3.1. Varyant filtrenmesinde ve sınıflandırılmasında kullanılan veri tabanları ve araçlar.

Veri Tabanı/ Araç Adı	Web Adresi
Ensembl Veri Tabanı	http://www.ensembl.org/
NCBI Veri Tabanı	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/
UCSC Veri Tabanı	http://genome.ucsc.edu/
GeneCards Veri Tabanı	http://genecards.org/
HapMap Projesi Veri Tabanı	http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/
1000 Genomes Projesi Veri Tabanı	http://www.1000genomes.org/
Exome Aggregation Consortium (ExAC)	http://exac.broadinstitute.org/
Genome Aggregation Database (gnomAD)	http://gnomad.broadinstitute.org/
dbSNP	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/
dbVar	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar/
ClinVar	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/
Human Gene Mutation Database (HGMD)	http://www.hgmd.cf.ac.uk/
Variant Call Format (VCF)	http://vcftools.sourceforge.net/
MutationTaster	http://www.mutationtaster.org/
Polymorphism Phenotyping (PolyPhen-2)	http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/
SIFT	http://sift.jcvi.org/
Variant Effect Predictor	http://www.ensembl.org/info/docs/tools/vep/
Human Splicing Finder	http://www.umd.be/HSF/
CADD	https://cadd.gs.washington.edu/
Meta LR	https://sites.google.com/site/jpopgen/dbNSFP
Splice AI	https://github.com/Illumina/SpliceAI
Human Phenotype Ontology (HPO)	https://hpo.jax.org/app/

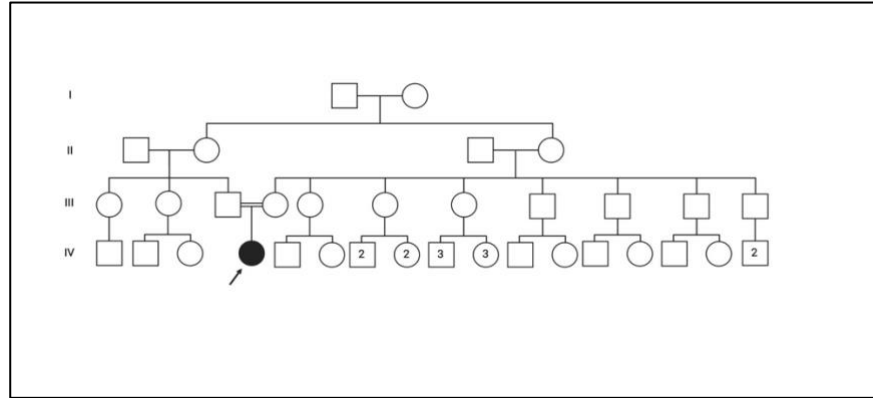
4. BULGULAR

Çalışmaya üç erkek, beş kız toplam sekiz hasta dahil edildi. Hastaların yaşı 2 ila 15 yaş arasında değişmekteydi. Sekiz hastanın yedisinde, anne ve baba arasında akrabalık öyküsü bulunurken, üç hastada benzer bulgularla etkilenmiş kardeş öyküsü vardı. Analiz sonucunda hastaların beşinde, BBS10, TTC26, CC2D2A ve CEP290 genlerinde, toplam altı varyantın klinik bulgulardan sorumlu olduğu, bunların da üçünün daha önce bildirilmemiş varyantlar olduğu tespit edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalara ait klinik bulgular, aile öyküsü, WES analiz aşamaları ve analiz sonuçları aşağıda sunuldu.

4.1. 1 No.'lu Birey

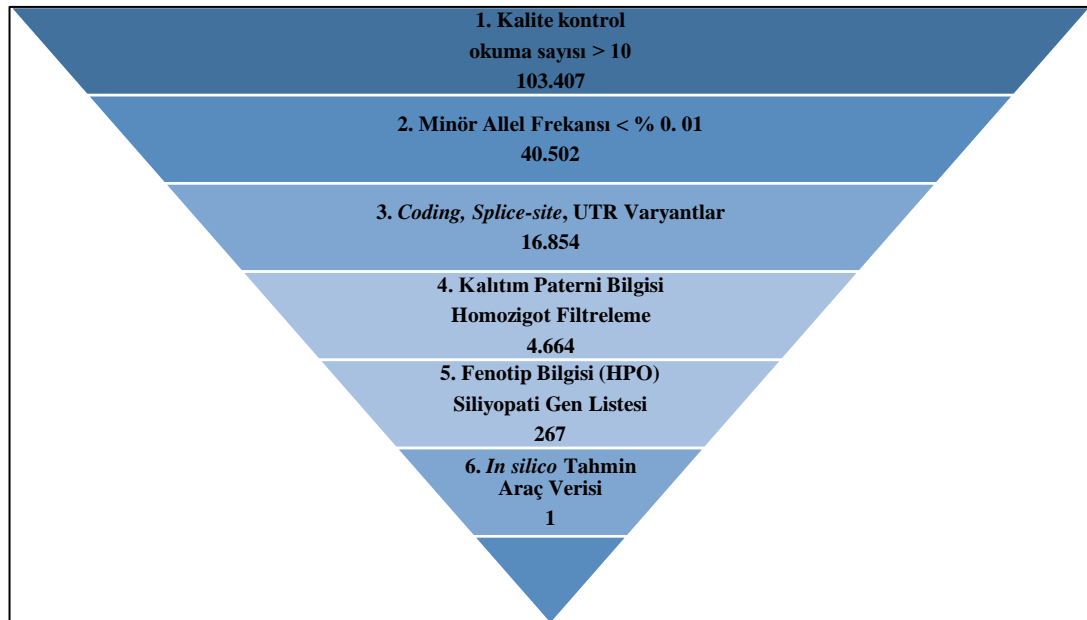
1 no.' lu birey, 13 yaşındaki kız hastaydı. Aralarında birinci derece kuzen evliliği bulunan anne ve babanın ilk çocuğuydu. Doğum sonrası üçüncü aydan itibaren global gelişme geriliği ve sol göz kapağında pitozis nedeniyle dış merkezde takip ediliyordu. Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalına global gelişme geriliği nedeniyle konsülte edilmişti. Hastanın yapılan muayenesinde, orta dereceli global gelişme geriliği mevcuttu; sol göz kapağında pitozis dışında herhangi bir dismorfik bulgu saptanmadı. Boy, kilo ve baş çevresi dahil olmak üzere tüm antropometrik ölçümlerinin 3 persentilin altında olduğu belirlendi. Yapılan tetkiklerinden; abdominal ultrasonografi incelemesinde karaciğer ve safra kesesi ekojenitesinde artış ve hepatosplenomegali saptandı. Kranial MRG' de beyin sapı disgenezisi ve molar diş görünümü tespit edildi. Göz muayenesinde belirgin bir retinopati bulgusuna rastlanmadı ancak ERG incelemesinde her iki tarafta gecikmiş latanslar saptandı. Aile öyküsünde benzer biçimde etkilenmiş birey bildirilmedi.

Hastada saptanan global gelişme geriliği, büyüme geriliği ve kranial MRG'de molar diş görünümü nedeniyle siliyopati grubu hastalıklar ön planda düşünülerek WES analizi planlandı. Hastaya ait soyağacı Şekil 4.1.' de sunuldu.



Şekil 4.1. 1 no.'lu bireye ait soyağacı.

WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı Şekil 4.2.'de, filtrelemede kullanılan HPO terimleri ise Tablo 4. 1.'de sunuldu.

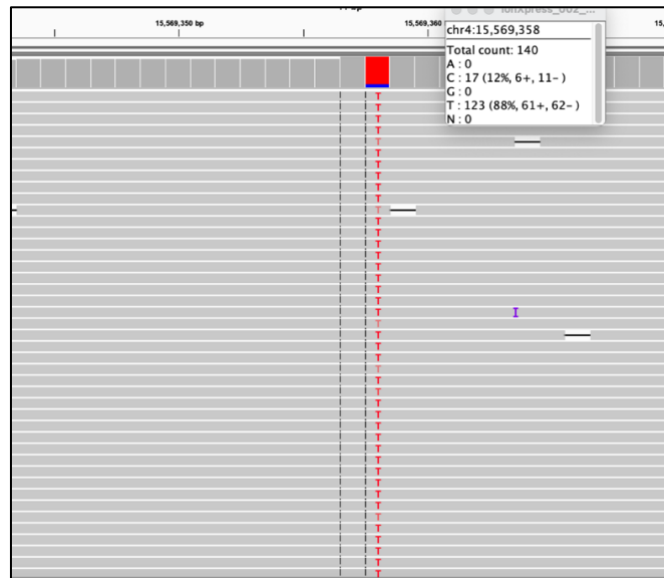


Şekil 4.2. 1 no'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında belirlenen aday varyant sayısı.

Tablo 4.1. 1 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.

HPO Kodu	Fenotip
HP:0001510	Büyüme geriliği
HP:0007687	Tek taraflı pitozis
HP:0001263	Global gelişme geriliği
HP:0001249	Zihinsel yetersizlik
HP:0002363	Anormal beyin sapı morfolojisi
HP:0002419	MRG'de molar diş görünümü
HP:0001744	Splenomegali
HP:0002240	Hepatomegali
HP:0031142	Anormal hepatik ekojenite

Analiz sonucunda *missense* CC2D2A geninde, ENST00000424120.5 transkriptinde, c. 3347C>T (p.Thr1116Met) varyantı homozigot durumda saptanarak aday varyant olarak belirlendi. Bu varyant GnomAD veri tabanında sağlıklı bireylerde, homozigot olarak bildirilmemişti (ACMG-PM2 kriteri). Varyantın protein fonksiyonu üzerinde etkisini *in silico* olarak inceleyen ve kombine data sağlayan CADD aracına göre 25 skoru ile patojenik olarak değerlendiriliyordu (ACMG- PP3 kriteri). Varyant gen ürünü için *hot spot* olarak belirlenen CC2D2A_ HUMAN domain 'C2' de yer alıyordu (ACMG-PM1 kriteri) ve daha önce 'COACH Sendromu-2' fenotipi ile ilişkili patojenik olarak bildirilmişti (185-187) (ACMG-PP5 kriteri). Hastada saptanan CC2D2A geninde, ENST00000424120.5 transkriptinde c. 3347C> T (p. Thr1116Met) varyantı PM1, PM2, PP3 ve PP5 kriterleri ile ACMG rehberi önerilerine göre, olası patojenik olarak sınıflandırıldı. Varyanta ait IGV görüntüsü Şekil 4. 3.'de sunuldu.

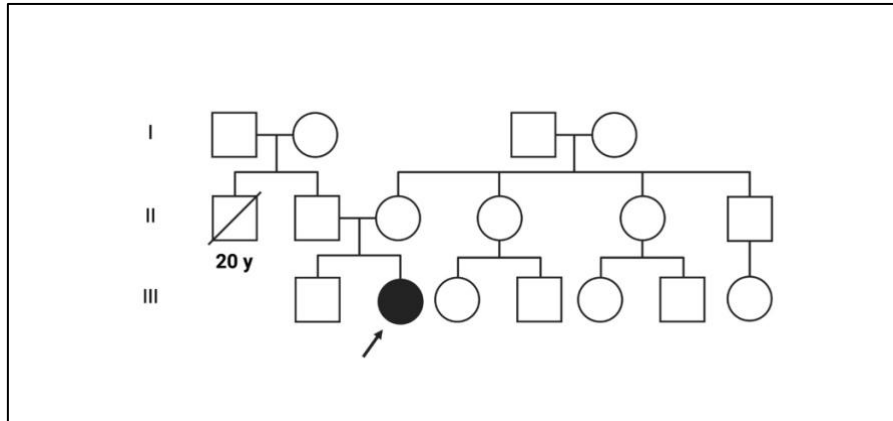


Şekil 4.3. 1 no.'lu bireyde saptanan CC2D2A, c.3347C>T varyantının IGV görüntüsü.

4.2. 2 No.'lu Birey

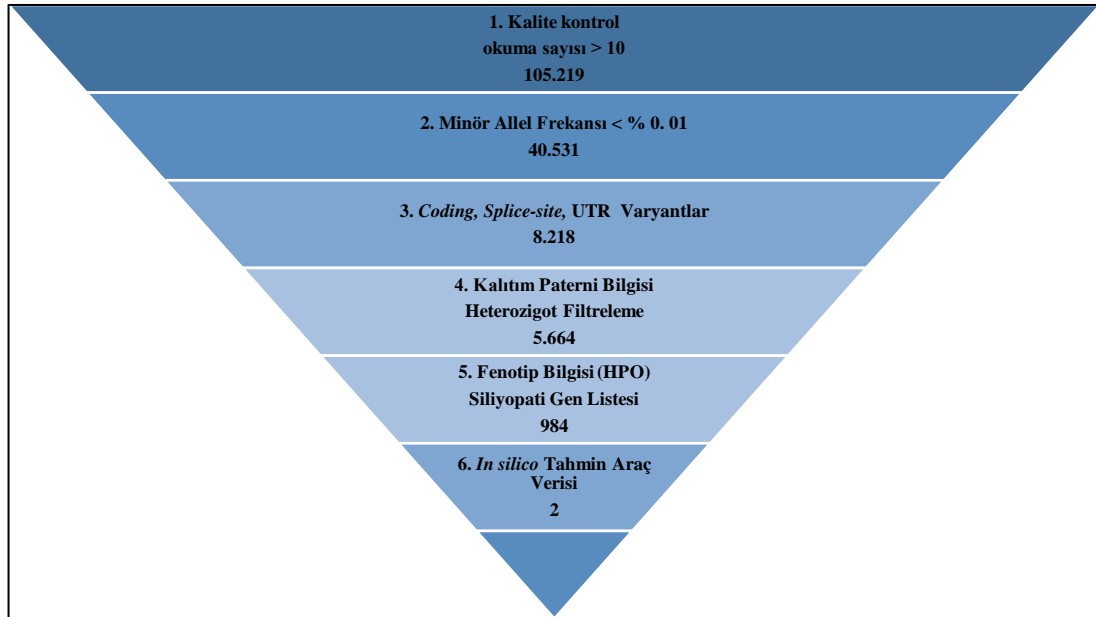
2 no.'lu birey, iki yaşındaki kız hastaydı. Aralarında akrabalık bulunmayan anne ve babanın ikinci çocuğu olarak miadında 3100 gr doğmuştu. Prenatal gebelik takiplerinde bilateral renal kistler, serebellar vermis agenezisi ve polidaktili saptanmıştı. Hastanın postnatal dönemde yapılan renal ultrasonografisinde de bilateral

renal kistler ve pelvikaliektazi gözlenmişti. Çocuk Nefrolojisi Bilim Dalında yapılan muayenesinde hipertansiyon saptanarak antihipertansif tedavi başlanmıştı. Postnatal kraniyal MRG ile prenatal saptanan serebellar vermis agenezisi doğrulanmıştı. Doğumdan itibaren tüm gelişim basamaklarında gerilik saptanan hasta, Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalına siliyopati grubu hastalık ön tanısı ile konsülte edilmişti. Hastanın muayenesinde; yüksek alın, yukarı eğimli palpebral aralıklar, derin yerleşimli gözler, bilateral nistagmus, sağ göz kapağında ptozis, her iki elde postaksiyel polidaktili ve orta dereceli global gelişme geriliği saptandı. Antropometrik ölçümlerinde vücut ağırlığı ve baş çevresinin 3 persentilin altında olduğu, boy ölçümünün ise 10–25 persentilde olduğu görüldü. Göz muayenesinde belirgin bir retinopati bulgusuna rastlanmadı, ancak ERG incelemesinde her iki tarafta gecikmiş latanslar belirlendi. Aile öyküsünde benzer biçimde etkilenmiş birey bildirilmedi. Hastaya ait aile ağacı Şekil 4. 4.' te sunuldu.



Şekil 4.4. 2 no.'lu bireye ait soyağacı.

WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı Şekil 4.5.'te, filtrelemede kullanılan HPO terimleri ise Tablo 4. 2.'de sunuldu.



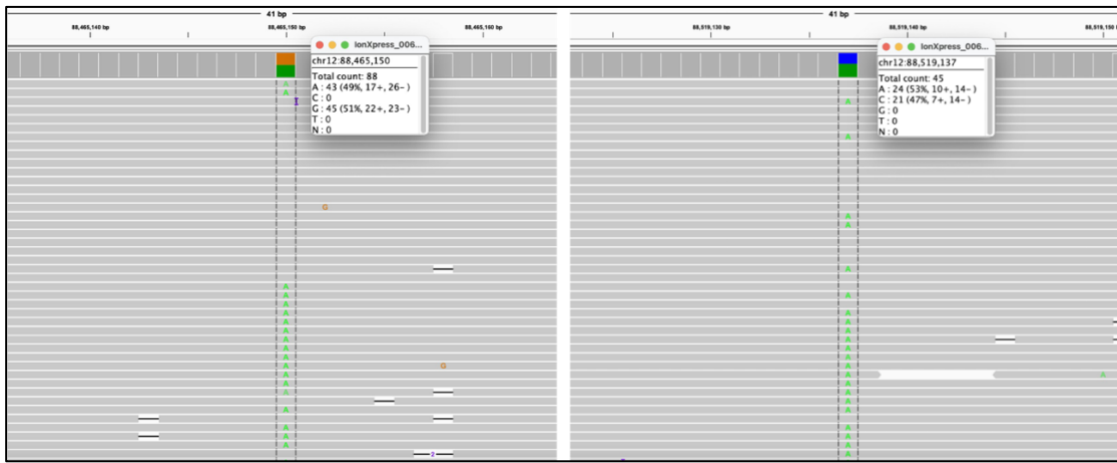
Şekil 4.5. 2 no'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında belirlenen aday varyant sayısı.

Tablo 4.2. 2 no'lu bireyde WES analizinde, fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri .

HPO Kodu	Fenotip
HP:0000430	Az gelişmiş burun kanatları
HP:0000639	Nistagmus
HP:0001631	Atriyal septal defekt
HP:0000822	Hipertansiyon
HP:0001642	Pulmoner stenoz
HP:0010535	Uyku apnesi
HP:0010442	Polidaktili
HP:0000113	Polikistik böbrek
HP:0001263	Global gelişme geriliği
HP:0002335	Serebellar vermis agenezisi
HP:0002419	MRG'de molar diş görünümü

WES analizinde CEP290 geninde ENST00000552810.6 transkriptinde c.5932C>T (p.Arg1978Ter) ve ENST00000552810.6 transkriptinde c.1075G>T (p.Glu359Ter) varyantları heterozigot olarak saptandı. CEP290 geninde saptanan her iki varyant da GnomAD veri tabanında sağlıklı bireylerde bildirilmemişti (ACMG-PM2 kriteri) ve proteinde işlev kaybına neden olan *nonsense* varyantlardı (ACMG-PVS1 kriteri). CEP290 geninde, ENST00000552810.6 transkriptinde c.5932C>T

(p.Arg1978Ter) varyantı daha önce Joubert sendromu ile ilişkili patojenik olarak rapor edilmişti (56, 167, 188-190) (ACMG-PP5 kriteri). CEP290 geninde ENST00000552810.6 transkriptinde c.1075G>T (p.Glu359Ter) varyantı ise daha önce bildirilmemiş bir varyanttı. Her iki varyant sırası ile PVS1, PM2, PP5 ve PVS1, PM2 kriterleri ile ACMG rehberi önerilerine göre olası patojenik olarak sınıflandırıldı. Anne ve babada yapılan segregasyon analizi varyantların trans bileşik heterozigot (biallelik) yerleşimini konfirme etti. Varyantlara ait IGV görüntüleri Şekil 4.6.'da sunuldu.

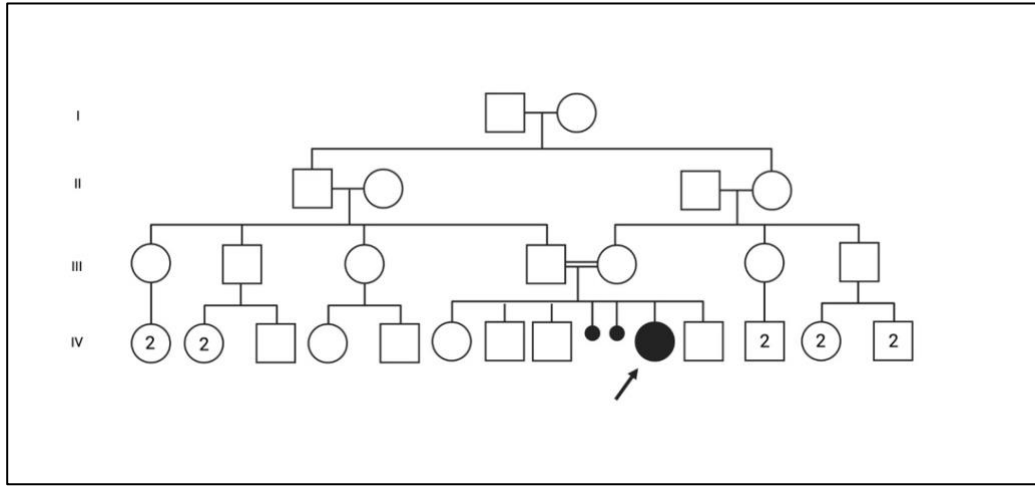


Şekil 4.6. 2 no.'lu bireyde saptanan CEP290, c. 5932C>T; c. 1075G>T varyantlarına ait IGV görüntüsü.

