T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

KALITSAL KARACİĞER HASTALIKLARINA SEBEP OLAN GEN MUTASYONLARININ TÜM EKZOM SEKANSLAMA YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

DR. SERAY BOZKURT

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2023

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

KALITSAL KARACİĞER HASTALIKLARINA SEBEP OLAN GEN MUTASYONLARININ TÜM EKZOM SEKANSLAMA YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

DR. SERAY BOZKURT

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. AHMET OKAY ÇAĞLAYAN

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje Numarası: TTU-2022-2824

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ ..... **V**

ŞEKİL LİSTESİ ..... **Vİİ**

KISALTMALAR ..... **Vİİİ**

TEŞEKKÜR ..... **Xİ**

ÖZET ..... **Xİİ**

SUMMARY ..... **XİV**

1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**

2. GENEL BİLGİLER **4**

2.1 Karaciğer Anatomisi ve Fonksiyonu 4

2.2 Karaciğer Hastalıkları 5

2.2.1 Etiyoloji 7

2.2.1.1 Alkolik Karaciğer Hastalığı 7

2.2.1.2 Enfeksiyonlar: 8

2.2.1.3 Otoimmün Hepatit 8

2.2.1.4 Herediter Nedenler 9

2.2.1.4.1 Alfa-1 Antitripsin Eksikliği 9

2.2.1.4.2 Wilson Hastalığı 10

2.2.1.4.2 Hemokromatozis 11

2.2.1.4.3 Fruktoz- Galaktoz Metabolizması Hastalıkları 12

2.2.1.4.4 Aminoasit Metabolizması Bozuklukları 13

2.2.1.4.5 Glikojen Depo Hastalıkları 13

2.2.1.4.6 Lipit Metabolizmasının Bozuklukları 13

2.2.1.4.7 Safra Asit Metabolizmasının Sentez Bozukluğu 13

2.2.1.4.8 Kistik Fibrozis 13

2.2.1.4.9 Mitokondriyal Hastalıklar 13

2.2.1.5 Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH) 13

2.2.1.6 Toksik Faktörler 15

2.2.1.7 Primer Biliyer Kolanjit (PBK), Primer Sklerozan Kolanjit (PSK) 15

2.2.1.8 Sistemik Hastalıklar 16

2.2.1.9 Malign Hastalıklar 16

2.2.2 Semptom ve Bulgular 16

2.2.2.1 Klinik ve Muayene 16

2.2.2.2 Laboratuvar 18

2.2.2.3 Görüntüleme 23

2.2.2.4 Histopatoloji 25

2.3 İdiopatik Karaciğer Hastalıkları 28

2.4 İdiopatik Karaciğer Hastalıklarına Sebep Olan Diğer Genetik Hastalıklar 32
2.4.1 Klasik Galaktozemi 32
2.4.2 Herediter Fruktoz İntoleransı (HFI) 33
2.4.3 Fruktoz 1, 6 Bifosfataz Eksikliği 33
2.4.4 Galaktoz Epimeraz Eksikliği 34
2.4.5 Kistik Fibrozis 34
2.4.6 Gaucher Hastalığı 35
2.4.7 Tirozinemi Tip 1 36
2.5 Tüm Ekzom Dizileme (TED) 37
2.6 İdiopatik Karaciğer Hastalıklarında Tüm Ekzom Dizileme ile Tanı 39

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER 44
3.1 Örneklem Seçimi 44
3.2 Örneklem Olgularının Değerlendirilmesi ve Verilerin Toplanması 45
3.3 Periferik Kandan Genomik DNA İzolasyonu 46
3.4 Spektrofotometre ile DNA Konsantrasyon ve Saflığının Belirlenmesi 47
3.5 Tüm Ekzom Dizileme (TED) 47
3.5.1 Tüm Ekzom Dizileme Islak Laboratuvar Aşamaları 49
3.5.2 Tüm Ekzom Dizileme Biyoinformatik Analizi 51
3.5.3 Tüm Ekzom Dizileme Verilerinin Klinik Analizi 52