4.3. 3 No'lu Birey

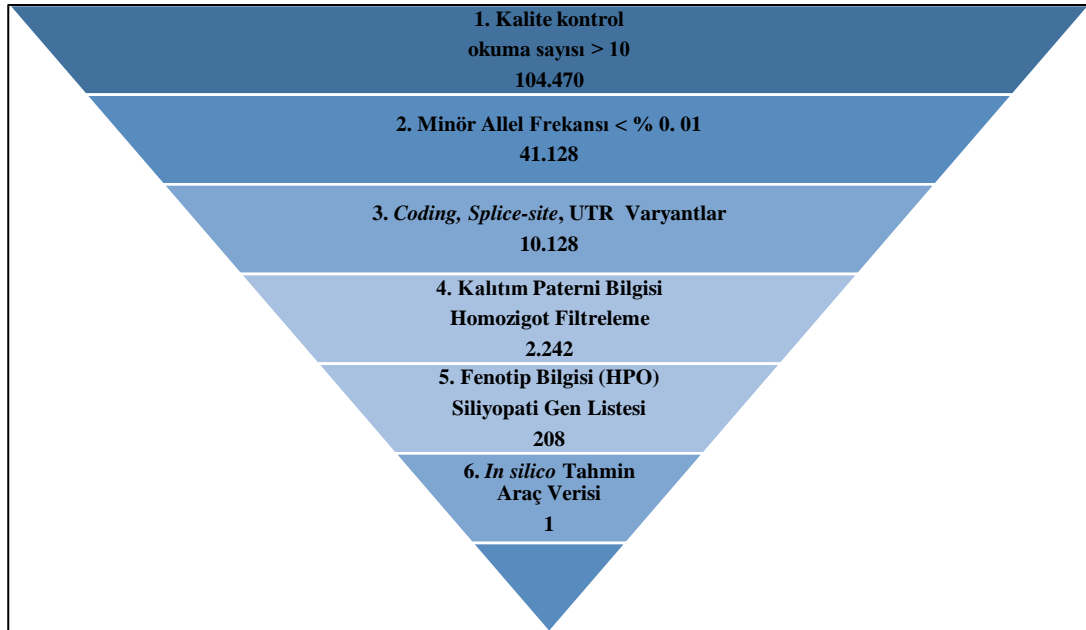
3 no.'lu birey altı yaşındaki kız hastaydı. Aralarında ikinci derece akrabalık bulunan anne ve babanın, dördüncü yaşayan çocuğu olarak, miadında 3100 gr doğmuştu. Doğum sonrası morarma ve solunum güçlüğü nedeniyle yapılan ekokardiyografisinde atrioventriküler septal defekt (AVSD) saptanmıştı. Dış merkezde yapılan izleminde; on aylıkken kusma ve beslenme güçlüğü nedeniyle yapılan abdominal ultrasonografide intrahepatik safra yollarında genişleme, abdominal tomografide ise Caroli hastalığı ile uyumlu, intrahepatik safra yollarında kistler saptanmıştı. Doğumdan itibaren tüm gelişim basamaklarında gerilik gözlenen hasta kanlı ishal, kusma, genel durum bozukluğu nedeniyle başvurduğu hastanemizde yatışı sırasında Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalına konsülte edilmişti. Muayenesinde; yuvarlak yüz, kısa burun köprüsü, tüm ekstremitelerde postaksiyel

polidaktili, santral obezite ve orta dereceli global gelişme geriliği tespit edildi. Antropometrik ölçümlerinde; vücut ağırlığının 97 persentilin üzerinde olduğu, boy ölçümünün ise 75–90 persentilde olduğu görüldü. Hasta yatışının 20. gününde hemofagositik sendrom, renal yetmezlik, çoklu organ yetmezliği nedeniyle eksitus oldu. Aile öyküsünde benzer bulgularla etkilenmiş birey bildirilmedi. Hastaya ait soyağacı Şekil 4. 7.'de sunuldu.



Şekil 4.7. 3 no.'lu bireye ait soyağacı.

Hastadaki global gelişme geriliği, polidaktili, safra yollarında kistik hastalık öyküsü nedeniyle siliyopati grubu hastalıklar açısından WES analizi yapıldı. WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları, her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı Şekil 4.8.' de, filtrelemede kullanılan HPO terimleri ise Tablo 4. 3.'te sunuldu.

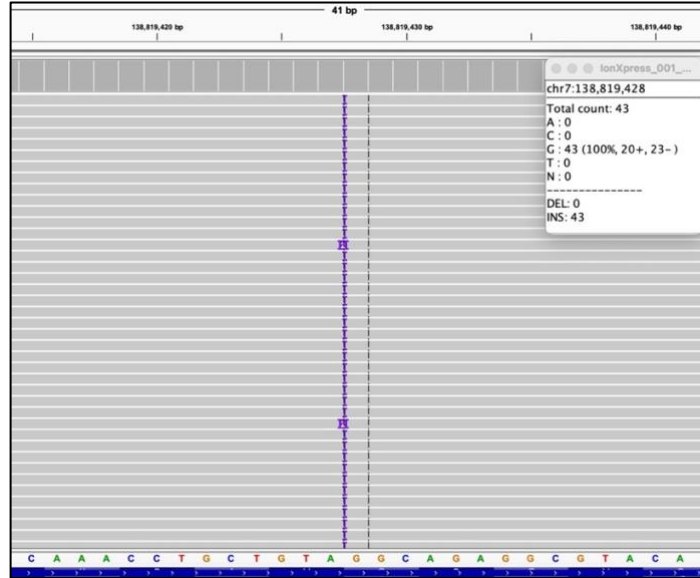


Şekil 4.8. 3 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı.

Tablo 4.3. 3 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.

HPO Kodu	Fenotip
HP:0001513	Obezite
HP:0000311	Yuvarlak yüz
HP:0000457	Basık burun kökü
HP:0006695	Atriyoventriküler septal defekt
HP:0011565	Tek atrium
HP:0010442	Polidaktili
HP:0001249	Zihinsel yetersizlik
HP:0001407	Hepatik kist
HP:0002240	Hepatomegali

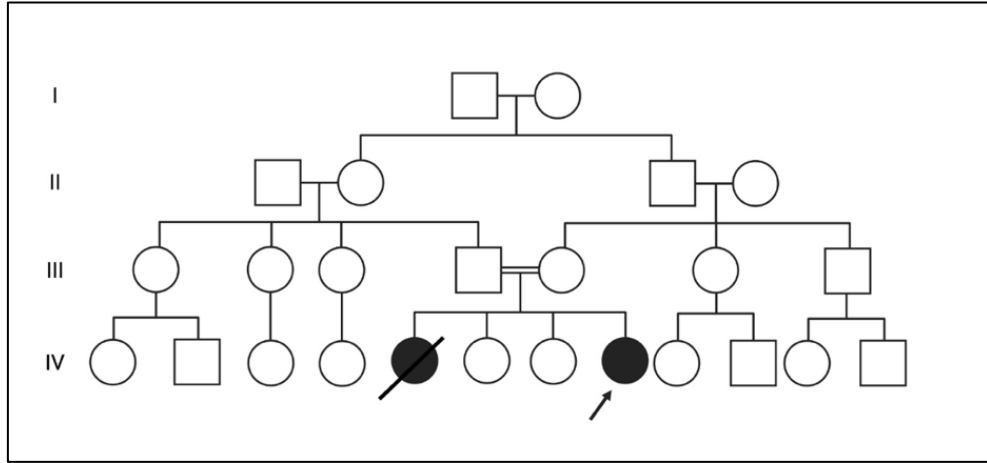
Analiz sonucunda TTC26 geninde, ENST00000464848.5 transkriptinde c. 32dup (p. Arg12GlnfsTer7) *frameshift* varyantı homozigot olarak tespit edildi. TTC26 geninde saptanan bu varyant GnomAD veri tabanında sağlıklı bireylerde bildirilmemişti (ACMG-PM2 kriteri). Proteinde işlev kaybına neden olan ve terminasyon kodonu oluşturan bir *frameshift* varyantı (ACMG-PVS1 kriteri). Varyanta ait IGV görüntüsü Şekil 4.9.'da sunuldu.



Şekil 4.9. 3 no.'lu bireyde saptanan TTC26, c.32dup varyantının IGV görüntüsü.

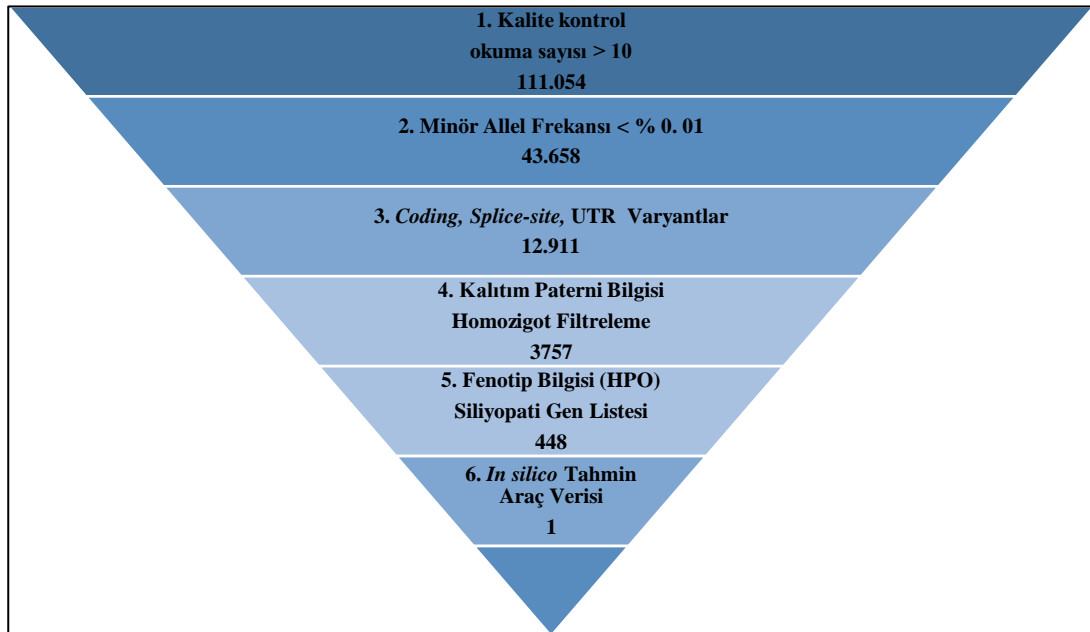
4.4. 4 No.'lu Birey

4 no.'lu birey dokuz yaşında kız hastaydı. Aralarında ikinci derece akrabalık bulunan anne ve babanın, ikinci yaşayan çocuğu olarak miadında 3440 gr doğmuştu. Prenatal takiplerinde abdominal bölgede kistik oluşum saptanmış, doğum sonrası yapılan pelvik USG' de tuba uterina atrezisi ve hidrohematokolpos tespit edilmişti. Genel Pediatri Polikliniğinden ağır zihinsel yetersizlik, dismorfik yüz bulguları, polidaktili ve ürogenital anomali nedeniyle Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalına konsülte edilmişti. Muayenesinde yuvarlak yüz, yukarı eğimli palpebral aralıklar, üst ekstremitelerde postaksiyel polidaktili, santral obezite ve global gelişme geriliği tespit edildi. Antropometrik ölçümlerinde vücut ağırlığının 97 persentil üzerinde olduğu, boy ölçümünün ise 75–90 persentilde olduğu görüldü. Aile öyküsünde bir kız kardeşin postpartum 8. saatte eksitus olduğu, bu kardeşte de polidaktili, tuba uterina atrezisi ve atrial septal defekt saptandığı öğrenildi. Hastaya ait soyağacı Şekil 4. 10.'da sunuldu.



Şekil 4.10. 4 no.'lu bireye ait soy ağacı.

Hastada global gelişme geriliği, polidaktili, ürogenital anomali ve benzer bulgularla etkilenmiş kardeş öyküsü nedeniyle siliyopati grubu hastalıklara yönelik WES analizi yapıldı. WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları, her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı Şekil 4.10.'da, filtrelemede kullanılan HPO terimleri ise Tablo 4. 4.'te sunuldu.

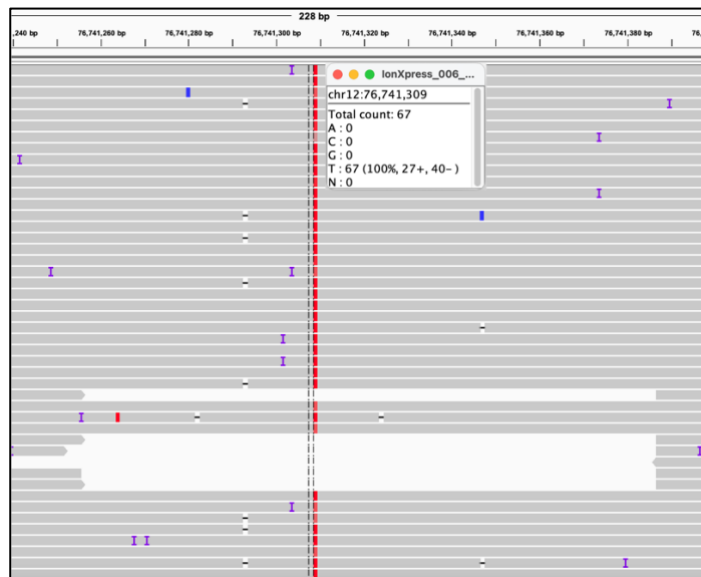


Şekil 4.10. 4 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı.

Tablo 4.4. 4 no.'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.

HPO Kodu	Fenotip
HP:0010442	Polidaktili
HP:0001249	Zihinsel yetersizlik
HP:0000717	Otizm
HP:0031923	Hematokolpos
HP:0000311	Yuvarlak yüz
HP:0000582	Yukarı eğimli palpebral aralıklar
HP:0012743	Abdominal obezite
HP:0001263	Global gelişme geriliği
HP:0000008	İç genital yapı anomalisi

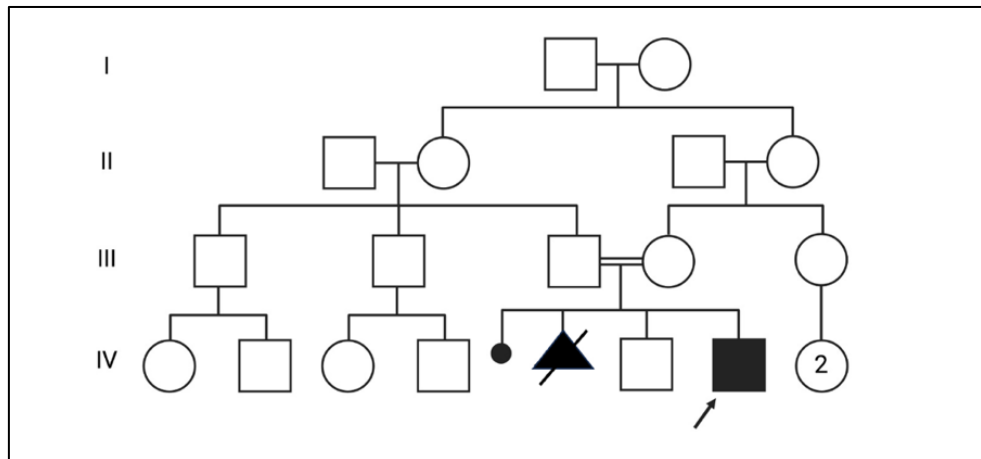
Analiz sonucunda BBS10 geninde, ENST00000650064.2 transkriptinde c.456C>A (p. His152Gln) *missense* varyantı homozigot olarak tespit edildi. Bu varyant GnomAD veri tabanında sağlıklı bireylerde homozigot olarak bildirilmemişti (ACMG-PM2 kriteri). Varyantın protein fonksiyonu üzerinde etkisini *in silico* olarak inceleyen ve kombine data sağlayan DANN ve MetaLR araçlarına göre hasar verici olarak değerlendiriliyordu (ACMG-PP3 kriteri). Hastada saptanan BBS10 geninde, ENST00000650064. 2 transkriptinde c. 456C>A (p. His152Gln) varyantı PM2, PP3 kriterleri ile ACMG rehberi önerilerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırıldı, ancak klinik bulgularla birlikte nedensel olarak değerlendirildi. Varyanta ait IGV görüntüsü Şekil 4. 11.'de sunuldu.



Şekil 4. 11. 4 no.'lu bireyde saptanan BBS10, c . 456C>A varyantının IGV görüntüsü.

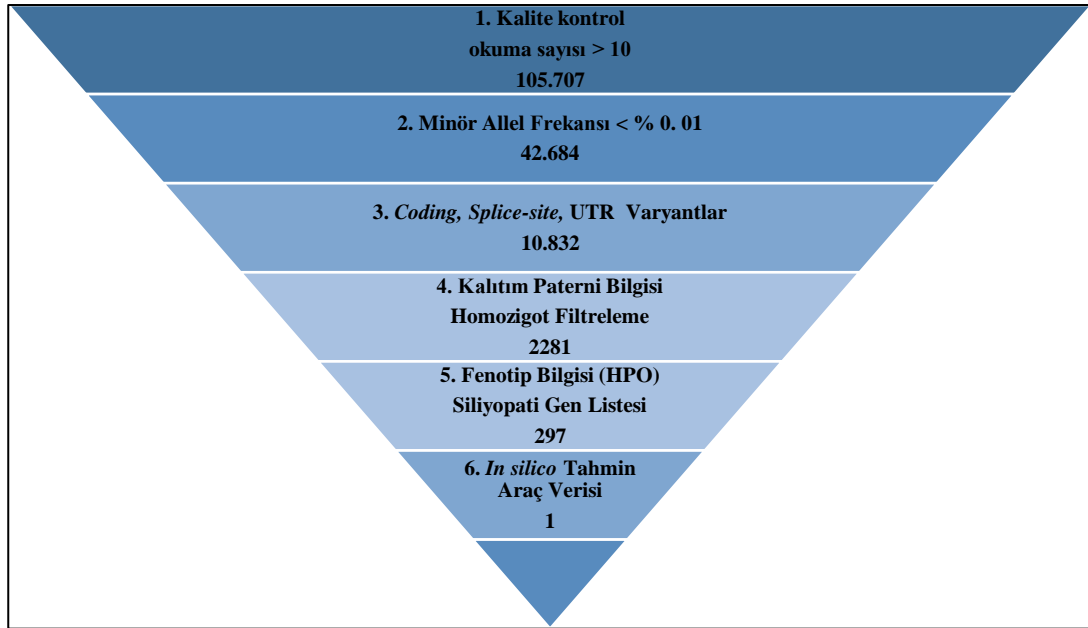
4.5. 5 No.'lu Birey

5 no.'lu birey 2 yaşında erkek hastaydı. Aralarında ikinci derece akrabalık bulunan anne ve babanın, ikinci yaşayan çocuğu olarak, miadında 3500 gr doğmuştu. Prenatal takiplerinde fetal USG'de bilateral böbreklerde kistik oluşum saptanmıştı. Başvurduğu Genel Pediatri Polikliniğinden obezite, polidaktili ve renal kistik hastalık nedeniyle Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalına konsülte edilmişti. Fizik muayenesinde; yuvarlak yüz, kısa burun köprüsü, mikroretrognatti, yüksek damak, yukarı eğimli palpebral aralıklar, tüm ekstremitelerde postaksiyel polidaktili, santral obezite ve hafif global gelişme geriliği tespit edildi. Antropometrik ölçümlerinde; vücut ağırlığınının 97 persentil üzerinde olduğu, boy ölçümünün ise 90 persentilde olduğu görüldü. Aile öyküsünde annenin ikinci gebeliğinin prenatal 20. haftada, fetal USG'de saptanan renal kistler ve polidaktili nedeniyle sonlandırıldığı öğrenildi. Hastaya ait soyağacı Şekil 4.12.'de sunuldu.



Şekil 4.12. 5 no.'lu bireye ait soyağacı.

Hastada global gelişme geriliği, polidaktili, renal kistik hastalık ve ailede benzer bulgular ile etkilenmiş fetüs öyküsü nedeniyle, siliyopati grubu hastalıklara yönelik WES analizi yapıldı. WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları, her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı Şekil 4.13.'te, filtrelemede kullanılan HPO terimleri ise Tablo 4. 5.'de sunuldu.



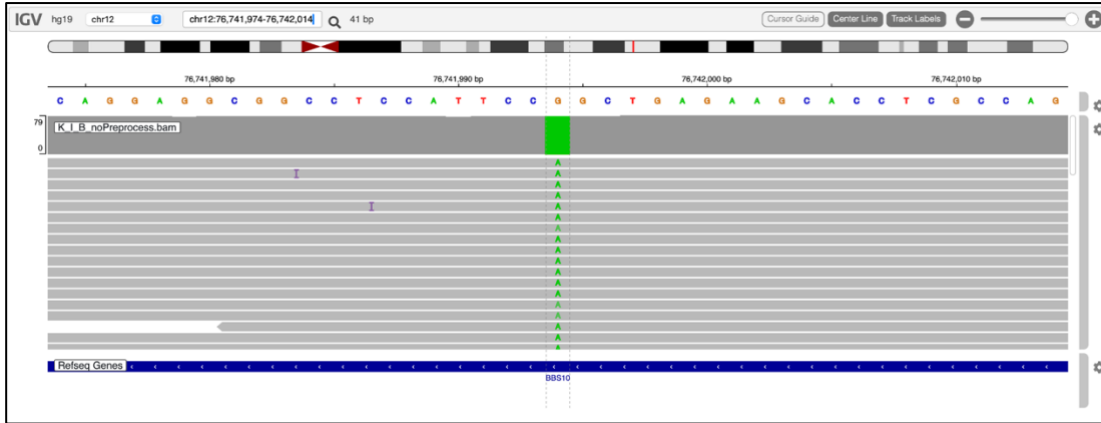
Şekil 4.13. 5 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı.

Tablo 4.5. 5 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.

HPO Kodu	Fenotip
HP:0001513	Obezite
HP:0000175	Yarık damak
HP:0000582	Yukarı eğimli palpebral aralıklar
HP:0003196	Kısa burun
HP:0000218	Yüksek damak
HP:0000347	Mikrognatti
HP:0006695	Atriyoventriküler septal defekt
HP:0010442	Polidaktili
HP:0000107	Renal kist
HP:0001562	Oligohidramniyos

Analiz sonucunda BBS10 geninde, ENST00000650064.2 transkriptinde c. 145C>T (p.Arg49Trp) *missense* varyantı homozigot durumda tespit edildi. Bu varyant GnomAD veri tabanında, sağlıklı bireylerde homozigot olarak bildirilmemişti (ACMG-PM2 kriteri). Varyantın protein fonksiyonu üzerinde etkisini *in silico* olarak inceleyen ve kombine data sağlayan CADD aracına göre 31 skoru ile patojenik olarak değerlendiriliyordu (ACMG-PP3 kriteri). Varyant daha önce Bardet Biedl sendromu ile ilişkili patojenik olarak bildirilmişti (191-195) (ACMG-PP5 kriteri). Hastada

saptanan BBS10 geninde, ENST00000650064.2 transkriptinde c.145C>T (p.Arg49Trp) varyantı PM2, PP3, PP5 kriterleri ile, ACMG rehberi önerilerine göre, olası patojenik olarak sınıflandırıldı. Varyanta ait IGV görüntüsü Şekil 4.14'te sunuldu.

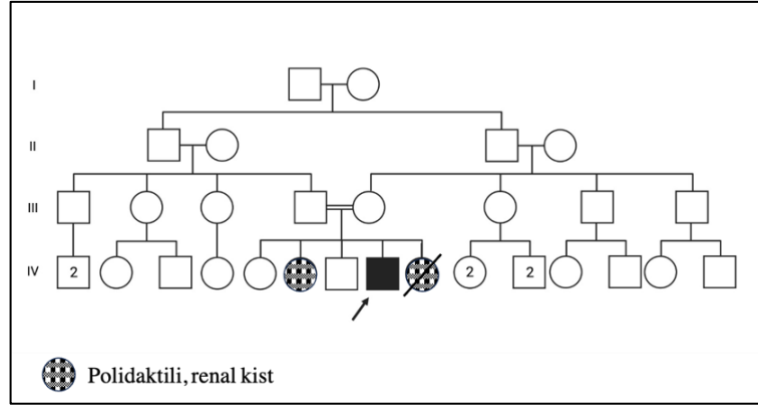


Şekil 4.14. 5 no.'lu bireyde saptanan *BBS10*, c.145C>T varyantının IGV görüntüsü.

4.6. 6 No.'lu Birey

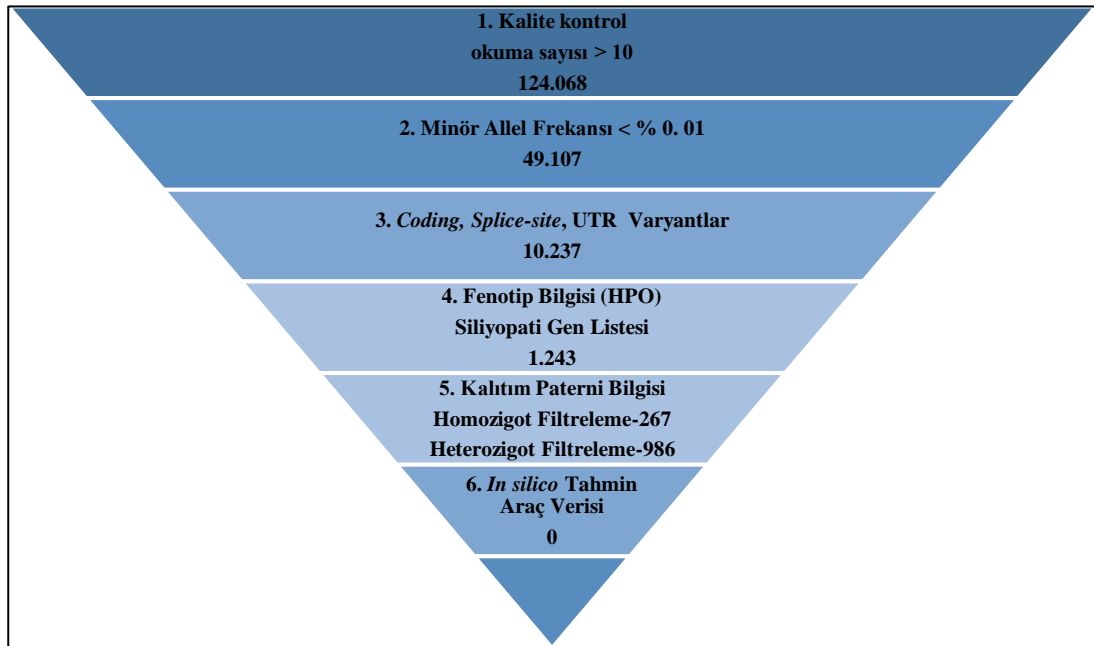
6 no.'lu birey 15 yaşında erkek hastaydı. Aralarında ikinci derece akrabalık bulunan anne ve babanın, ikinci yaşayan çocuğu olarak, prenatal takipsiz gebelikten miadında doğmuştu. Doğumdan itibaren tüm gelişim basamakları yaşlarına göre geriden gelmişti. On yaşında başlayan ataksik yürüyüş, öğrenme güçlüğü, alt ekstremitte eklemlerinde ağrı nedeniyle tetkik edilirken, bir kardeşinin Bardet Biedl sendromu tanısı ile izlendiğinin öğrenilmesinin ardından, Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalına konsülte edilmişti. Fizik muayenesinde yüksek alın, derin yerleşimli gözler, nistagmus, belirgin burun köprüsü, uzun filtrum, yüksek damak, pektus karinatum, klinodaktili, pes kavus deformitesi, ataksi, dismetri ve hafif zihinsel yetersizlik tespit edildi. Antropometrik ölçümlerinde; vücut ağırlığının 10 persentilde olduğu, boy ölçümünün ise 10-25 persentilde olduğu görüldü. Göz muayenesinde belirgin bir retinopati bulgusuna rastlanmadı ancak ERG incelemesinde her iki tarafta gecikmiş latanslar tespit edildi. Kraniyal MRG incelemesinde, beyaz cevherde dağınık yerleşimli, nonspesifik, intensite artışları tespit edildi. Renal USG normal olarak raporlandı. Aile öyküsünde, bir kız kardeşe obezite, polidaktili, renal kistik hastalık ve zihinsel yetersizlik bulguları ile dış merkezde klinik olarak Bardet Biedl sendromu

tanısı konulduğu, polidaktili ve renal kistler tespit edilen bir diğer kız kardeşin ise enfeksiyon nedeniyle 2 aylıkken kaybedildiği öğrenildi. Hastaya ait soyağacı Şekil 4.15.'te sunuldu.



Şekil 4.15. 6 no.'lu bireye ait soyağacı.

Hastada global gelişme geriliği, dismorfik bulgular, nistagmus ve nörolojik bulgular ve ailede Bardet Biedl sendromu tanısı almış kardeş öyküsü nedeniyle siliyopati grubu hastalıklara yönelik WES analizi yapıldı. WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları, her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı Şekil 4.16.'da, filtrelemede kullanılan HPO terimleri ise Tablo 4. 6.'da sunuldu.



Şekil 4.16. 6 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı.

Tablo 4.6. 6 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.

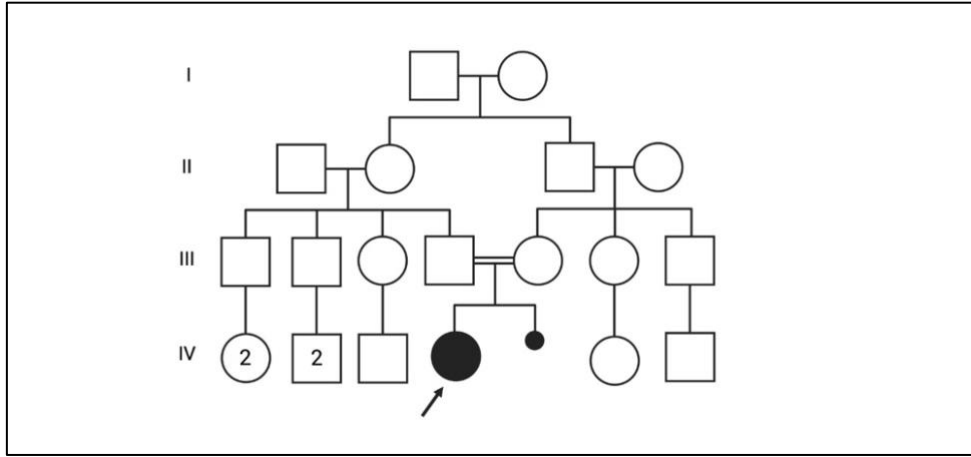
HPO Kodu	Fenotip
HP:0000218	Yüksek damak
HP:0000348	Yüksek alın
HP:0000426	Belirgin burun köprüsü
HP:0006934	Konjenital nistagmus
HP:0000490	Derin yerleşimli gözler
HP:0000768	Pektus karinatum
HP:0001761	Pes kavus
HP:0001249	Zihinsel yetersizlik
HP:0002066	Ataksi
HP:0001310	Dismetri
HP:0007042	Fokal beyaz cevher lezyonları

Analiz sonucunda siliyopati grubu hastalıklarla ilişkili olabilecek genlerde herhangi bir aday varyant saptanmadı. Analiz morbid OMIM genleri filtrelenerek tekrarlandı. Homozigot ve heterozigot varyant filtreleme basamakları sonrasında kalan varyantlar, hastadaki klinik bulgular ışığında değerlendirilerek fenotiple uyumlu olabilecek varyantlar önceliklendirildi. Ancak analiz sonucunda fenotipik bulguları açıklayabilecek patojenik/ olası patojenik ya da klinik önemi belirsiz varyant saptanmadı. Tanı için bir sonraki basamak test olarak önerilen WGS analizi yapılması planlandı.

4.7. 7 No.'lu Birey

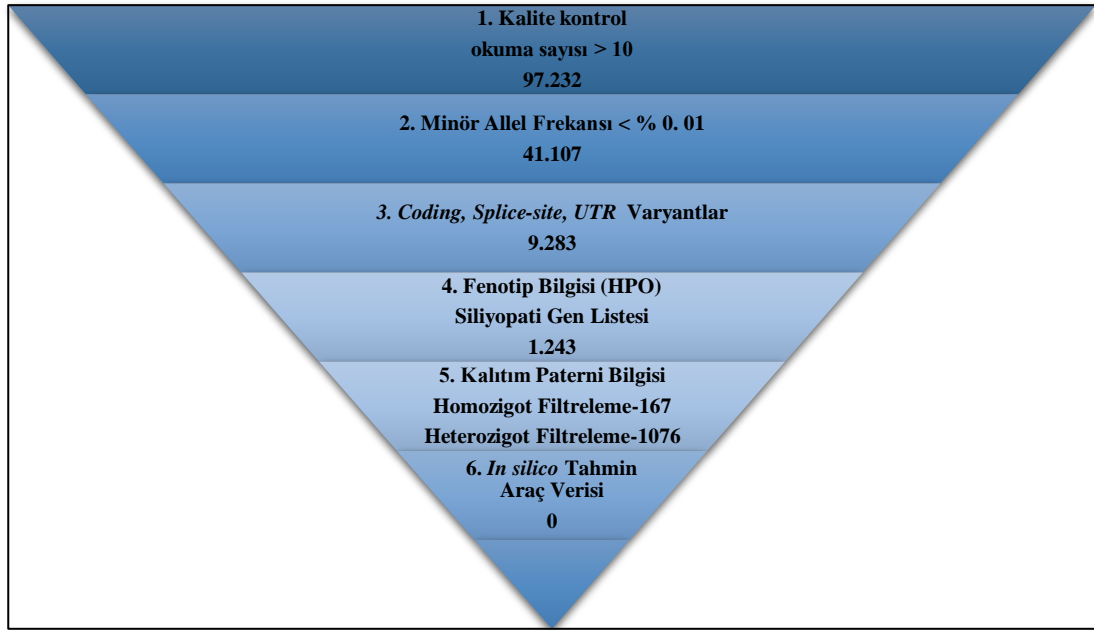
7 no.' lu birey hasta 12 yaşında kız hastaydı. Aralarında ikinci derece akrabalık bulunan anne ve babanın, birinci yaşayan çocuğu olarak, prenatal takipsiz gebelikten, miadında, 3000gr doğmuştu. Postnatal 4. aydan itibaren tüm gelişim basamaklarında gerilik fark edilmişti. Hafif zihinsel yetersizlik, el ve ayak parmaklarında eğrilik şikâyeti ile Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalına konsülte edilmişti. Fizik muayenesinde; mikrosefali, bilateral epikantus, her iki göz kapağında pitozis, aşağı eğimli palpebral aralıklar, kısa burun köprüsü, bülböz burun ucu, küçük eller, el parmaklarında brakidaktili ve klinodaktili, kısa küçük ayaklar, ayak parmaklarında brakidaktili ve klinodaktili, her iki ayak 4. ve 5. parmaklar arasında 'Y' şekilli parsiyel sindaktili, açıklığı sağa bakan torakal skolyoz ve hafif zihinsel yetersizlik tespit edildi. Antropometrik ölçümlerinde; vücut ağırlığının 10- 25 persentilde olduğu, boy ve baş

çevresi ölçümlerinin ise 3 persentilin altında olduğu saptandı. El ve ayak grafilerinin incelenmesinde tip A1 brakidaktili, her iki el başparmağında proksimal falankslarda hipoplazi, beşinci parmakların median ve distal falankslarında simfalangizm, metatarsal kemiklerde hipoplazi, ayak ikinci ve beşinci parmaklarda median ve distal falankslarında simfalangizm saptandı. Kranial MRG normal raporlandı. Ekokardiyografide yapısal anomali belirlenmedi. Aile öyküsünde benzer bulgularla etkilenmiş birey bildirilmedi. Hastaya ait soyağacı Şekil 4.17.'de sunuldu.



Şekil 4.17. 7 no.'lu bireye ait soyağacı.

Hastada global gelişme geriliği, dismorfik bulgular, boy kısalığı, mikrosefali ve ekstremitte bulguları nedeniyle siliyopati grubu hastalıklara yönelik WES analizi yapıldı. WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları, her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı Şekil 4.18.'de, filtrelemede kullanılan HPO terimleri ise Tablo 4. 7.'de sunuldu.



Şekil 4.18. 7.no'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı.

Tablo 4.7. 7 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.

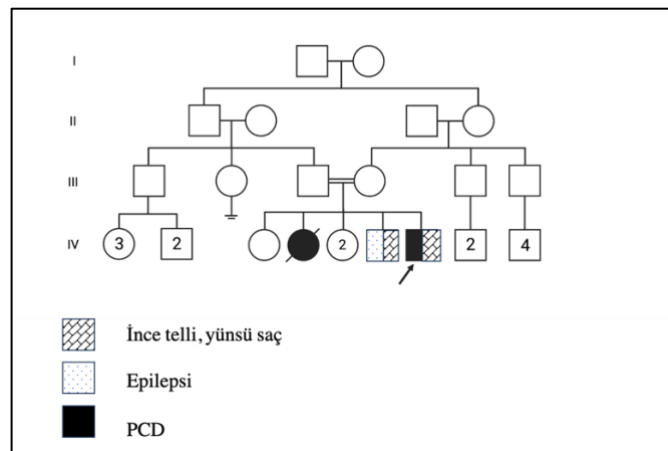
HPO Kodu	Fenotip
HP:0001249	Zihinsel yetersizlik
HP:0000252	Mikrosefali
HP:0000286	Epikantus
HP:0000508	Pitozis
HP:0000494	Aşağı eğimli palpebral aralıklar
HP:0003194	Kısa burun köprüsü
HP:0000414	Bülböz burun ucu
HP:0200055	Küçük el
HP:0001156	Brakidaktili
HP:0030084	Klinodaktili
HP:0001773	Küçük ayak
HP:0001159	Sindaktili
HP:0002943	Torasik skolyoz
HP:0009371	Tip A1 brakidaktili

Analiz sonucunda siliyopati grubu hastalıklarla ilişkili olabilecek genlerde herhangi bir aday varyant saptanmadı. Analiz morbid OMIM genleri filtrelenerek tekrarlandı. Homozigot ve heterozigot varyant filtreleme basamakları sonrasında kalan varyantlar, hastadaki klinik bulgular ışığında değerlendirilerek fenotiple uyumlu

olabilecek varyantlar önceliklendirildi. Ancak analiz sonucunda fenotipik bulguları açıklayabilecek patojenik/ olası patojenik ya da klinik önemi belirsiz varyant saptanmadı. Tanı için bir sonraki basamak test olarak önerilen WGS analizi yapılması planlandı.