4. BULGULAR 59
4.1 Tüm Ekzom Dizileme Bulguları 59
4.2 Olguların Klinik Özellikleri ve Ekzom Dizileme Sonuçları 62
4.2.1. Olgu I'e Ait Klinik Bulgular: 62
4.2.2. Olgu II'ye Ait Klinik Bulgular: 63
4.2.3. Olgu III'e Ait Klinik Bulgular: 65
4.2.4. Olgu IV'e Ait Klinik Bulgular: 66
4.2.5. Olgu V'e Ait Klinik Bulgular: 67
4.2.6. Olgu VI'ya Ait Klinik Bulgular: 68
4.2.7. Olgu VII'ye Ait Klinik Bulgular: 69
4.2.8. Olgu VIII'e Ait Klinik Bulgular: 71
4.2.9. Olgu IX'a Ait Klinik Bulgular: 71
4.2.10. Olgu X'a Ait Klinik Bulgular: 73
4.2.11. Olgu XI'e Ait Klinik Bulgular: 74
4.2.12. Olgu XII'ye Ait Klinik Bulgular: 75

5. TARTIŞMA 109

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 123

7. KAYNAKLAR 125

8. EKLER 140
EK 1. Etik Kurul Onayı 140
EK 2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu 142
EK 3. Veri Kayıt Formu 147

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Kronik karaciğer hastalığı tanısında özet tablo

Tablo 2. Kronik karaciğer hastalığı etiyolojisi

Tablo 3. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı nedenleri

Tablo 4. Aminotransferaz yüksekliğine yol açan karaciğer dışı hastalıklar

Tablo 5. Hipertransaminazemi tanısında kullanılan tetkikler

Tablo 6. Sirozun etiyolojik sınıflandırması

Tablo 7. Child-Pugh sınıflandırması

Tablo 8. Tüm ekzom dizileme için kullanılan materyaller

Tablo 9. Tüm ekzom dizileme için kullanılan ekipman

Tablo 10. Herediter karaciğer hastalıkları ile ilişkilendirilmiş genler

Tablo 11. TED kalite parametreleri

Tablo 12. KED kalite parametreleri

Tablo 13. Olgu I'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 14. Olgu II'ye ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 15. Olgu III'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 16. Olgu IV'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 17. Olgu V'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 18. Olgu VI'ya ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 19. Olgu VII'ye ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 20. Olgu VIII'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 21. Olgu IX'a ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 22. Olgu X'a ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 23. Olgu XI'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 24. Olgu XII'ye ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Tablo 25. Olgu I'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 26. Olgu II'ye ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 27. Olgu III'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 28. Olgu IV'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 29. Olgu V'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 30. Olgu VI'ya ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 31. Olgu VII'ye ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 32. Olgu VIII'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 33. Olgu IX'a ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 34. Olgu X'a ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 35. Olgu XI'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

Tablo 36. Olgu XII'ye ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Tüm ekzom dizileme ikinci basamak veri analizinde izlenilen strateji

Şekil 2. Çalışmaya katılan indeks vakaları ve akrabalarını gösteren pedigriler

Şekil 3. Tüm ekzom dizileme ve klinik ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji

KISALTMALAR

µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
AAT	Alfa-1 Antitripsin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACMG	Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Birliği - (‘American College of Medical Genetics and Genomics’)
ALP	Alkalen Fosfataz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AMA	Antimitokondriyal Antikor
ANA	Anti Nükleer Antikor
ASMA	Anti Düz Kas Antikoru
AST	Aspartat Aminotransferaz
bç	Baz Çifti
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CK	Kreatin Kinaz
cm	Santimetre
CMV	Sitomegalovirüs
CVID	Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik
dbNSFP	‘Single Nucleotide Polymorphism Database’
DEÜTF	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
dk	Dakika
dL	Desilitre
DM	Diyabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
FHCA2	Ailesel hiperkolanemi-2 - (‘Hypercholanemia, familial 2)
FISH	Floresan İn Situ Hibridizasyon
GGT	Gama Glutamil Transpeptidaz

HAV	Hepatit A Virüsü
HBV	Hepatit B Virüsü
HCV	Hepatit C Virüsü
HDV	Hepatit D Virüsü
HEV	Hepatit E Virüsü
HFI	Herediter Fruktoz İntoleransı
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü - (‘Human Immmunodeficiency Virus’)
hg19	‘Human Genome 19’
HIDS	Hiper IgD Sendromu
INR	‘International Normalized Ratio’
IU	‘International Unit’
KCFT	Karaciğer Fonksiyon Testi
KED	Klinik Ekzom Dizileme
kg	Kilogram
L	Litre
LKM-1	Anti-Karaciğer Böbrek Mikrozomal Tip 1 Antikor - (‘Liver Kidney Microsomal Antibody Type 1’)
MAF	Minör Allel Frekansı
mg	Miligram
mm	Milimetre
MRCP	Manyetik Rezonans Kolanjiopankreatografi - (‘Magnetic Resonance Cholangiopancreatography’)
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme - (‘Magnetic Resonance Imaging’)
N	Normal
ng	Nanogram
NASH	Non-Alkolik Steatohepatit
NAYKH	Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı