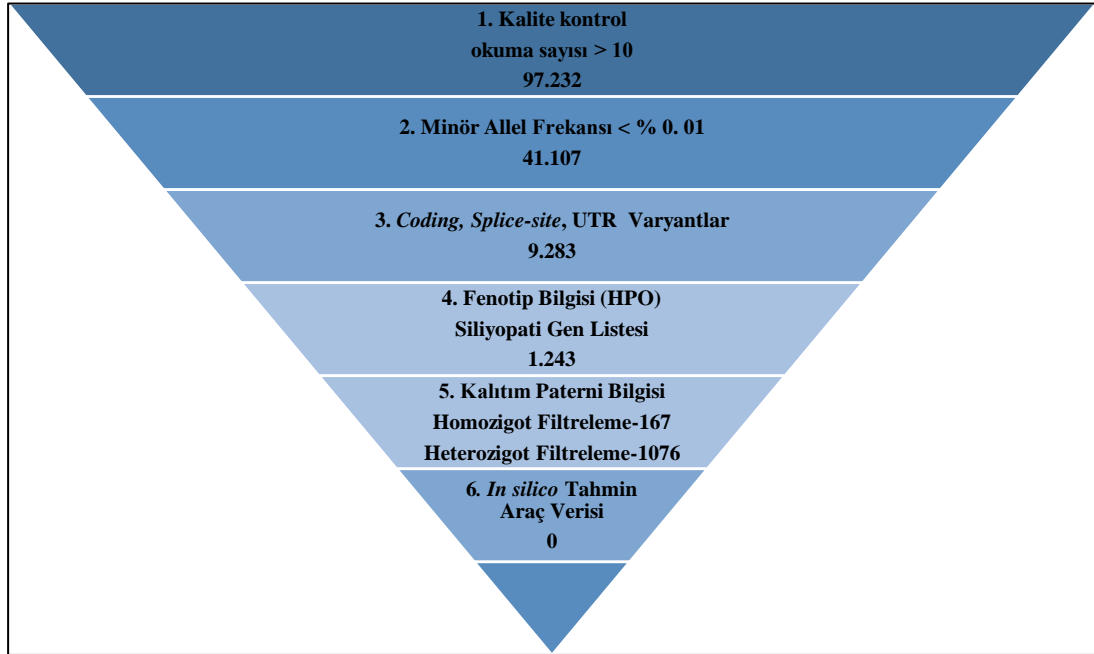
4.8. 8 No.'lu Birey

8 no.'lu birey 12 yaşında erkek hastaydı. Aralarında ikinci derece akrabalık bulunan anne ve babanın, beşinci yaşayan çocuğu olarak, miadında, 4000 gr doğmuştu. Doğum sonrası solunum sıkıntısı nedeniyle 4 gün kuvözde izlenmişti. Gelişim basamakları yaşlıları ile uyumlu seyretmişti. İnfant döneminden başlayarak devam eden, tekrarlayan üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları, otitis media ve kronik öksürük şikayetleri nedeniyle tetkik edildiği Çocuk Göğüs Hastalıkları Bilim Dalından Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalına primer siliyer diskinezi ön tanısı ile konsülte edilmişti. Muayenesinde; ince telli, kıvrıkcık, yünsü saç yapısı, yüksek alın, derin yerleşimli gözler, antevort kulaklar ve çomak parmak tespit edildi. Tüm gelişim basamakları yaşlıları ile uyumluydu. Antropometrik ölçümlerinde vücut ağırlığının 3-10 persentilde olduğu, boy ölçümünün ise 3 persentilin altında yer aldığı belirlendi. İştih testi sonucunda bilateral ileti tipi iştih kaybı tespit edildi. Ailede bir kız kardeşin primer siliyer diskinezi nedeniyle izlendiği ve erişkin dönemde solunum sistemi komplikasyonları nedeniyle kaybedildiği, bir erkek kardeşin de epilepsi nedeniyle izlendiği ve ince, kıvrıkcık, yünsü saçları olduğu öğrenildi. Hastaya ait soyağacı Şekil 4.19.'da sunuldu.



Şekil 4. 19. 8 no.'lu bireyin soyağacı.

Hastada tekrarlayan üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları, büyüme geriliği, primer siliyer diskinezi ön tanısı alan kardeş öyküsü nedeniyle siliyopati grubu hastalıklara yönelik WES analizi yapıldı. WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları, her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı Şekil 4.20.'de, filtrelemede kullanılan HPO terimleri ise Tablo 4.8.' de sunuldu.

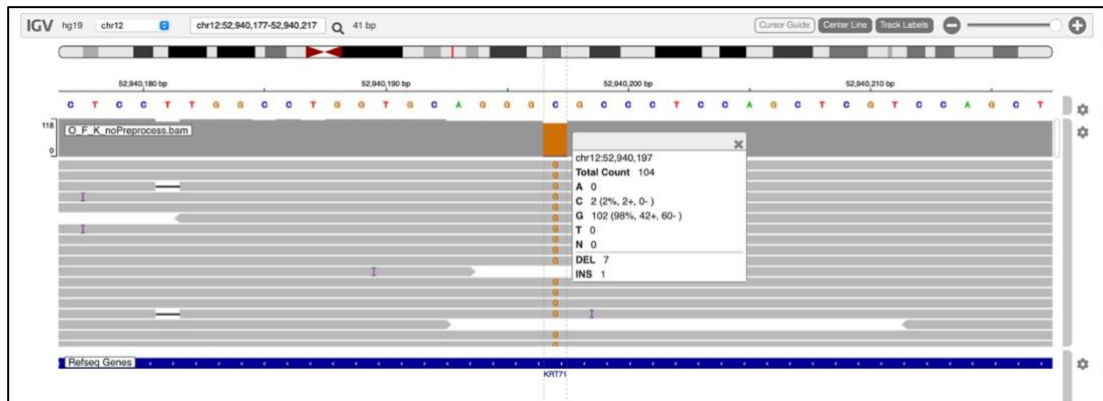


Şekil 4.20. 8 no.'lu bireyde WES analizinde uygulanan filtreleme basamakları ve her bir basamak sonrasında kalan aday varyant sayısı.

Tablo 4.8. 8 no'lu bireyde WES analizinde fenotipik filtreleme basamağında kullanılan HPO terimleri.

HPO Kodu	Fenotip
HP:0001409	Portal hipertansiyon
HP:0100759	Çomak parmak
HP:0002205	Sık solunum sistemi enfeksiyonu
HP:0001744	Splenomegali
HP:0001510	Büyüme geriliği
HP:0001520	Büyük doğum ağırlığı
HP:0000348	Yüksek alın
HP:0000414	Bülböz burun ucu
HP:0000490	Derin yerleşimli gözler
HP:0000365	İşitme kaybı
HP:0000653	Seyrek kirpikler
HP:0002224	Yünsü saç
HP:0045075	Seyrek kaşlar

Analiz tekrarlayan solunum sistemi enfeksiyonlarını açıklayabilecek, PCD ile ilişkili genlerde herhangi bir aday varyant saptanmadı. Analiz morbid OMIM genleri filtrelenerek tekrarlandı. Homozigot ve heterozigot varyant filtreleme basamakları sonrasında kalan varyantlar, hastadaki klinik bulgular ışığında değerlendirilerek fenotiple uyumlu olabilecek varyantlar önceliklendirildi. Tekrarlayan akciğer enfeksiyonu fenotipi ile ilişkili olabilecek varyant saptanmadı. Bununla birlikte, hastadaki saç bulguları ile ilişkili olabilecek KRT71 geninde, NM_033448.2 transkriptinde, c.1198G>C (p. Ala400Pro) *missense* varyantı homozigot olarak tespit edildi. Varyant GnomAD veri tabanında sağlıklı bireylerde bildirilmemişti (ACMG-PM2 kriteri). Varyantın protein fonksiyonu üzerinde etkisini *in-silico* olarak inceleyen ve kombine data sağlayan DANN ve MetaLR araçlarına göre varyant hasar verici olarak değerlendiriliyordu (ACMG-PP3 kriteri). Hastada saptanan KRT71 geninde, NM_033448.2 transkriptinde c. 1198G>C (p. Ala400Pro) varyantı PM2, PP3 kriterleri ile ACMG rehberi önerilerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırıldı. Varyanta ait IGV görüntüsü Şekil 4.21.'de sunuldu. Primer siliyer diskinezi ön tanısına yönelik ise altta yatan etiolojinin aydınlatılması için, bir sonraki basamak test olan WGS analizi yapılması planlandı.



Şekil 4.21. 8 no.'lu bireyde saptanan *KRT71*, c.1198G > C varyantının IGV görüntüsü.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda klinik bulguları nedeniyle siliyopati grubu hastalık düşünülen toplam sekiz hastaya WES analizi yapılmış, bu hastalardan 5'inde (%62,5) altta yatan moleküler etiyojoloji aydınlatılmıştır. Tanı konulabilen gruptaki hastalar sırası ile Bardet- Biedl Sendromu 10 (OMIM#615987), Joubert Sendromu 5 (OMIM#610188), Joubert Sendromu 9 (OMIM#612285) ve Biliyer-Renal-Nörolojik-İskelet Sendromu (OMIM#619534) tanıları ile izleme alınmıştır. Varyant saptanan genler *BBS10*, *TTC26*, *CC2D2A* ve *CEP290* olarak sıralanmıştır. Tanı konulamayan hastalardan ikisinde herhangi bir aday varyant saptanmazken, bir hastada klinik bulguların bir kısmını açıklayan ancak siliyopati grubu fenotiplerle ilişkisiz bir gende homozigot varyant tespit edilmiştir.

Siliyopatiler, silya ve sentrozom ile ilişkili proteinleri kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlara ikincil görülen, sıklıkla çoklu organ tutulumu ile bulgu veren geniş bir hastalık grubunu oluşturmaktadır (1). Bu grupta yer alan sendromların her biri nadir görülse de, toplu halde değerlendirildiğinde siliyopatilerin dünya genelinde her 2000 kişiden birini etkilediği bildirilmektedir (72). Silyalar, hücre polaritesinin belirlenmesi, hücre döngüsünün düzenlenmesi, mekano-sensasyon gibi işlevlerinin yanı sıra, organizmanın gelişimi sırasında vertebra gelişimi ve organ farklılaşmasında görevli sinyal yollarında da önemli görevler üstlenmektedir. Bu geniş işlev yelpazesi, silya disfonksiyonları sonucu ortaya çıkan klinik bulguların çoklu sistem tutulumu, değişken şiddet ve yaygınlıkta fenotipik özelliklerle karakterize olmasına yol açmaktadır (25, 105). Geçmişte, siliyopati grubu hastalıklar, belirli fenotipik bulguların bir arada görülmesine dayalı olarak çeşitli sendromlar altında sınıflandırılırken, son yıllarda yeni tanımlanan fenotiplerle bu sendromlar arasındaki fenotipik ayrımın her zaman net olmadığı anlaşılmıştır. Bu durum, tanımlanan fenotipik bulguların sendromlar için ayırt edici olmaktan çok, bir spektrumun parçası olduğunu göstermektedir (25, 105). Günümüzde, hastaları belirli bir sendrom adı altında tanımlamaktansa, mevcut organ tutulumuna ve altta yatan genetik etiyojolojiye göre sınıflandırmanın, hastanın tedavi ve izlemi açısından daha

yararlı olduğu görüşü kabul görmeye başlamış, yeni genotip-fenotip ilişkilerinin kurulmasına yönelik yapılan çalışmalar önem kazanmıştır (25, 196).

Siliyopati grubu hastalıklarla ilgili geniş fenotipik değişkenliğe altta yatan moleküler patolojilerin de oldukça heterojen olması katkı sağlamaktadır. Son on yılda yeni nesil dizileme teknolojilerinin daha erişilebilir hale gelmesi ile siliyopati grubu hastalıklarla ilişkilendirilen gen sayısı her geçen yıl katlanarak artmıştır. Siliyopati ilişkili genlerin keşfinde, öncelikle silya yapısında yer alan proteinleri kodlayan genler öne çıkmış; sonraki yıllarda, özellikle silyaların sinyal yollarındaki rollerinin keşfi ile, silya yapısında birincil olarak yer almayan, ancak dolaylı yoldan silya fonksiyonunu etkileyen yeni genler tanımlanmıştır (1). Reiter ve ark. (2017) silya ilişkili genleri silya yapısında yer alan proteinleri kodluyorsa birincil genler, silya yapısında yer almayan ancak silyanın işleviyle ilgili rolleri olan proteinleri kodluyorsa ikincil genler olarak sınıflamayı önermiştir (1). Her geçen yıl daha da genişleyen siliyopati morbid genomuna ilişkin, Vasquez ve ark. (2021) oluşturdukları SYSCILIA (SCGSv2) veri tabanında siliyopati grubu hastalıklarla ilişkisi tanımlanmış 686 genin yer aldığını bildirmişlerdir (5). Tüm bu gelişmelere rağmen, siliyopati ilişkili olabilecek fenotipik bulguları olan bazı hastalarda WES analizi sonucunda altta yatan genetik etiolojinin aydınlatılamaması, siliyopati morbid genomunun keşfinin henüz tamamlanmadığını göstermektedir. Çeşitli siliyopati kohortlarında, WES analizinin tanısal oranı %20 ila %80 arasında bildirilmekte, bu oranlar siliyopati alt tiplerine göre farklılık göstermektedir (131, 167, 197-201). Örneğin, klinik bulgularla nispeten daha kolay tanınan BBS grubunda WES analizinin tanısal oranı %70-80 olarak bildirilmekte (131, 201), benzer biçimde klinik bulguların nispeten belirgin ve ayırt edici olabileceği iskelet tutulumu ile giden siliyopatilerde de bu oran %60-70 olarak rapor edilmektedir (167, 198, 199). Buna karşın çoklu sistem tutulumunun daha nadir gözleendiği renal siliyopati fenotiplerinde, tanısal oranların %20'ye kadar düştüğü bildirilmektedir (197, 200). Özellikle klinik bulguların çok ayırt edici olmadığı, klinik sınıflandırmanın yapılamadığı siliyopati grubundaki düşük tanısal oran, yeni klinik fenotipler ve aday genler açısından daha fazla araştırma yapılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda bu amaçla, siliyopati grubu hastalık düşünülerek WES analizi yapılan sekiz hastadan beşinde altta yatan moleküler etiyojini aydınlatılmıştır. Moleküler etiyojinin aydınlatıldığı grupta, varyant saptanan genler sırası ile *BBS10*, *TTC26*, *CC2D2A* ve *CEP290* olarak sıralanmıştır. Bu gruptaki hastaların tümünde global gelişme geriliği ve/veya zihinsel yetersizlikle birlikte çoklu sistem anomalilerin bulunduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda ulaşılan % 62,5'lük tanısal oran, literatürde özellikle multisistemik bulguların tanımlandığı siliyopati kohortlarında bildirilen WES analizi tanısal oranları ile uyum göstermektedir (167, 198, 199).

Siliyopati grubu hastalıkların büyük bir çoğunluğundan ilgili genlerdeki biallelik varyantlar sorumludur (5). Bu durum özellikle akraba evliliği oranlarının yüksek olduğu toplumlarda siliyopati grubu hastalıkların daha sık bildirilmesine neden olmaktadır. Al-Hamed ve ark. Suudi Arabistan'da akraba evliliği oranının %81 olduğu, çoklu doğumsal anomali nedeniyle izlenen ve WES analizi yapılan bir kohortta, etiyojinin aydınlatıldığı hastaların %40,7'sinde OR kalıtlı siliyopati genlerindeki varyantların saptandığını bildirmişlerdir (202). Shamseldin ve ark. ise yine Suudi Arabistan'dan akraba evliliği oranının %84 olduğu, PCD ön tanısı ile izlenen hastalardan oluşan bir kohortta, WES analizi sonucunda hastaların %68'inde siliyopati genlerinde biallelik varyantlar saptandığını bildirmiştir (203). Türkiye'de akrabalık oranı son verilerle %24 olarak bildirilmektedir, bu oran ülkenin batısından doğusuna gittikçe artmaktadır (204). Çalışmamızdaki hasta kohortunda akrabalık oranı %87,5 olarak saptanmıştır. Altta yatan moleküler etiyojilerin aydınlatıldığı hastaların biri hariç tümünde anne ve baba arasında akrabalık olduğu, akrabalık bulunan ailelerin yarısında da benzer bulgularla etkilenmiş ve/veya kaybedilmiş kardeş öyküsünün bulunduğu görülmüştür. Bu veri, özellikle ailede tekrar riskinin yüksek olduğu OR kalıtlı siliyopati grubu hastalıklar için altta yatan moleküler etiyojini belirlemeye yönelik yapılacak analizlerin ailenin reproduksiyon tercihlerine yönelik uygun danışmanlık verilmesi açısından da önemli olduğunu vurgulamaktadır.

Tanı alan hasta grubumuzda iki hastada (4 no'lu ve 5 no'lu bireyler) *BBS10* geninde biallelik varyantlar saptanmıştır. *BBS10* genindeki biallelik varyantlar OMIM veri tabanında Bardet Biedl sendromu,10 (# 615987) ile ilişkilendirilmektedir. Biallelik *BBS10* varyantları bildirilen hastalarda zihinsel yetersizlik, progresif retinal

distrofi, obezite, polidaktili, ve renal displazi öne çıkan bulgular olarak bildirilmektedir (205). Klinik bulguların görece şiddetli ve erken başlangıçlı olarak tanımlandığı *BBS10* ilişkili Bardet Biedl sendromunda özellikle renal kistik değişikliklerin prenatal başlangıçlı olabileceği ve oligohidramnios ile bulgu verebileceği rapor edilmiştir (206). Şu ana kadar 25 alt tipin tanımlandığı Bardet Biedl sendromundan etkilenmiş bireylerde *BBS10*, *BBS1* geninden sonra en sık varyant tespit edilen ikinci gen olarak öne çıkmaktadır (205). *BBS10* genindeki patojenik varyantlar bazal cisimciğin bileşenlerinden birini oluşturan *BBS10* proteininde disfonksiyona ve buna bağlı olarak siliyogenezde ve SHH başta olmak üzere hücre içi sinyal yollarında sorunlara neden olmaktadır (205). Çalışmamızda *BBS10* geninde biallelik varyantın saptandığı ilk hasta olan 4 no'lu bireyde daha önce bildirilmemiş c.456C>A, p.His152Gln *missense* varyantı saptanmış ve ACMG kriterlerine göre VUS varyant olarak sınıflandırılmış, ancak hastada tanımlanan ağır zihinsel yetersizlik, polidaktili, tuba uterina atrezisi, obezite ve benzer klinik bulgularla etkilenmiş kardeş öyküsü göz önünde tutularak varyantın hastadaki klinik bulgulardan sorumlu olduğu düşünülmüştür. Obezite, zihinsel yetersizlik, polidaktili Bardet Biedl sendromunda sık bildirilen anomaliler olmakla birlikte tubauterin atrezisi *BBS* ile ilgili olarak nadir bildirilen bir anomalidir. Siliyopati grubu hastalıklar içerisinde internal genital organ anomalileri daha çok *MKKS* genindeki biallelik varyantlara bağlı olarak gözlenen McKusick-Kaufmann sendromu ile ilişkilendirilmiştir (207). Her ne kadar diğer Bardet Biedl sendromu alt tiplerinde internal genital organ anomalileri bildirilmiş olsa da, hastamızda bildirilen tuba uterina atrezisi *BBS10* geni ilişkili olarak ilk kez çalışmamızda tanımlanmıştır. Bu bulgu Slovatinek ve ark. ile Stoler ve ark.'ın bildirdiği *BBS*'nin McKusick-Kaufmann sendromu ile fenotipik örtüşme gösterebildiği görüşünü destekler niteliktedir (208, 209).

Çalışmamızda *BBS10* geninde biallelik varyantın saptandığı ikinci hasta olan 5 no.'lu bireyde, *BBS* tanısı ile ilişkili olarak daha önce bildirilmiş, c.145C>T, p.Arg49Trp *missense* varyantı saptanmış ve ACMG kriterlerine göre olası patojenik varyant olarak sınıflandırılmıştır. Hastada tanımlanan global gelişme geriliği, obezite, polidaktili ve kistik renal hastalık bulguları göz önünde tutularak varyantın hastadaki klinik bulgulardan sorumlu olduğu düşünülmüştür. Hastada özellikle prenatal dönemde saptanan oligohidramnios bulgusu ve ailenin bir önceki gebeliğinde

oligohidramnios ve renal kistler nedeniyle sonlandırılan fetüs öyküsü *BBS10* genindeki varyantların prenatal başlangıçlı, şiddetli renal etkilenme ile ilişkili olduğuna dair Putoux ve ark. tarafından öne sürülen görüş ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir (206). Hastamızda gözlemlenen atrioventriküler septal defekt, *BBS10* genindeki varyantlarla daha önce ilişkilendirilmemiş bir bulgu olmakla birlikte, Digillio ve ark. bildirdiği üzere, BBS grubunun diğer alt tiplerinde heterotaksi bulgusunun farklı bir fenotipik ifadesi olarak görülebilmektedir (210). Siliyopati grubu hastalıkların %30'unda çeşitli derecelerde kraniofasiyal dismorfik bulgular da bildirilmektedir (211). Hastamızda saptanan yarık damak bulgusu farklı siliyopati sendromlarında bildirilen bir bulgudur (211), ancak daha önce BBS'nin bir bileşeni olarak bildirilmemiştir. Zhang ve ark. tarafından yapılan fare modeli çalışmasında, *BBS7 knock-out* (KO) farelerde BBS ile ilişkili olduğu tanımlanan tüm bulgular gözlenirken, yarık damak bulgusu gözlenmemiş; ancak *BBS7* KO fareler *IFT88* hipomorfik alleli ile kombine edildiğinde, yarık damak bulgusunun gözlendiği raporlanmıştır (212). Zhang ve ark. *IFT88* hipomorfik allelinin intraflagellar transportta ve dolaylı olarak SHH yolağında disfonksiyona neden olarak yarık damak fenotipine yol açmış olabileceğini öne sürmüşlerdir (212). 5 no.'lu hastada yapılan incelemede IFT proteinlerini kodlayan genlerde aday varyant saptanmamıştır.

Tanı alan grupta yer alan iki hastamıza (1 ve 2 no'lu bireyler) *CC2D2A* ve *CEP290* biallelik varyantlarına bağlı Joubert sendromu tanısı konulmuştur. Joubert sendromu psikomotor gecikme, hipotoni, ataksi, okülomotor apraksi, neonatal solunum sıkıntısı ve nöroradyolojik olarak ayırt edici özellik olan 'molar diş işareti' ile karakterizedir. Klinik bulguların oldukça değişken yaygınlık ve şiddette gözlenebildiği sendromda genetik etiyolojide tanımlanan 402'den fazla gen mevcuttur (213). Bunlar arasında *CEP290* geninde tanımlanan biallelik varyantlar Joubert sendromu 5 (#610188) ile ilişkilendirilirken, *CC2D2A* genindeki biallelik varyantlar Joubert sendromu 9 (#612285) ile ilişkilendirilmektedir. Prenatal başlangıçlı renal kistler, nistagmus, ve polidaktiliye eşlik eden serebellar vermis agenezisi bulguları olan 2 no.'lu hastada *CEP290* geninde daha önce bildirilmemiş patojenik c.5932C>T (p.Arg1978Ter) ve olası patojenik, c.1075G>T (p.Glu359Ter) varyantları bileşik heterozigot durumda saptanmıştır. Bunlardan *CEP290*, c.5932C> T varyantı daha önce Helou ve ark. tarafından retinopati ve nefronofitizis bulguları ile Senior Leuken

sendromu tanısı alan erişkin yaş grubu bir hastada homozigot olarak (189), Bachmann-Gagescu ve ark. tarafından ise Joubert sendromu tanısı ile izlenen bir hastada, başka fonksiyon kaybı varyantı ile bileşik heterozigot olarak bildirilmiştir (167). Hastamızda anne ve babadan yapılan segregasyon analizi, varyantların trans yerleşimli olduğunu göstermiş, bu bulgu ışığında CEP290 geninde saptanan varyantların hastadaki klinik bulgulardan sorumlu olduğu düşünülerek Joubert sendromu 5 tanısı konulmuştur. Joubert sendromu 5, Joubert sendromu alt tipleri arasında renal ve retinal etkilenmenin daha belirgin ve şiddetli olduğu bir alt tip olarak bildirilmektedir (214). Hastamızda renal bulguların prenatal dönemden itibaren başlaması, yenidoğan döneminden itibaren hipertansiyon nedeniyle antihipertansif ilaç gereksinimi duyulması, ERG incelemesinde uzamış latanslarla birlikte nistagmus bulgusunun yenidoğan döneminden itibaren gözlenmesi, Joubert sendromu 5 fenotipi ile ilgili bildirilen ağır renal ve retinal etkilenmeyi desteklemektedir (214).

Pitozis, global gelişme geriliği, karaciğer enzim yüksekliği ve abdominal USG’ de karaciğer EKO paterninde artış, kraniyal MRG’ de molar diş görünümü bulgularının tanımlandığı 1 no.’ lu bireyde ise CC2D2A geninde daha önce bildirilmemiş, olası patojenik c.3347C>T, p.Thr1116Met varyantı homozigot olarak saptanmıştır. CC2D2A genindeki biallelik varyantlar, fenotipik açıdan örtüşen çok sayıda bulguya sahip COACH sendromu 2 (#619111), Joubert sendromu 9 (#612285) ve Meckel sendromu (#612284) ile ilişkilendirilmektedir. CC2D2A geni ilk kez Noor ve ark. tarafından zihinsel yetersizlik ve retinitis pigmentosa bulgularının bildirildiği bir ailede Joubert sendromu ilişkili olarak tanımlanmıştır (215). Gorden ve ark. ile Dorothy ve ark. ise biallelik CC2D2A varyantlarının, ilk kez 1989 yılında Verloes ve ark. (216) tarafından klinik olarak tanımlanan COACH sendromu ile de ilişkili olduğunu bildirmiştir (186, 217). COACH sendromu daha sonraki yıllarda Joubert sendromunun bir alt tipi olarak belirlenmiş ve konjenital hepatik fibrozisin gözlendiği Joubert sendromu olarak isimlendirilmiştir (186). CC2D2A geni, başta molar diş işareti olmak üzere pek çok fenotipik bulguyu paylaştığı Joubert sendromu 5 ile ilişkilendirilen ve bir bazal cisim proteini kodlayan CEP290 ile etkileşime girerek görev yapmaktadır (217). CC2D2A ve CEP290 ilişkisi siliyopati grubundaki örtüşen klinik bulguları açıklayan iyi bir örnek olarak öne çıkmaktadır.

Çalışmamızda tanı alan grupta yer alan son hasta, TTC26 geninde daha önce bildirilmemiş olası patojenik c.32dup (p.Arg12GlnfsTer7) varyantının homozigot durumda saptandığı 3 no.'lu birey olmuştur. *TTC26*, ilk kez 2014 yılında, Ishikawa ve ark. tarafından silya da görevli bir intraflagellar proteini kodlayan gen olarak tanımlanmıştır. Shaheen ve ark. ile David ve ark. ise 2020 yılında 9 ayrı aileden toplam 11 hastada, *TTC26* biallelik varyantlarının Biliyer-Renal-Nörolojik-İskelet sendromu (OMIM# 619534) ilişkili klinik bulgulardan sorumlu olduğunu bildirmişlerdir (218, 219). Shaheen ve ark. hastalardan birinden alınan fibroblast örneğinde yapılan fonksiyonel çalışma ile, *TTC26* disfonksiyonunun intraflagellar taşımayı bozduğunu, diğer IFT proteinlerinde, silya uzunluğunda ve SHH sinyal yolağında sorunlara neden olduğunu göstererek, sendromla ilgili patofizyolojinin aydınlatılmasına katkıda bulunmuştur (218). Şu ana kadar Alfadhel ve ark. tarafından bildirilen vaka ile birlikte toplamda 12 etkilenmiş bireyde, klinik bulgularla ilişkili ikisi *missense*, biri *splice site* olmak üzere toplam 3 farklı varyant bildirilmiştir (218, 219). Bildirilen hastaların tümünde global gelişme geriliği ve hepatik kolestaz gözlenmiş, ek olarak polidaktili, Caroli hastalığı, dismorfik bulgular, hidrosefali, AVSD başta olmak üzere büyüme geriliği, pituitar hipoplazi, renal hipoplazi, hidronefroz, böbrek yetmezliği gibi çeşitli bulgular da saptanmıştır (218, 219). Çalışmada 3 no.'lu hastada bildirilen global gelişme geriliği, AVSD, polidaktili, safra yollarında kistik hastalık, renal yetmezlik bulguları daha önce bildirilen vakalardaki klinik bulgularla örtüşme göstermektedir. Bununla birlikte hastada gözlenen obezite ve hastanın ölümü ile sonuçlanan hemofagositik sendrom daha önce bildirilmemiş bulgular arasında yer almaktadır. Hastada saptanan *TTC26* c.32dup (p. Arg12GlnfsTer7) varyantı daha önce bildirilmemiş olmasının yanı sıra, sendromla ilgili tanımlanan ilk *frameshift* varyant olması nedeniyle dikkat çekicidir. Hastamızdaki şiddetli klinik seyrin genin 1. ekzonunda yer alan ve proteinin tümünde fonksiyon kaybına neden olması beklenen *frameshift* varyanta bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ancak güvenilir fenotip-genotip ilişkisinin kurulması için daha çok vakaya ihtiyaç duyulacağı açıktır.

Mendelyan hastalık şüphesi ile ekzom analiz yapılan hasta gruplarında, tanısal oran fenotipe bağlı olarak önemli değişkenlikler göstermekle birlikte, hastaların %50-60'ında altta yatan genetik etiyolojinin tespit edilemediği bildirilmektedir (220-223). Çalışmamızda toplam üç hastada (%37,5) klinik bulguların tümünü açıklayabilecek

nedensel varyant saptanamamıştır (6, 7, 8 no.'lu bireyler). Bu grupta yer alan hastalardan ikisinde (6 ve 7 no.'lu bireyler) herhangi bir nedensel varyant tespit edilemezken; tekrarlayan akciğer enfeksiyonları, kronik akciğer hastalığı, yünsü saç bulguları ve PCD klinik tanısı ile kaybedilmiş kardeş öyküsü bulunan 8 no.'lu bireyde yünsü saç bulgusu ile ilişkili olabilecek KRT71 geninde homozigot, c.1198G>C, p.Ala400Pro, VUS varyantı saptanmıştır. KRT71 genindeki monoallelik varyantlar hipotrikozis ve yünsü saç fenotipi ile ilişkilendirilmektedir (OMIM#615896). Fujimoto ve ark. 2012 yılında bir aileden üç jenerasyonda, yaşla birlikte iyileşme gösteren, seyrek, ince, yünsü saç fenotipi ile ilişkili olarak, KRT71 geninde heterozigot *missense* bir varyantı aday olarak bildirmiştir (224). Şu ana kadar KRT71 geni ile ilişkili rapor edilen başka bir hasta bulunmamakla birlikte, Jacinto ve ark. *Hereford Cattle* cinsi büyükbaşlarda KRT71 genindeki biallelik varyantların kısa, ince, yünsü tüylerle sonuçlandığını ve bu resesif *KRT71* ilişkili hipotrikozis formunun, benzer resesif insan fenotipleri için yeni ve önemli hayvan modeli sunduğunu bildirilmiştir (225). Hastamızda ve bir kardeşinde bildirilen yünsü saç fenotipinin KRT71 geninde saptanan biallelik varyant ile ilişkisinin açıklanabilmesi için, ailede segregasyon analizinin genişletilmesine ve yeni bildirilecek vakalara ihtiyaç vardır.

Yeni nesil dizileme analizlerinin artan kullanımı, klinikte karşılaşılan karmaşık fenotipik özelliklerin altında, birden fazla genetik etiyolojinin bir arada bulunmasının yatabileceğini ortaya koymuştur. Rossino ve ark. çeşitli fenotipik bulgulara yönelik WES analizi yapılan hastalarda, çoklu tanı oranını incelemiş ve bu oranı %2,5 olarak bildirmişlerdir (226) Smith ve ark. ise çoklu tanı oranının akraba evliliği oranı ile ilişkisini incelemiş ve hastalardaki çoklu tanı oranının özellikle akraba evliliği varlığında üç kat kadar arttığını rapor etmişlerdir (227). Çalışmada birden fazla tanı tespit edilen hastalarda, tek bir tanısı olanlara kıyasla, genellikle daha fazla organ sisteminin etkilendiği görülmüştür. Bu çalışmalar, karmaşık fenotipik bulguları olan vakalarda, kapsamlı genetik testlerin ve yeniden değerlendirmenin önemini vurgulamakta ve tek bir moleküler tanının, klinik bulguların tamamını açıklamayabileceğini bildirmektedir (226, 227). Bu durumdan hareketle, atipik ve/veya karmaşık bulguların gözlendiği hastalarda, bulguların tek bir etiyolojik faktöre bağlanmadan önce, çoklu moleküler etiyolojiye bağlı kombine fenotipin bir parçası olabileceği ihtimalinin göz önünde bulundurulması gerektiği vurgulanmaktadır (226, 227). Çalışmamızda tespit edilen ve

başlangıçta ana fenotipin bir parçası olabileceği düşünülen saç bulgusunu açıklayabilecek *KRT71* aday varyantının tespit edilmiş olması, bu görüşü desteklemektedir.

WES analizi sonucunda altta yatan etiyolojilerin belirlenememesinin altında pek çok neden yer alabilir. Bunlar; araştırılan Mendelyan hastalığın altında yatan genetik temelin henüz bilinmemesi, fenotipten sorumlu olan gen bilinmesine rağmen, kullanılan kit veya platformların belirli varyant tiplerini (örneğin, kısa tandem tekrarlar, metilasyon bozuklukları, kopya sayısı değişiklikleri vb.) inceleyememesi gibi teknik sınırlılıklar, laboratuvarın varyantın patojenitesini yorumlamak için yeterli bilgi ve tecrübeye sahip olmaması, eksik penetrans ve değişken ekspresivite gibi fenotip-genotip ilişkisinin doğru değerlendirilmesini etkileyecek durumlar ve analiz öncesinde derin fenotipleme yapılamamasına bağlı fenotip bilgisi eksikliği olarak sıralanabilir (228). Wojcik ve arkadaşları, Mendelyan hastalıklar için negatif ekzom sonucu sonrasında test seçimi stratejilerini inceledikleri güncel derlemelerinde, WGS'yi; kodlamayan bölgelere ait dizileme verisi sunması, kopya sayısı değişikliklerini belirlemede ekzom analizine göre daha güvenilir olması ve yeni analiz programları sayesinde üçlü tekrar hastalıkları ve uniparental dizomilerin belirlenmesinde giderek daha güvenilir biçimde kullanılması nedenleriyle, negatif WES analizi sonrasında tercih edilecek bir sonraki basamak test olarak önermişlerdir (228). Ayrıca RNA dizilemesi, optik genom haritalama gibi yeni teknolojilerin de alternatif analiz yöntemleri olarak denenebileceğini, ancak klinik tanıda bu teknolojilerin mevcut stratejilere üstünlüğünün henüz belirlenemediğini vurgulamışlardır (228). Bertoli-Avella ve ark. da bu görüş ile uyumlu olarak negatif ekzom analizi sonrasında yapılan genom analizinin, tanıya %15 oranında katkı sağlayabileceğini bildirmiştir (229).

Çalışmamızda, altta yatan etiyolojinin aydınlatılamadığı hasta grubunda bu sonucun altında yatan olası etkenler değerlendirildiğinde, gen-fenotip ilişkisinin henüz kurulamadığı bir gende olası bir varyantın bulunması ve WES analizinin derin intronik ve yapısal varyantları tespit edememiş olması gibi faktörlerin etkili olabileceği düşünülmüştür. Bu durum göz önünde bulundurularak, negatif sonuç alınan hastalarda yeni projeler aracılığıyla genom analizi yapılması ve ekzom verilerinin bir yıllık periyotlarla yeniden değerlendirilmesi planlanmıştır.

Sonuç olarak çalışmamızda klinik bulguları nedeniyle siliyopati grubu hastalık ön tanısı ile izlenen toplam sekiz hastada tüm ekzom dizileme yöntemi ile moleküler inceleme yapılmıştır. Analiz sonucunda hastaların beşinde, *BBS10*, *TTC26*, *CC2D2A* ve *CEP290* genlerinde toplam altı varyantın klinik bulgulardan sorumlu olduğu, bunların da üçünün daha önce bildirilmemiş varyantlar olduğu tespit edilmiştir. 5 no.'lu hastada tanımlanan AVSD ve yarık damak ile 4 no.'lu hastada tanımlanan tuba uterina atrezisi *BBS10* varyantlarıyla ve 3 no.'lu hastada tanımlanan obezite ve hemofagositik sendrom bulguları *TTC26* varyantlarıyla ilişkili olabilecek ve daha önce tanımlanmamış klinik bulgular olarak saptanmıştır. Bulgularımız siliyopati grubu hastalıklarla ilgili fenotipik ve genotipik spektrumunun genişletilmesine katkıda bulunmuştur.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda klinik bulguları nedeniyle siliyopati grubu hastalık düşünülen WES analizi yapılan toplam sekiz hastadan 5'inde(% 62,5) altta yatan moleküler etiyojini aydınlatılmıştır. Bu tanısal oran, literatürde özellikle multisistemik bulguların tanımlandığı siliyopati kohortlarında bildirilen WES analizi tanısal oranları ile uyum göstermiştir.
2. Moleküler etiyojinin aydınlatıldığı grupta, varyant saptanan genler *BBS10*, *TTC26*, *CC2D2A* ve *CEP290* olarak sıralanmıştır. Bu gruptaki hastaların tümünde global gelişme geriliği ve/veya zihinsel yetersizlikle birlikte multisistemik anomalilerin bulunduğu gözlenmiştir.
3. Tanı konulabilen gruptaki hastalar sırası ile Bardet-Biedl Sendromu 10 (OMIM#615987), Joubert Sendromu 5 (OMIM#610188), Joubert Sendromu 9 (OMIM#612285) ve Biliyer-Renal-Nörolojik-İskelet Sendromu (OMIM#619534) tanıları ile izleme alınmıştır.
4. Tanı konulan hastalarda saptanan *CEP290*, c.1075G>T (p.Glu359Ter), *TTC26*, c.32dup (p.Arg12GlnfsTer7), *BBS10*, c.456C>A (p.His152Gln) varyantlarının daha önce bildirilmemiş varyantlar olduğu tespit edilmiştir.
5. 5 no.'lu hastada tanımlanan AVSD ve yarı damak ile 4 no.'lu hastada tanımlanan tuba uterina atrezisi *BBS10* varyantlarıyla ve 3 no.'lu hastada tanımlanan obezite ve hemofagositik sendrom bulguları *TTC26* varyantlarıyla ilişkili olabilecek ve daha önce tanımlanmamış klinik bulgular olarak saptanmıştır.
6. Tanı konulamayan hastalardan ikisinde (6 ve 7 no.'lu bireyler) herhangi bir aday varyant saptanmazken, bir hastada (8 no.'lu birey) saç fenotipini açıklayan ancak siliyopati fenotipiyle ilişkisiz *KRT71* geninde daha önce bildirilmemiş bir aday varyant homozigot durumda tespit edilmiştir.
7. Çalışmamızdaki hasta kohortunda akrabalık oranı %87,5 olarak saptanmıştır. Altta yatan moleküler etiyojinin aydınlatıldığı hastaların biri hariç tümünde anne ve baba arasında akrabalık olduğu, bunların yarısında benzer bulgularla etkilenmiş ve/veya kaybedilmiş kardeş öyküsü bulunduğu görülmüştür.
8. Bulgularımız siliyopati grubu hastalıklar ilgili fenotipik ve genotipik spektrumunun genişletilmesine katkıda bulunmuştur.

7. REFERANSLAR

1. Reiter JF, Leroux MR. Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2017;18(9):533-47.
2. Satir P. CILIA: before and after. *Cilia.* 2017;6:1.
3. Braun DA, Hildebrandt F. Ciliopathies. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(3).
4. Wallmeier J, Nielsen KG, Kuehni CE, Lucas JS, Leigh MW, Zariwala MA, et al. Motile ciliopathies. *Nat Rev Dis Primers.* 2020;6(1):77.
5. Vasquez SSV, van Dam J, Wheway G. An updated SYSCILIA gold standard (SCGSv2) of known ciliary genes, revealing the vast progress that has been made in the cilia research field. *Mol Biol Cell.* 2021;32(22):br13.
6. Ma M. Cilia and polycystic kidney disease. *Semin Cell Dev Biol.* 2021;110:139-48.
7. Horani A, Ferkol TW. Understanding Primary Ciliary Dyskinesia and Other Ciliopathies. *J Pediatr.* 2021;230:15-22 e1.
8. Derderian C, Canales GI, Reiter JF. Seriously cilia: A tiny organelle illuminates evolution, disease, and intercellular communication. *Dev Cell.* 2023;58(15):1333-49.
9. Waters AM, Beales PL. Ciliopathies: an expanding disease spectrum. *Pediatr Nephrol.* 2011;26(7):1039-56.
10. Brennan SK, Ferkol TW, Davis SD. Emerging Genotype-Phenotype Relationships in Primary Ciliary Dyskinesia. *Int J Mol Sci.* 2021;22(15).
11. Chandra B, Tung ML, Hsu Y, Scheetz T, Sheffield VC. Retinal ciliopathies through the lens of Bardet-Biedl Syndrome: Past, present and future. *Prog Retin Eye Res.* 2022;89:101035.
12. Stoufflet J, Caille I. The Primary Cilium and Neuronal Migration. *Cells.* 2022;11(21).
13. Duy PQ, Greenberg ABW, Butler WE, Kahle KT. Rethinking the cilia hypothesis of hydrocephalus. *Neurobiol Dis.* 2022;175:105913.
14. Gopalakrishnan J, Feistel K, Friedrich BM, Grapin-Botton A, Jurisch-Yaksi N, Mass E, et al. Emerging principles of primary cilia dynamics in controlling tissue organization and function. *EMBO J.* 2023;42(21):e113891.
15. Raina R, Lomanta F, Singh S, Anand A, Kalra R, Erukonda V, et al. Cystic Diseases of the Kidneys: From Bench to Bedside. *Indian J Nephrol.* 2023;33(2):83-92.
16. Schweickert A, Ott T, Kurz S, Tingler M, Maerker M, Fuhl F, et al. Vertebrate Left-Right Asymmetry: What Can Nodal Cascade Gene Expression Patterns Tell Us? *J Cardiovasc Dev Dis.* 2017;5(1).

17. Forrest K, Barricella AC, Pohar SA, Hinman AM, Amack JD. Understanding laterality disorders and the left-right organizer: Insights from zebrafish. *Front Cell Dev Biol.* 2022;10:1035513.
18. Arora S, Rana M, Sachdev A, D'Souza JS. Appearing and disappearing acts of cilia. *J Biosci.* 2023;48(1).
19. Reiter JF, Blacque OE, Leroux MR. The base of the cilium: roles for transition fibres and the transition zone in ciliary formation, maintenance and compartmentalization. *EMBO Rep.* 2012;13(7):608-18.
20. Goetz SC, Anderson KV. The primary cilium: a signalling centre during vertebrate development. *Nat Rev Genet.* 2010;11(5):331-44.
21. Mul W, Mitra A, Peterman EJG. Mechanisms of Regulation in Intraflagellar Transport. *Cells.* 2022;11(17).
22. Klena N, Pigino G. Structural Biology of Cilia and Intraflagellar Transport. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2022;38:103-23.
23. Lechtreck K. Cargo adapters expand the transport range of intraflagellar transport. *J Cell Sci.* 2022;135(24).
24. Macarelli V, Leventea E, Merkle FT. Regulation of the length of neuronal primary cilia and its potential effects on signalling. *Trends Cell Biol.* 2023;33(11):979-90.
25. Mitchison HM, Valente EM. Motile and non-motile cilia in human pathology: from function to phenotypes. *J Pathol.* 2017;241(2):294-309.
26. Ruat M, Roudaut H, Ferent J, Traiffort E. Hedgehog trafficking, cilia and brain functions. *Differentiation.* 2012;83(2):S97-104.
27. Dessaud E, Yang LL, Hill K, Cox B, Ulloa F, Ribeiro A, et al. Interpretation of the sonic hedgehog morphogen gradient by a temporal adaptation mechanism. *Nature.* 2007;450(7170):717-20.
28. Sasai N, Toriyama M, Kondo T. Hedgehog Signal and Genetic Disorders. *Front Genet.* 2019;10:1103.
29. Anvarian Z, Mykytyn K, Mukhopadhyay S, Pedersen LB, Christensen ST. Cellular signalling by primary cilia in development, organ function and disease. *Nat Rev Nephrol.* 2019;15(4):199-219.
30. Wheway G, Nazlamova L, Hancock JT. Signaling through the Primary Cilium. *Front Cell Dev Biol.* 2018;6:8.
31. Andreu-Cervera A, Catala M, Schneider-Maunoury S. Cilia, ciliopathies and hedgehog-related forebrain developmental disorders. *Neurobiol Dis.* 2021;150:105236.
32. De Mori R, Romani M, D'Arrigo S, Zaki MS, Lorefice E, Tardivo S, et al. Hypomorphic Recessive Variants in SUFU Impair the Sonic Hedgehog Pathway and Cause Joubert Syndrome with Cranio-facial and Skeletal Defects. *Am J Hum Genet.* 2017;101(4):552-63.

33. Elkouby YM, Frank D. Wnt/beta-Catenin Signaling in Vertebrate Posterior Neural Development. *Developmental Biology*. San Rafael (CA)2010.
34. Veland IR, Awan A, Pedersen LB, Yoder BK, Christensen ST. Primary cilia and signaling pathways in mammalian development, health and disease. *Nephron Physiol*. 2009;111(3):p39-53.
35. Cardenas-Rodriguez M, Badano JL. Ciliary biology: understanding the cellular and genetic basis of human ciliopathies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2009;151C(4):263-80.
36. Grigoryan T, Wend P, Klaus A, Birchmeier W. Deciphering the function of canonical Wnt signals in development and disease: conditional loss- and gain-of-function mutations of beta-catenin in mice. *Genes Dev*. 2008;22(17):2308-41.
37. Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2004;20:781-810.
38. Komiya Y, Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis*. 2008;4(2):68-75.
39. Abdelhamed ZA, Wheway G, Szymanska K, Natarajan S, Toomes C, Inglehearn C, et al. Variable expressivity of ciliopathy neurological phenotypes that encompass Meckel-Gruber syndrome and Joubert syndrome is caused by complex deregulated ciliogenesis, Shh and Wnt signalling defects. *Hum Mol Genet*. 2013;22(7):1358-72.
40. Wheway G, Abdelhamed Z, Natarajan S, Toomes C, Inglehearn C, Johnson CA. Aberrant Wnt signalling and cellular over-proliferation in a novel mouse model of Meckel-Gruber syndrome. *Dev Biol*. 2013;377(1):55-66.
41. Abdelhamed ZA, Natarajan S, Wheway G, Inglehearn CF, Toomes C, Johnson CA, et al. The Meckel-Gruber syndrome protein TMEM67 controls basal body positioning and epithelial branching morphogenesis in mice via the non-canonical Wnt pathway. *Dis Model Mech*. 2015;8(6):527-41.
42. Pala R, Alomari N, Nauli SM. Primary Cilium-Dependent Signaling Mechanisms. *Int J Mol Sci*. 2017;18(11).
43. Heldin CH. Targeting the PDGF signaling pathway in the treatment of non-malignant diseases. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2014;9(2):69-79.
44. Nishimura Y, Kasahara K, Shiromizu T, Watanabe M, Inagaki M. Primary Cilia as Signaling Hubs in Health and Disease. *Adv Sci (Weinh)*. 2019;6(1):1801138.
45. Schou KB, Pedersen LB, Christensen ST. Ins and outs of GPCR signaling in primary cilia. *EMBO Rep*. 2015;16(9):1099-113.
46. Hilgendorf KI, Johnson CT, Jackson PK. The primary cilium as a cellular receiver: organizing ciliary GPCR signaling. *Curr Opin Cell Biol*. 2016;39:84-92.
47. Ezratty EJ, Stokes N, Chai S, Shah AS, Williams SE, Fuchs E. A role for the primary cilium in Notch signaling and epidermal differentiation during skin development. *Cell*. 2011;145(7):1129-41.

48. Clement CA, Ajbro KD, Koefoed K, Vestergaard ML, Veland IR, Henriques de Jesus MP, et al. TGF-beta signaling is associated with endocytosis at the pocket region of the primary cilium. *Cell Rep.* 2013;3(6):1806-14.
49. Amanso AM, Kamalakar A, Bitarafan S, Abramowicz S, Drissi H, Barnett JV, et al. Osteoinductive effect of soluble transforming growth factor beta receptor 3 on human osteoblast lineage. *J Cell Biochem.* 2021;122(5):538-48.
50. Vestergaard ML, Awan A, Warzecha CB, Christensen ST, Andersen CY. Immunofluorescence Microscopy and mRNA Analysis of Human Embryonic Stem Cells (hESCs) Including Primary Cilia Associated Signaling Pathways. *Methods Mol Biol.* 2016;1307:123-40.
51. Focsa IO, Budisteanu M, Balgradean M. Clinical and genetic heterogeneity of primary ciliopathies (Review). *Int J Mol Med.* 2021;48(3).
52. Basten SG, Giles RH. Functional aspects of primary cilia in signaling, cell cycle and tumorigenesis. *Cilia.* 2013;2(1):6.
53. Boehlke C, Kotsis F, Patel V, Braeg S, Voelker H, Bredt S, et al. Primary cilia regulate mTORC1 activity and cell size through Lkb1. *Nat Cell Biol.* 2010;12(11):1115-22.
54. Lee SH, Nam TS, Li W, Kim JH, Yoon W, Choi YD, et al. Functional validation of novel MKS3/TMEM67 mutations in COACH syndrome. *Sci Rep.* 2017;7(1):10222.
55. Higginbotham H, Eom TY, Mariani LE, Bachleda A, Hirt J, Gukassyan V, et al. Arl13b in primary cilia regulates the migration and placement of interneurons in the developing cerebral cortex. *Dev Cell.* 2012;23(5):925-38.
56. Coppieters F, Lefever S, Leroy BP, De Baere E. CEP290, a gene with many faces: mutation overview and presentation of CEP290base. *Hum Mutat.* 2010;31(10):1097-108.
57. Alby C, Piquand K, Huber C, Megarbane A, Ichkou A, Legendre M, et al. Mutations in KIAA0586 Cause Lethal Ciliopathies Ranging from a Hydrolethalus Phenotype to Short-Rib Polydactyly Syndrome. *Am J Hum Genet.* 2015;97(2):311-8.
58. Malicdan MC, Vilboux T, Stephen J, Maglic D, Mian L, Konzman D, et al. Mutations in human homologue of chicken talpid3 gene (KIAA0586) cause a hybrid ciliopathy with overlapping features of Jeune and Joubert syndromes. *J Med Genet.* 2015;52(12):830-9.
59. Bachmann-Gagescu R, Phelps IG, Dempsey JC, Sharma VA, Ishak GE, Boyle EA, et al. KIAA0586 is Mutated in Joubert Syndrome. *Hum Mutat.* 2015;36(9):831-5.
60. Lai B, Jiang H, Gao Y, Zhou X. Skeletal ciliopathy: pathogenesis and related signaling pathways. *Mol Cell Biochem.* 2023.
61. Quadri N, Upadhyai P. Primary cilia in skeletal development and disease. *Exp Cell Res.* 2023;431(1):113751.
62. Tian X, Zhao H, Zhou J. Organization, functions, and mechanisms of the BBSome in development, ciliopathies, and beyond. *Elife.* 2023;12.

63. Mougou-Zerelli S, Thomas S, Szenker E, Audollent S, Elkhartoufi N, Babarit C, et al. CC2D2A mutations in Meckel and Joubert syndromes indicate a genotype-phenotype correlation. *Hum Mutat.* 2009;30(11):1574-82.
64. Bujakowska KM, Zhang Q, Siemiatkowska AM, Liu Q, Place E, Falk MJ, et al. Mutations in IFT172 cause isolated retinal degeneration and Bardet-Biedl syndrome. *Hum Mol Genet.* 2015;24(1):230-42.
65. Maglic D, Stephen J, Malicdan MC, Guo J, Fischer R, Konzman D, et al. TMEM231 Gene Conversion Associated with Joubert and Meckel-Gruber Syndromes in the Same Family. *Hum Mutat.* 2016;37(11):1144-8.
66. Perea-Romero I, Solarat C, Blanco-Kelly F, Sanchez-Navarro I, Bea-Mascato B, Martin-Salazar E, et al. Allelic overload and its clinical modifier effect in Bardet-Biedl syndrome. *NPJ Genom Med.* 2022;7(1):41.
67. Gnanasekaran H, Chandrasekhar SP, Kandeegan S, Periyasamy P, Bhende M, Khetan V, et al. Mutation profile of Bardet-Biedl syndrome patients from India: Implicative role of multiallelic rare variants and oligogenic inheritance pattern. *Clin Genet.* 2023;104(4):443-60.
68. Yee LE, Garcia-Gonzalo FR, Bowie RV, Li C, Kennedy JK, Ashrafi K, et al. Conserved Genetic Interactions between Ciliopathy Complexes Cooperatively Support Ciliogenesis and Ciliary Signaling. *PLoS Genet.* 2015;11(11):e1005627.
69. Jensen VL, Li C, Bowie RV, Clarke L, Mohan S, Blacque OE, et al. Formation of the transition zone by Mks5/Rpgrip1L establishes a ciliary zone of exclusion (CIZE) that compartmentalises ciliary signalling proteins and controls PIP2 ciliary abundance. *EMBO J.* 2015;34(20):2537-56.
70. Brown JM, Witman GB. Cilia and Diseases. *Bioscience.* 2014;64(12):1126-37.
71. Oud MM, Lamers IJ, Arts HH. Ciliopathies: Genetics in Pediatric Medicine. *J Pediatr Genet.* 2017;6(1):18-29.
72. Quinlan RJ, Tobin JL, Beales PL. Modeling ciliopathies: Primary cilia in development and disease. *Curr Top Dev Biol.* 2008;84:249-310.
73. Ferkol TW, Leigh MW. Ciliopathies: the central role of cilia in a spectrum of pediatric disorders. *J Pediatr.* 2012;160(3):366-71.
74. Horani A, Ferkol TW. Primary ciliary dyskinesia and associated sensory ciliopathies. *Expert Rev Respir Med.* 2016;10(5):569-76.
75. Fliegauf M, Benzing T, Omran H. When cilia go bad: cilia defects and ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(11):880-93.
76. Ware SM, Aygun MG, Hildebrandt F. Spectrum of clinical diseases caused by disorders of primary cilia. *Proc Am Thorac Soc.* 2011;8(5):444-50.
77. Wanner A, Salathe M, O'Riordan TG. Mucociliary clearance in the airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154(6 Pt 1):1868-902.
78. Mall MA. Role of cilia, mucus, and airway surface liquid in mucociliary dysfunction: lessons from mouse models. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2008;21(1):13-24.

79. Ibanez-Tallon I, Pagenstecher A, Fliegau M, Olbrich H, Kispert A, Ketelsen UP, et al. Dysfunction of axonemal dynein heavy chain Mdnah5 inhibits ependymal flow and reveals a novel mechanism for hydrocephalus formation. *Hum Mol Genet.* 2004;13(18):2133-41.
80. Faubel R, Westendorf C, Bodenschatz E, Eichele G. Cilia-based flow network in the brain ventricles. *Science.* 2016;353(6295):176-8.
81. El Khouri E, Thomas L, Jeanson L, Bequignon E, Vallette B, Duquesnoy P, et al. Mutations in DNAJB13, Encoding an HSP40 Family Member, Cause Primary Ciliary Dyskinesia and Male Infertility. *Am J Hum Genet.* 2016;99(2):489-500.
82. Wallmeier J, Shiratori H, Dougherty GW, Edelbusch C, Hjeij R, Loges NT, et al. TTC25 Deficiency Results in Defects of the Outer Dynein Arm Docking Machinery and Primary Ciliary Dyskinesia with Left-Right Body Asymmetry Randomization. *Am J Hum Genet.* 2016;99(2):460-9.
83. Raidt J, Loges NT, Olbrich H, Wallmeier J, Pennekamp P, Omran H. Primary ciliary dyskinesia. *Presse Med.* 2023;52(3):104171.
84. Castillo M, Freire E, Romero VI. Primary ciliary dyskinesia diagnosis and management and its implications in America: a mini review. *Front Pediatr.* 2023;11:1091173.
85. Wallmeier J, Dallmayer M, Omran H. The role of cilia for hydrocephalus formation. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2022;190(1):47-56.
86. Wallmeier J, Frank D, Shoemark A, Nothe-Menchen T, Cindric S, Olbrich H, et al. De Novo Mutations in FOXJ1 Result in a Motile Ciliopathy with Hydrocephalus and Randomization of Left/Right Body Asymmetry. *Am J Hum Genet.* 2019;105(5):1030-9.
87. Hyland RM, Brody SL. Impact of Motile Ciliopathies on Human Development and Clinical Consequences in the Newborn. *Cells.* 2021;11(1).
88. Wallmeier J, Al-Mutairi DA, Chen CT, Loges NT, Pennekamp P, Menchen T, et al. Mutations in CCNO result in congenital mucociliary clearance disorder with reduced generation of multiple motile cilia. *Nat Genet.* 2014;46(6):646-51.
89. Davis SD, Ferkol TW, Rosenfeld M, Lee HS, Dell SD, Sagel SD, et al. Clinical features of childhood primary ciliary dyskinesia by genotype and ultrastructural phenotype. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;191(3):316-24.
90. Davis SD, Rosenfeld M, Lee HS, Ferkol TW, Sagel SD, Dell SD, et al. Primary Ciliary Dyskinesia: Longitudinal Study of Lung Disease by Ultrastructure Defect and Genotype. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019;199(2):190-8.
91. Fassad MR, Shoemark A, Legendre M, Hirst RA, Koll F, le Borgne P, et al. Mutations in Outer Dynein Arm Heavy Chain DNAH9 Cause Motile Cilia Defects and Situs Inversus. *Am J Hum Genet.* 2018;103(6):984-94.
92. Amirav I, Wallmeier J, Loges NT, Menchen T, Pennekamp P, Mussaffi H, et al. Systematic Analysis of CCNO Variants in a Defined Population: Implications for Clinical Phenotype and Differential Diagnosis. *Hum Mutat.* 2016;37(4):396-405.

93. Boon M, Wallmeier J, Ma L, Loges NT, Jaspers M, Olbrich H, et al. MCIDAS mutations result in a mucociliary clearance disorder with reduced generation of multiple motile cilia. *Nat Commun.* 2014;5:4418.
94. Knowles MR, Ostrowski LE, Leigh MW, Sears PR, Davis SD, Wolf WE, et al. Mutations in RSPH1 cause primary ciliary dyskinesia with a unique clinical and ciliary phenotype. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;189(6):707-17.
95. Kott E, Legendre M, Copin B, Papon JF, Dastot-Le Moal F, Montantin G, et al. Loss-of-function mutations in RSPH1 cause primary ciliary dyskinesia with central-complex and radial-spoke defects. *Am J Hum Genet.* 2013;93(3):561-70.
96. Loges NT, Antony D, Maver A, Deardorff MA, Gulec EY, Gezdirici A, et al. Recessive DNAH9 Loss-of-Function Mutations Cause Laterality Defects and Subtle Respiratory Ciliary-Beating Defects. *Am J Hum Genet.* 2018;103(6):995-1008.
97. Schwabe GC, Hoffmann K, Loges NT, Birker D, Rossier C, de Santi MM, et al. Primary ciliary dyskinesia associated with normal axoneme ultrastructure is caused by DNAH11 mutations. *Hum Mutat.* 2008;29(2):289-98.
98. Paff T, Loges NT, Aprea I, Wu K, Bakey Z, Haarman EG, et al. Mutations in PIH1D3 Cause X-Linked Primary Ciliary Dyskinesia with Outer and Inner Dynein Arm Defects. *Am J Hum Genet.* 2017;100(1):160-8.
99. Odent S, Le Marec B, Toutain A, David A, Vigneron J, Treguier C, et al. Central nervous system malformations and early end-stage renal disease in oro-facio-digital syndrome type I: a review. *Am J Med Genet.* 1998;75(4):389-94.
100. Webb TR, Parfitt DA, Gardner JC, Martinez A, Bevilacqua D, Davidson AE, et al. Deep intronic mutation in OFD1, identified by targeted genomic next-generation sequencing, causes a severe form of X-linked retinitis pigmentosa (RP23). *Hum Mol Genet.* 2012;21(16):3647-54.
101. Yang Z, Peachey NS, Moshfeghi DM, Thirumalaichary S, Chorich L, Shugart YY, et al. Mutations in the RPGR gene cause X-linked cone dystrophy. *Hum Mol Genet.* 2002;11(5):605-11.
102. Tamakoshi T, Itakura T, Chandra A, Uezato T, Yang Z, Xue XD, et al. Roles of the Foxj1 and Inv genes in the left-right determination of internal organs in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;339(3):932-8.
103. Clearman KR, Haycraft CJ, Croyle MJ, Collawn JF, Yoder BK. Functions of the primary cilium in the kidney and its connection with renal diseases. *Curr Top Dev Biol.* 2023;155:39-94.
104. Luo L, Roy S, Li L, Ma M. Polycystic kidney disease: novel insights into polycystin function. *Trends Mol Med.* 2023;29(4):268-81.
105. Arts HH, Knoers NV. Current insights into renal ciliopathies: what can genetics teach us? *Pediatr Nephrol.* 2013;28(6):863-74.
106. Burgmaier K, Broekaert IJ, Liebau MC. Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease: Diagnosis, Prognosis, and Management. *Adv Kidney Dis Health.* 2023;30(5):468-76.

107. Bergmann C. ARPKD and early manifestations of ADPKD: the original polycystic kidney disease and phenocopies. *Pediatr Nephrol.* 2015;30(1):15-30.
108. Wolf MTF, Bonsib SM, Larsen CP, Hildebrandt F. Nephronophthisis: a pathological and genetic perspective. *Pediatr Nephrol.* 2023.
109. Braun DA, Schueler M, Halbritter J, Gee HY, Porath JD, Lawson JA, et al. Whole exome sequencing identifies causative mutations in the majority of consanguineous or familial cases with childhood-onset increased renal echogenicity. *Kidney Int.* 2016;89(2):468-75.
110. Hildebrandt F, Otto E. Cilia and centrosomes: a unifying pathogenic concept for cystic kidney disease? *Nat Rev Genet.* 2005;6(12):928-40.
111. Stokman M, Lilien M, Knoers N. Nephronophthisis-Related Ciliopathies. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, et al., editors. *GeneReviews((R))*. Seattle (WA)1993.
112. Devlin L, Dhondurao Sudhindar P, Sayer JA. Renal ciliopathies: promising drug targets and prospects for clinical trials. *Expert Opin Ther Targets.* 2023;27(4-5):325-46.
113. Kamde SP, Anjankar A. Retinitis Pigmentosa: Pathogenesis, Diagnostic Findings, and Treatment. *Cureus.* 2023;15(10):e48006.
114. Fahim A. Retinitis pigmentosa: recent advances and future directions in diagnosis and management. *Curr Opin Pediatr.* 2018;30(6):725-33.
115. Fahim AT, Daiger SP, Weleber RG. Nonsyndromic Retinitis Pigmentosa Overview. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, et al., editors. *GeneReviews((R))*. Seattle (WA)1993.
116. Kumaran N, Moore AT, Weleber RG, Michaelides M. Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: clinical features, molecular genetics and therapeutic interventions. *Br J Ophthalmol.* 2017;101(9):1147-54.
117. Koenekoop RK. An overview of Leber congenital amaurosis: a model to understand human retinal development. *Surv Ophthalmol.* 2004;49(4):379-98.
118. Kumaran N, Pennesi ME, Yang P, Trzuppek KM, Schlechter C, Moore AT, et al. Leber Congenital Amaurosis / Early-Onset Severe Retinal Dystrophy Overview. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, et al., editors. *GeneReviews((R))*. Seattle (WA)1993.
119. Fuster-Garcia C, Garcia-Bohorquez B, Rodriguez-Munoz A, Aller E, Jaijo T, Millan JM, et al. Usher Syndrome: Genetics of a Human Ciliopathy. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13).
120. Yahalom C, Volovelsky O, Macarov M, Altalbishi A, Alsweiti Y, Schneider N, et al. SENIOR-LOKEN SYNDROME: A Case Series and Review of the Renoretinal Phenotype and Advances of Molecular Diagnosis. *Retina.* 2021;41(10):2179-87.
121. Baujat G, Le Merrer M. Ellis-van Creveld syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2007;2:27.

122. Ruiz-Perez VL, Blair HJ, Rodriguez-Andres ME, Blanco MJ, Wilson A, Liu YN, et al. Evc is a positive mediator of Ihh-regulated bone growth that localises at the base of chondrocyte cilia. *Development*. 2007;134(16):2903-12.
123. O'Connor MB, Gallagher DP, Mulloy E. Jeune syndrome. *Postgrad Med J*. 2008;84(996):559.
124. Handa A, Voss U, Hammarsjo A, Grigelioniene G, Nishimura G. Skeletal ciliopathies: a pattern recognition approach. *Jpn J Radiol*. 2020;38(3):193-206.
125. de Vries J, Yntema JL, van Die CE, Crama N, Cornelissen EA, Hamel BC. Jeune syndrome: description of 13 cases and a proposal for follow-up protocol. *Eur J Pediatr*. 2010;169(1):77-88.
126. Strong A, Li D, Mentch F, Hakonarson H. A novel heterotaxy gene: Expansion of the phenotype of TTC21B-spectrum disease. *Am J Med Genet A*. 2021;185(4):1266-9.
127. Stembalska A, Rydzanicz M, Klaniewska M, Dudarewicz L, Pollak A, Biela M, et al. Prenatal Diagnosis of Jeune Syndrome Caused by Compound Heterozygous Variants in DYNC2H1 Gene-Case Report with Rapid WES Procedure and Differential Diagnosis of Lethal Skeletal Dysplasias. *Genes (Basel)*. 2022;13(8).
128. Huber C, Cormier-Daire V. Ciliary disorder of the skeleton. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2012;160C(3):165-74.
129. Bruel AL, Franco B, Duffourd Y, Thevenon J, Jegou L, Lopez E, et al. Fifteen years of research on oral-facial-digital syndromes: from 1 to 16 causal genes. *J Med Genet*. 2017;54(6):371-80.
130. Gurrieri F, Franco B, Toriello H, Neri G. Oral-facial-digital syndromes: review and diagnostic guidelines. *Am J Med Genet A*. 2007;143A(24):3314-23.
131. Ece Solmaz A, Onay H, Atik T, Aykut A, Cerrah Gunes M, Ozalp Yuregir O, et al. Targeted multi-gene panel testing for the diagnosis of Bardet Biedl syndrome: Identification of nine novel mutations across BBS1, BBS2, BBS4, BBS7, BBS9, BBS10 genes. *Eur J Med Genet*. 2015;58(12):689-94.
132. Forsythe E, Beales PL. Bardet-Biedl syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2013;21(1):8-13.
133. Deveault C, Billingsley G, Duncan JL, Bin J, Theal R, Vincent A, et al. BBS genotype-phenotype assessment of a multiethnic patient cohort calls for a revision of the disease definition. *Hum Mutat*. 2011;32(6):610-9.
134. M'Hamdi O, Redin C, Stoetzel C, Ouertani I, Chaabouni M, Maazoul F, et al. Clinical and genetic characterization of Bardet-Biedl syndrome in Tunisia: defining a strategy for molecular diagnosis. *Clin Genet*. 2014;85(2):172-7.
135. Beales PL, Warner AM, Hitman GA, Thakker R, Flinter FA. Bardet-Biedl syndrome: a molecular and phenotypic study of 18 families. *J Med Genet*. 1997;34(2):92-8.
136. Abu Safieh L, Aldahmesh MA, Shamseldin H, Hashem M, Shaheen R, Alkuraya H, et al. Clinical and molecular characterisation of Bardet-Biedl syndrome

in consanguineous populations: the power of homozygosity mapping. *J Med Genet.* 2010;47(4):236-41.

137. Forsyth R, Gunay-Aygun M. Bardet-Biedl Syndrome Overview. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, et al., editors. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA)1993.

138. Khan SA, Muhammad N, Khan MA, Kamal A, Rehman ZU, Khan S. Genetics of human Bardet-Biedl syndrome, an updates. *Clin Genet.* 2016;90(1):3-15.

139. Manara E, Paolacci S, D'Esposito F, Abeshi A, Ziccardi L, Falsini B, et al. Mutation profile of BBS genes in patients with Bardet-Biedl syndrome: an Italian study. *Ital J Pediatr.* 2019;45(1):72.

140. Niederlova V, Modrak M, Tsyklauri O, Huranova M, Stepanek O. Meta-analysis of genotype-phenotype associations in Bardet-Biedl syndrome uncovers differences among causative genes. *Hum Mutat.* 2019;40(11):2068-87.

141. Guardiola GA, Ramos F, Izquierdo NJ, Oliver AL. A Genotype-Phenotype Analysis of the Bardet-Biedl Syndrome in Puerto Rico. *Clin Ophthalmol.* 2021;15:3757-64.

142. Marshall JD, Bronson RT, Collin GB, Nordstrom AD, Maffei P, Paisey RB, et al. New Alstrom syndrome phenotypes based on the evaluation of 182 cases. *Arch Intern Med.* 2005;165(6):675-83.

143. Paisey RB, Steeds R, Barrett T, Williams D, Geberhiwot T, Gunay-Aygun M. Alstrom Syndrome. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, et al., editors. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA)1993.

144. Tasdemir S, Guzel-Ozanturk A, Marshall JD, Collin GB, Ozgul RK, Narin N, et al. Atypical presentation and a novel mutation in *ALMS1*: implications for clinical and molecular diagnostic strategies for Alstrom syndrome. *Clin Genet.* 2013;83(1):96-8.

145. Maltese PE, Iarossi G, Ziccardi L, Colombo L, Buzzonetti L, Crino A, et al. A Next Generation Sequencing custom gene panel as first line diagnostic tool for atypical cases of syndromic obesity: Application in a case of Alstrom syndrome. *Eur J Med Genet.* 2018;61(2):79-83.

146. Hoffman JD, Jacobson Z, Young TL, Marshall JD, Kaplan P. Familial variable expression of dilated cardiomyopathy in Alstrom syndrome: a report of four sibs. *Am J Med Genet A.* 2005;135(1):96-8.

147. Valente EM, Brancati F, Dallapiccola B. Genotypes and phenotypes of Joubert syndrome and related disorders. *Eur J Med Genet.* 2008;51(1):1-23.

148. Dennis KE. Components of the doctoral curriculum that build success in the clinical nurse researcher role. *J Prof Nurs.* 1991;7(3):160-5.

149. Bulgheroni S, D'Arrigo S, Signorini S, Briguglio M, Di Sabato ML, Casarano M, et al. Cognitive, adaptive, and behavioral features in Joubert syndrome. *Am J Med Genet A.* 2016;170(12):3115-24.

150. Summers AC, Snow J, Wiggs E, Liu AG, Toro C, Poretti A, et al. Neuropsychological phenotypes of 76 individuals with Joubert syndrome evaluated at a single center. *Am J Med Genet A*. 2017;173(7):1796-812.
151. Weiss AH, Doherty D, Parisi M, Shaw D, Glass I, Phillips JO. Eye movement abnormalities in Joubert syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(10):4669-77.
152. Khan AO, Oystreck DT, Seidahmed MZ, AlDrees A, Elmalik SA, Alorainy IA, et al. Ophthalmic features of Joubert syndrome. *Ophthalmology*. 2008;115(12):2286-9.
153. Parisi MA. Clinical and molecular features of Joubert syndrome and related disorders. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2009;151C(4):326-40.
154. Sanders AA, de Vrieze E, Alazami AM, Alzahrani F, Malarkey EB, Soroush N, et al. KIAA0556 is a novel ciliary basal body component mutated in Joubert syndrome. *Genome Biol*. 2015;16:293.
155. Hardee I, Soldatos A, Davids M, Vilboux T, Toro C, David KL, et al. Defective ciliogenesis in INPP5E-related Joubert syndrome. *Am J Med Genet A*. 2017;173(12):3231-7.
156. Goncalves J, Pelletier L. The Ciliary Transition Zone: Finding the Pieces and Assembling the Gate. *Mol Cells*. 2017;40(4):243-53.
157. Bielas SL, Silhavy JL, Brancati F, Kisseleva MV, Al-Gazali L, Sztriha L, et al. Mutations in INPP5E, encoding inositol polyphosphate-5-phosphatase E, link phosphatidyl inositol signaling to the ciliopathies. *Nat Genet*. 2009;41(9):1032-6.
158. Toriyama M, Lee C, Taylor SP, Duran I, Cohn DH, Bruel AL, et al. The ciliopathy-associated CPLANE proteins direct basal body recruitment of intraflagellar transport machinery. *Nat Genet*. 2016;48(6):648-56.
159. Dafinger C, Liebau MC, Elsayed SM, Hellenbroich Y, Boltshauser E, Korenke GC, et al. Mutations in KIF7 link Joubert syndrome with Sonic Hedgehog signaling and microtubule dynamics. *J Clin Invest*. 2011;121(7):2662-7.
160. Parisi M, Glass I. Joubert Syndrome. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, et al., editors. *GeneReviews*(®). Seattle (WA)1993.
161. Suzuki T, Miyake N, Tsurusaki Y, Okamoto N, Alkindy A, Inaba A, et al. Molecular genetic analysis of 30 families with Joubert syndrome. *Clin Genet*. 2016;90(6):526-35.
162. Uda D, Kondo H, Tanda K, Kizaki Z, Nishida M, Dai H, et al. Two Siblings Showing a Mild Phenotype of Joubert Syndrome with a Specific CEP290 Variant. *Neuropediatrics*. 2023;54(3):217-21.
163. Cardenas-Rodriguez M, Austin-Tse C, Bergboer JGM, Molinari E, Sugano Y, Bachmann-Gagescu R, et al. Genetic compensation for cilia defects in cep290 mutants by upregulation of cilia-associated small GTPases. *J Cell Sci*. 2021;134(14).
164. Gana S, Serpieri V, Valente EM. Genotype-phenotype correlates in Joubert syndrome: A review. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2022;190(1):72-88.

165. Hsiao YC, Munoz-Estrada J, Tuz K, Ferland RJ. The Transition Zone Protein AHI1 Regulates Neuronal Ciliary Trafficking of MCHR1 and Its Downstream Signaling Pathway. *J Neurosci*. 2021;41(17):3932-43.
166. Chen C, Gao J, Lv Q, Xu C, Xia Y, Du A. Retinitis pigmentosa and molar tooth sign caused by novel AHI1 compound heterozygote pathogenic variants. *BMC Med Genomics*. 2021;14(1):242.
167. Bachmann-Gagescu R, Dempsey JC, Phelps IG, O'Roak BJ, Knutzen DM, Rue TC, et al. Joubert syndrome: a model for untangling recessive disorders with extreme genetic heterogeneity. *J Med Genet*. 2015;52(8):514-22.
168. Pezzella N, Bove G, Tammaro R, Franco B. OFD1: One gene, several disorders. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2022;190(1):57-71.
169. Li C, Wang X, Li F, Ding H, Liu L, Xiong Y, et al. A novel non-sense variant in the OFD1 gene caused Joubert syndrome. *Front Genet*. 2022;13:1064762.
170. Van De Weghe JC, Gomez A, Doherty D. The Joubert-Meckel-Nephronophthisis Spectrum of Ciliopathies. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2022;23:301-29.
171. Turkyilmaz A, Geckinli BB, Alavanda C, Arslan Ates E, Buyukbayrak EE, Eren SF, et al. Meckel-Gruber Syndrome: Clinical and Molecular Genetic Profiles in Two Fetuses and Review of the Current Literature. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2021;25(6):445-51.
172. Peng M, Han S, Sun J, He X, Lv Y, Yang L. Evaluation of novel compound variants of CEP290 in prenatally suspected case of Meckel syndrome through whole exome sequencing. *Mol Genet Genomic Med*. 2022;10(5):e1935.
173. Brancati F, Travaglini L, Zablocka D, Boltshauser E, Accorsi P, Montagna G, et al. RPGRIP1L mutations are mainly associated with the cerebello-renal phenotype of Joubert syndrome-related disorders. *Clin Genet*. 2008;74(2):164-70.
174. Consugar MB, Kubly VJ, Lager DJ, Hommerding CJ, Wong WC, Bakker E, et al. Molecular diagnostics of Meckel-Gruber syndrome highlights phenotypic differences between MKS1 and MKS3. *Hum Genet*. 2007;121(5):591-9.
175. Auber B, Burfeind P, Herold S, Schoner K, Simson G, Rauskolb R, et al. A disease causing deletion of 29 base pairs in intron 15 in the MKS1 gene is highly associated with the campomelic variant of the Meckel-Gruber syndrome. *Clin Genet*. 2007;72(5):454-9.
176. Slavotinek AM. McKusick-Kaufman Syndrome. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, et al., editors. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA)1993.
177. Billingsley G, Bin J, Fieggen KJ, Duncan JL, Gerth C, Ogata K, et al. Mutations in chaperonin-like BBS genes are a major contributor to disease development in a multiethnic Bardet-Biedl syndrome patient population. *J Med Genet*. 2010;47(7):453-63.
178. Fath MA, Mullins RF, Searby C, Nishimura DY, Wei J, Rahmouni K, et al. Mkks-null mice have a phenotype resembling Bardet-Biedl syndrome. *Hum Mol Genet*. 2005;14(9):1109-18.

179. David A, Bitoun P, Lacombe D, Lambert JC, Nivelon A, Vigneron J, et al. Hydrometrocolpos and polydactyly: a common neonatal presentation of Bardet-Biedl and McKusick-Kaufman syndromes. *J Med Genet.* 1999;36(8):599-603.
180. Schloss JA, Gibbs RA, Makhijani VB, Marziali A. Cultivating DNA Sequencing Technology After the Human Genome Project. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2020;21:117-38.
181. Udupa P, Ghosh DK. Implementation of Exome Sequencing to Identify Rare Genetic Diseases. *Methods Mol Biol.* 2024;2719:79-98.
182. Morey M, Fernandez-Marmiesse A, Castineiras D, Fraga JM, Couce ML, Cocho JA. A glimpse into past, present, and future DNA sequencing. *Mol Genet Metab.* 2013;110(1-2):3-24.
183. Modarage K, Malik SA, Goggolidou P. Molecular Diagnostics of Ciliopathies and Insights Into Novel Developments in Diagnosing Rare Diseases. *Br J Biomed Sci.* 2022;79:10221.
184. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-24.
185. Kan Z, Zheng H, Liu X, Li S, Barber TD, Gong Z, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in hepatocellular carcinoma. *Genome Res.* 2013;23(9):1422-33.
186. Doherty D, Parisi MA, Finn LS, Gunay-Aygun M, Al-Mateen M, Bates D, et al. Mutations in 3 genes (MKS3, CC2D2A and RPGRIP1L) cause COACH syndrome (Joubert syndrome with congenital hepatic fibrosis). *J Med Genet.* 2010;47(1):8-21.
187. Bachmann-Gagescu R, Ishak GE, Dempsey JC, Adkins J, O'Day D, Phelps IG, et al. Genotype-phenotype correlation in CC2D2A-related Joubert syndrome reveals an association with ventriculomegaly and seizures. *J Med Genet.* 2012;49(2):126-37.
188. Stone EM, Andorf JL, Whitmore SS, DeLuca AP, Giacalone JC, Streb LM, et al. Clinically Focused Molecular Investigation of 1000 Consecutive Families with Inherited Retinal Disease. *Ophthalmology.* 2017;124(9):1314-31.
189. Helou J, Otto EA, Attanasio M, Allen SJ, Parisi MA, Glass I, et al. Mutation analysis of NPHP6/CEP290 in patients with Joubert syndrome and Senior-Loken syndrome. *J Med Genet.* 2007;44(10):657-63.
190. Shen T, Guan L, Li S, Zhang J, Xiao X, Jiang H, et al. Mutation analysis of Leber congenital amaurosis-associated genes in patients with retinitis pigmentosa. *Mol Med Rep.* 2015;11(3):1827-32.
191. Scheidecker S, Hull S, Perdomo Y, Studer F, Pelletier V, Muller J, et al. Predominantly Cone-System Dysfunction as Rare Form of Retinal Degeneration in Patients With Molecularly Confirmed Bardet-Biedl Syndrome. *Am J Ophthalmol.* 2015;160(2):364-72 e1.
192. Bennouna-Greene V, Kremer S, Stoetzel C, Christmann D, Schuster C, Durand M, et al. Hippocampal dysgenesis and variable neuropsychiatric phenotypes in patients

with Bardet-Biedl syndrome underline complex CNS impact of primary cilia. *Clin Genet.* 2011;80(6):523-31.

193. Chen J, Smaoui N, Hammer MB, Jiao X, Riazuddin SA, Harper S, et al. Molecular analysis of Bardet-Biedl syndrome families: report of 21 novel mutations in 10 genes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(8):5317-24.

194. Daniels AB, Sandberg MA, Chen J, Weigel-DiFranco C, Fielding Hejtmancic J, Berson EL. Genotype-phenotype correlations in Bardet-Biedl syndrome. *Arch Ophthalmol.* 2012;130(7):901-7.

195. Lindstrand A, Davis EE, Carvalho CM, Pehlivan D, Willer JR, Tsai IC, et al. Recurrent CNVs and SNVs at the NPHP1 locus contribute pathogenic alleles to Bardet-Biedl syndrome. *Am J Hum Genet.* 2014;94(5):745-54.

196. Roosing S, Romani M, Isrie M, Rosti RO, Micalizzi A, Musaev D, et al. Mutations in CEP120 cause Joubert syndrome as well as complex ciliopathy phenotypes. *J Med Genet.* 2016;53(9):608-15.

197. Halbritter J, Porath JD, Diaz KA, Braun DA, Kohl S, Chaki M, et al. Identification of 99 novel mutations in a worldwide cohort of 1,056 patients with a nephronophthisis-related ciliopathy. *Hum Genet.* 2013;132(8):865-84.

198. Shaheen R, Fageih E, Alshammari MJ, Swaid A, Al-Gazali L, Mardawi E, et al. Genomic analysis of Meckel-Gruber syndrome in Arabs reveals marked genetic heterogeneity and novel candidate genes. *Eur J Hum Genet.* 2013;21(7):762-8.

199. Schmidts M. Clinical genetics and pathobiology of ciliary chondrodysplasias. *J Pediatr Genet.* 2014;3(2):46-94.

200. Schueler M, Halbritter J, Phelps IG, Braun DA, Otto EA, Porath JD, et al. Large-scale targeted sequencing comparison highlights extreme genetic heterogeneity in nephronophthisis-related ciliopathies. *J Med Genet.* 2016;53(3):208-14.

201. Redin C, Le Gras S, Mhamdi O, Geoffroy V, Stoetzel C, Vincent MC, et al. Targeted high-throughput sequencing for diagnosis of genetically heterogeneous diseases: efficient mutation detection in Bardet-Biedl and Alstrom syndromes. *J Med Genet.* 2012;49(8):502-12.

202. Al-Hamed MH, Kurdi W, Khan R, Tulbah M, AlNemer M, AlSahan N, et al. Prenatal exome sequencing and chromosomal microarray analysis in fetal structural anomalies in a highly consanguineous population reveals a propensity of ciliopathy genes causing multisystem phenotypes. *Hum Genet.* 2022;141(1):101-26.

203. Shamseldin HE, Al Mogarri I, Alqwaiee MM, Alharbi AS, Baqais K, AlSaadi M, et al. An exome-first approach to aid in the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Hum Genet.* 2020;139(10):1273-83.

204. Koc İ. Determining the changes in the prevalence of consanguineous marriages and resistant groups in Turkey: Analyses by marriage cohorts from the 2018 Turkish Demographic and Health Survey. *Turk J Public Health.* 2022;20(3):423-38.

205. Stoetzel C, Laurier V, Davis EE, Muller J, Rix S, Badano JL, et al. BBS10 encodes a vertebrate-specific chaperonin-like protein and is a major BBS locus. *Nat Genet.* 2006;38(5):521-4.

206. Putoux A, Mougou-Zerelli S, Thomas S, Elkhartoufi N, Audollent S, Le Merrer M, et al. BBS10 mutations are common in 'Meckel'-type cystic kidneys. *J Med Genet.* 2010;47(12):848-52.
207. Goecke T, Dopfer R, Huenges R, Conzelmann W, Feller A, Majewski F. Hydrometrocolpos, postaxial polydactyly, congenital heart disease, and anomalies of the gastrointestinal and genitourinary tracts: a rare autosomal recessive syndrome. *Eur J Pediatr.* 1981;136(3):297-305.
208. Slavotinek AM, Biesecker LG. Phenotypic overlap of McKusick-Kaufman syndrome with bardet-biedl syndrome: a literature review. *Am J Med Genet.* 2000;95(3):208-15.
209. Stoler JM, Herrin JT, Holmes LB. Genital abnormalities in females with Bardet-Biedl syndrome. *Am J Med Genet.* 1995;55(3):276-8.
210. Digilio MC, Calcagni G, De Luca A, Guida V, Marino B. Atrioventricular canal defect as partial expression of heterotaxia in patients with Bardet-Biedl syndrome. *J Pediatr.* 2020;218:263-4.
211. Moore ER. Primary Cilia: The New Face of Craniofacial Research. *Biomolecules.* 2022;12(12).
212. Zhang Q, Seo S, Bugge K, Stone EM, Sheffield VC. BBS proteins interact genetically with the IFT pathway to influence SHH-related phenotypes. *Hum Mol Genet.* 2012;21(9):1945-53.
213. Yang HC, Pardee AB. Cell cycle and growth factor-dependent phosphoprotein of 78kD differently regulated in normal and transformed mouse fibroblasts. *J Cell Physiol.* 1987;133(2):377-82.
214. Valente EM, Silhavy JL, Brancati F, Barrano G, Krishnaswami SR, Castori M, et al. Mutations in CEP290, which encodes a centrosomal protein, cause pleiotropic forms of Joubert syndrome. *Nat Genet.* 2006;38(6):623-5.
215. Noor A, Windpassinger C, Patel M, Stachowiak B, Mikhailov A, Azam M, et al. CC2D2A, encoding a coiled-coil and C2 domain protein, causes autosomal-recessive mental retardation with retinitis pigmentosa. *Am J Hum Genet.* 2008;82(4):1011-8.
216. Verloes A, Lambotte C. Further delineation of a syndrome of cerebellar vermis hypo/aplasia, oligophrenia, congenital ataxia, coloboma, and hepatic fibrosis. *Am J Med Genet.* 1989;32(2):227-32.
217. Gorden NT, Arts HH, Parisi MA, Coene KL, Letteboer SJ, van Beersum SE, et al. CC2D2A is mutated in Joubert syndrome and interacts with the ciliopathy-associated basal body protein CEP290. *Am J Hum Genet.* 2008;83(5):559-71.
218. Shaheen R, Alsahli S, Ewida N, Alzahrani F, Shamseldin HE, Patel N, et al. Biallelic Mutations in Tetratricopeptide Repeat Domain 26 (Intraflagellar Transport 56) Cause Severe Biliary Ciliopathy in Humans. *Hepatology.* 2020;71(6):2067-79.
219. David O, Eskin-Schwartz M, Ling G, Dolgin V, Kristal E, Benkowitz E, et al. Pituitary stalk interruption syndrome broadens the clinical spectrum of the TTC26 ciliopathy. *Clin Genet.* 2020;98(3):303-7.

220. Shashi V, McConkie-Rosell A, Rosell B, Schoch K, Vellore K, McDonald M, et al. The utility of the traditional medical genetics diagnostic evaluation in the context of next-generation sequencing for undiagnosed genetic disorders. *Genet Med*. 2014;16(2):176-82.
221. Meng L, Pammi M, Saronwala A, Magoulas P, Ghazi AR, Vetrini F, et al. Use of Exome Sequencing for Infants in Intensive Care Units: Ascertainment of Severe Single-Gene Disorders and Effect on Medical Management. *JAMA Pediatr*. 2017;171(12):e173438.
222. Yang Y, Muzny DM, Xia F, Niu Z, Person R, Ding Y, et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. *JAMA*. 2014;312(18):1870-9.
223. Splinter K, Adams DR, Bacino CA, Bellen HJ, Bernstein JA, Cheattle-Jarvela AM, et al. Effect of Genetic Diagnosis on Patients with Previously Undiagnosed Disease. *N Engl J Med*. 2018;379(22):2131-9.
224. Petrenko VM, Korzhov VI, Gaiovich AI, Sokirko TA, Mukhin AA. [The use of microwave therapy in combined treatment of patients with pulmonary tuberculosis and chronic bronchitis]. *Probl Tuberk*. 1991(2):46-8.
225. Jacinto JGP, Markey AD, Veiga IMB, Paris JM, Welle M, Beever JE, et al. A KRT71 Loss-of-Function Variant Results in Inner Root Sheath Dysplasia and Recessive Congenital Hypotrichosis of Hereford Cattle. *Genes (Basel)*. 2021;12(7).
226. Rosina E, Pezzani L, Pezzoli L, Marchetti D, Bellini M, Pilotta A, et al. Atypical, Composite, or Blended Phenotypes: How Different Molecular Mechanisms Could Associate in Double-Diagnosed Patients. *Genes (Basel)*. 2022;13(7).
227. Smith ED, Blanco K, Sajan SA, Hunter JM, Shinde DN, Wayburn B, et al. A retrospective review of multiple findings in diagnostic exome sequencing: half are distinct and half are overlapping diagnoses. *Genet Med*. 2019;21(10):2199-207.
228. Wojcik MH, Reuter CM, Marwaha S, Mahmoud M, Duyzend MH, Barseghyan H, et al. Beyond the exome: What's next in diagnostic testing for Mendelian conditions. *Am J Hum Genet*. 2023;110(8):1229-48.
229. Bertoli-Avella AM, Beetz C, Ameziane N, Rocha ME, Guatibonza P, Pereira C, et al. Successful application of genome sequencing in a diagnostic setting: 1007 index cases from a clinically heterogeneous cohort. *Eur J Hum Genet*. 2021;29(1):141-53.

8. EKLER

Ek-1. Tez ile İlişkili Etik Kurul İzinleri



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557-2122
Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 27 KASIM 2018 SALI
Toplantı No : 2018/28
Proje No : GO 18/623 (Değerlendirme Tarihi: 06.07.2018)
Karar No : GO 18/623-02

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Gülen Eda UTİNE'nin sorumlu araştırmacı olduğu, Doç. Dr. Pelin Özlem Şimşek KİPER, Dr. Öğr. Üyesi Z. Ekim TAŞKIRAN ile birlikte çalışacakları ve Dr. Özlem Akgün DOĞAN'nın doktora tezi olan, GO 18/623 kayıt numaralı, "*Sınıflandırmayan Siliyopatilerden Etkilenmiş Hastalarda Tüm Ekzom Dizileme Yöntemiyle Moleküler Etiyolojinin Belirlenmesi*" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 01 Aralık 2018 – 01 Kasım 2020 tarihleri arasında geçerli olmak üzere etik açıdan uygun bulunmuştur.

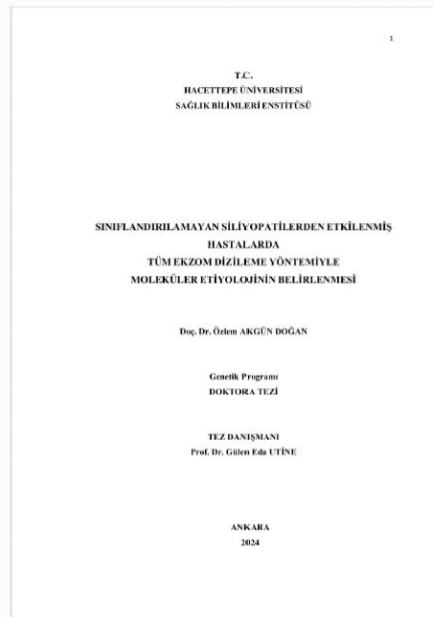
1. Prof. Dr. Nurten AKAR	(Üye)	10 Doç. Dr. Gözde GİRGE	(Üye)
2. Prof. Dr. Sevda F. MÜF	(Üye)	11 Doç. Dr. Fatma Visal C	(Üye)
3. Prof. Dr. M. Yıldırım S	(Üye)	12. Doç. Dr. Can Ebru KU	(Üye)
4. Prof. Dr. N	(Üye)	13. Doç. Dr. H. Hüseyin TU	(Üye)
İZİNLİ			
5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU	(Üye)	14. Dr. Öğr. Üyesi Özay GÖK	
İZİNLİ			
6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜ	(Üye)	15. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEM	
7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞ	(Üye)	16. Öğr. Gör. Dr. Meltem ŞE	
İZİNLİ			
8. Prof. Dr. Mintaze Kerem C	(Üye)	17. Av. Meltem ONURLU	
9. Prof. Dr. Oya Nuran EMİ	(Üye)		

Ek-2. Dijital Makbuz**Digital Receipt**

This receipt acknowledges that Turnitin received your paper. Below you will find the receipt information regarding your submission.

The first page of your submissions is displayed below.

Submission author: ozlem akgun-dogan
Assignment title: Özlem Akgün Doğan, Sınıflandırılmayan Siliyopatilerden Etk...
Submission title: Özlem Akgün Doğan, Sınıflandırılmayan Siliyopatilerden Etk...
File name: m_Dizileme_Yo_ntemiyle_Moleku_ler_Etiyolojinin_Belirlenmes...
File size: 2.04M
Page count: 83
Word count: 21,285
Character count: 143,337
Submission date: 10-Feb-2024 01:25PM (UTC+0300)
Submission ID: 2291158988



Ek-3. Tez Çalışması Orijinallik Raporu

Özlem Akgün Doğan, Sınıflandırılmayan Siliyopatilerden Etkilenmiş Hastalarda Tüm Ekzom Dizileme Yöntemiyle Moleküler Etiyolojinin Belirlenmesi, 83 Sayfa

ORJİNALLİK RAPORU

% 4	% 4	% 2	% 1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 2
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
3	Submitted to University of Exeter Öğrenci Ödevi	<% 1
4	tel.archives-ouvertes.fr İnternet Kaynağı	<% 1
5	journals.plos.org İnternet Kaynağı	<% 1
6	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	<% 1
7	openaccess.hacettepe.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	"Cystogenesis", Springer Science and Business Media LLC, 2016 Yayın	<% 1

Ek-4. Çalışmada Kullanılan Onam Formları

AİLE BİREYLERİ İÇİN AYDINLATILMIŞ ONAM

Sayın.....

Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı “Sınıflandırılmayan Siliyopatilerden Etkilenmiş Hastalarda Tüm Ekzom Dizileme Yöntemiyle Moleküler Etiyolojinin Belirlenmesi” isimli bir araştırma yapmaktadır. Çocuğunuzun hastalığı olan siliyopati başta merkezi sinir istemi, solunum sistemi, iskelet, böbrek ve göz gibi pek çok sistem ve organı aynı anda etkileyen bir grup hastalık olarak tanımlanır. Bu hastalığın oluşmasında birden fazla gendeki mutasyonun etkili olduğu düşünülmektedir. Amacımız, siliyopati grubu hastalıklardan sorumlu gen veya genlerin bulunması ve ileride daha etkin tedavi yöntemlerinin gelişmesine katkıda bulunabilmektir. Bu çalışmada kapsamında çocuğunuzun genetik taraması yapılacaktır. Bu tip bir çalışma için az miktarda kan örneği yeterli olmaktadır. Etkin bir araştırma için çocuğunuzun yanı sıra ana-babalarından ve diğer aile üyelerinden de örnek olmak gerekli olabilir. Çocuğunuzda/ailenizde böyle bir durum (siliyopati) bulunması nedeni ile eğer kabul ederseniz sizi de araştırmaya katmak istiyoruz.

Bu araştırmanın sonuçları yalnızca bilimsel amaçlarla kullanılacak ve kimliğiniz her zaman gizli tutulacaktır. Bu araştırmaya katılmanızdan dolayı sizden herhangi bir para talep edilmeyecektir. Aynı şekilde size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Toplanan kanlar öncelikle yurt içi, çok gerekli olduğu zaman yurtdışında bir laboratuvarında tetkik edilecektir.

Araştırmaya katılmak isterseniz Prof. Dr. Eda Utine veya onun görevlendirdiği hekimler tarafından muayene edilecek, ve aile ağacı bilgileriniz çıkarılacaktır. Genetik analiz için kolunuzdan 1 tüp (10ml) kan alınacaktır. Kan alınırken iğne batması nedeniyle hafif bir acı duyabilirsiniz. Çok düşük bir ihtimal olsa da kan alınırken kanamanın uzaması ya da enfeksiyon gelişmesi riskleri olabilir.

Bazen ikinci bir tüp kan daha almak gerekli olabilir. Toplanan kanda yeterli genetik materyal elde edilemediği durumda ya da farklı bir metotla çalışılması gerektiğinde toplanan kandan hücre çoğaltılması yoluna gidilebilir. Bu işlem “hücre kültürü” olarak adlandırılır ve bu yolla hücreler ölümsüz olarak çoğaltılabilir. Çoğaltılan hücreler size geri verilmeyecek veya sizde herhangi bir değişikliğe yol açmayacaktır.

Kişiye ait genetik bilgiler maddi ve sosyal açıdan istismar edilebilecek bilgilerdir. Örneğin genetik testte biyolojik anne ve babayı belirlemek mümkündür. O nedenle, araştırma sonuçlarının yalnızca bilimsel amaçlarla ve kimliğinizi gizli tutarak kullanılacağını tekrar vurgulamak istiyoruz. Araştırma sonucunda kendinizde bu hastalık görülme bile hastalığa yol açabilecek genleri taşıdığınız ve çocuğunuza kalıtmış olduğunuz ortaya çıkabilir. Bu bilgileri herhangi bir ücret talep etmeden size bildirebiliriz. Bilgi edinmek istemiyor iseniz lütfen yazılı formun altında belirtiniz.

Bu çalışmada örneğinde genom boyu kopya sayısı değişimleri ve ekzom kapsamındaki bilgilerinin elde edileceği geniş ölçekli analizler yapılacaktır. Bu analiz sonucunda çocuğunuz/ailenizdeki bu hastalık dışında başka hastalıklar için taşıyıcı olduğunuz ya da ileride bu tarz hastalıkları geliştirebileceğiniz bilgisi edinilebilir. Buna ek olarak bazı hastalıklara yatkınlık yaratan genetik değişiklikleri de taşıdığınız saptanabilir. Bu bilgilerin büyük bir kısmı henüz klinik önemi ispatlanmamış araştırma düzeyinde olan bilgilerdir. Bu nedenle çalışmada siliyopati grubu hastalık oluşumunda klinik önemi olduğu kesinlik kazanmış olan bilgileri herhangi bir ücret talep etmeksizin size iletebiliriz. Diğer bilgiler ise sizin kimlik bilgileriniz ile ilişkilendirilmeden veri bankalarına eklenerek araştırmacıların kullanımına açılabilir.

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin izninize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar saklanabilir ve başka genetik araştırmalarda örneğin kontrol örneği olarak kullanılabilir. Lütfen yazılı formun altındaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyerek bu konudaki görüşünüzü belirtiniz.

Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir. Sizinle ilgili tıbbi bilgiler kimlik belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçlar dışında kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Araştırmaya katılmak zorunda olmadığınız gibi araştırmaya katılmayı kabul ettiğinizde, istediğiniz anda ayrılma hakkına da sahipsiniz. Ancak bu kararınızı bize önceden bildirirseniz araştırmanın bozulmasına meydan vermemiş olursunuz. Katılmak istemediğinizde şu anda sürdürülen tedavi işlemleri bundan etkilenmeyecektir.

Katılımcının Beyanı

Prof. Dr. Eda Utine veya onun görevlendirdiği hekimler tarafından siliyopati grubu sendromlar ile ilgili genetik araştırma hakkında bana bilgi verildi. Araştırmanın amacı, uygulama biçimi ile riskleri ve tıbbi bilgilerimle ilgili gizliliğin sağlanacağı konusunda yeterli açıklama yapıldı. Araştırma ile ilgili sorularım için Prof. Dr. Eda Utine (0312 305 1173, 0532 514 89 24) ile temas edebileceğim bana bildirildi. İstediğim zaman araştırmadan çekilebileceğimi biliyorum. Araştırmaya katılımımın tamamen gönüllü olduğu, katılmam ya da katılıp daha sonra araştırmadan çekildiğim durumda tedavi ve tetkiklerimin bundan etkilenmeyeceği belirtildi. Bu araştırmaya kendi gönüllü onayım ile kendimin katılmasına olurum vardır.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza:

Madde I.

Madde II. KATILIMCI İLE GÖRÜŞEN HEKİM

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel.

İmza

Görüşme tarih ve saati: :

Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri,

Öğrenmek istiyorum ()

Öğrenmek istemiyorum ()

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin* yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin gelecekte her türlü genetik çalışmada (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

***Kodlanmış örnek:** Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN ÇOCUK RIZA FORMU

Sevgili Kardeşim,

Benim adım Prof. Dr. Eda Utine. Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı olarak “Sınıflandırılmayan Siliyopatilerden Etkilenmiş Hastalarda Tüm Ekzom Dizileme Yöntemiyle Moleküler Etiyolojinin Belirlenmesi” isimli bir araştırma planladık. Bu çalışma ile sende görülen hastalığa neden olan genetik faktörleri araştırmayı hedefledik. Amacımız bu grup hastalığa doğru tanı koymak ve ileride daha etkin tedavi yöntemlerinin gelişmesine katkıda bulunabilmektir. Araştırma ile yeni bilgiler öğreneceğiz. Bu araştırmaya katılmanı öneriyoruz.

Araştırmayı ben Prof. Dr. Eda Utine ve başka bazı doktorlar birlikte yapıyoruz. Bu araştırmaya katılacak olursan senden kan alacağız. Kan alınırken canın biraz acıyabilir ama çabuk geçecektir.

Bu araştırmanın sonuçları senin gibi bulguları olan çocuklar için yararlı bilgiler sağlayacaktır. Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz, sonuçları bildireceğiz ama senin adını söylemeyeceğiz.

Bu araştırmaya katılıp katılmamak için karar vermeden önce anne ve baban ile konuşup onlara danışmalısın. Onlara da bu araştırmadan bahsedip onaylarını/izinlerini alacağız. Anne ve baban tamam deseler bile sen kabul etmeyebilirsin. Bu araştırmaya katılmak senin isteğine bağlı ve istemezsen katılmazsın. Bu nedenle hiç kimse sana kızmaz ya da küsmez. Önce katılmayı kabul etsen bile sonradan vazgeçebilirsin, bu tamamen sana bağlı. Kabul etmediğin durumda da doktorlar muayene ve diğer işlemlerde sana önceden olduğu gibi iyi davranır, önceye göre farklılık olmaz.

Aklına şimdi gelen veya daha sonra gelecek olan araştırma ve hastalığın ile ilgili soruları bana (Prof. Dr. Eda Utine Tel: 0312 305 1173, 0532 514 89 24 sorabilirsin. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorsan aşağıya lütfen adını ve soyadını yaz ve imzanı at. İmzaladıktan sonra sana ve ailene bu formun bir kopyası verilecektir.

Çocuğun adı, soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı, soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırmacının adı, soyadı, ünvanı:

Adres :

Tel:

İmza:

Tarih:

Ek-5. Hasta Değerlendirme Formu**HASTA DEğERLENDİRME FORMU**

Cinsiyet:

Yaş:

Vücut ağırlığı:

Boy:

Baş çevresi:

Soy geęmiş:

Özgeęmiş:

Fizik muayenene bulguları:

9. ÖZGEÇMİŞ