NGS	Yeni Nesil Dizileme - (‘Next Generation Sequencing’)
NTCP	‘Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide’
OMIM	‘Online Mendelian Inheritance in Men’
PBS	Primer Biliyer Siroz
PBK	Primer Biliyer Kolanjit
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu - (‘Polymerase Chain Reaction’)
PSK	Primer Sklerozan Kolanjit
PT	Protrombin Zamanı
PTT	Parsiyel Tromboplastin Zamanı
REVEL	‘Rare Exome Variant Ensemble Learner’
RNA	Ribonükleik Asit
sn	Saniye
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi - (‘Single Nucleotide Polymorphism’)
TED	Tüm Ekzom Dizileme - (‘Whole Exome Sequencing’)
TGD	Tüm Genom Dizileme - (‘Whole Genome Sequencing’)
Ti/Tv	Transisyon/Transversiyon
USG	Ultrasonografi
VUS	Klinik Önemi Belirsiz Varyant - (‘Variant of Uncertain Significance’)

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanmasından itibaren her aşamasında büyük katkısı olan, bu süreçte deneyimleriyle, yardım ve önerileriyle bana yol gösteren, desteğini ve güvenini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ahmet Okay Çağlayan'a,

Bu projenin gerçekleşmesini sağlayan Tıbbi Genetik Anabilim Dalı başkanı sayın Prof. Dr. Ayfer Ülgenalp'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca tecrübeleri ve destekleriyle yetişmeme katkıda bulunan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Murat Derya Erçal'a, Prof. Dr. Özlem Giray Bozkaya'ya, Doç. Dr. Elçin Bora'ya, Doç. Dr. Tufan Çankaya'ya, Doç. Dr. Semra Gürsoy'a, Doç. Dr. Altuğ Koç'a,

Tez konumun ve tez hastalarımın belirlenmesinde büyük katkısı olan, her konuda desteklerini esirgemeyen DEÜTF Çocuk Metabolizma Hastalıkları ve Beslenme Bilim Dalı'ndan sayın Prof. Dr. Nur Arslan, Uzm. Dr. Özge Kamer Karalar Pekuz ve tüm Çocuk Metabolizma Hastalıkları ve Beslenme Bilim Dalı uzmanlarına,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Çocuk Genetik Bilim Dalında bulunan sevgili hekim arkadaşlarıma,

Tecrübeleriyle eğitimime katkıda bulunan Tıbbi Genetik Anabilim Dalı çalışanı arkadaşlarıma,

Son olarak eğitimimde sonsuz katkıları olan, sevgileri ve anlayışlarıyla hayatımın her anında yanımda olan, bugünlere gelmemde çok büyük fedakârlıklarda bulunan en büyük destekçilerim canım annem, babam ve ağabeyime,

Çok teşekkür ederim.

Seray Bozkurt

ÖZET

KALITSAL KARACİĞER HASTALIKLARINA SEBEP OLAN GEN MUTASYONLARININ TÜM EKZOM SEKANSLAMA YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Dr. Seray BOZKURT

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İZMİR

Kronik karaciğer hastalığı, karaciğer fonksiyonlarının ilerleyici bir şekilde bozulması ile ortaya çıkan önemli bir sağlık sorunudur. Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 40.000'den fazla ölüme yol açan ve nüfusun %1,8'ini etkileyen kronik karaciğer hastalığı, en sık ölüm nedenleri arasında 11. sırada yer almaktadır. Günümüzde önemli sayıda kronik karaciğer hastalığına sahip hastada, yapılan klinik araştırmalar ve hedefli gen panelleri sonucu hastalığın moleküler patogenezi ve etiyolojisi açıklanamamakta ve hastalar idiyopatik karaciğer hastalığı olarak takip edilmektedir.

Bu çalışmada, rutin yöntemlerle tanısı konulamayan ve idiyopatik karaciğer hastalığı olarak takip edilen, aynı aileden olmayan 10 hasta tüm ekzom dizileme yöntemi ile değerlendirildi, 2 olgunun klinik ekzom dizileme sonuçları tekrar değerlendirildi. Yapılan çalışma ile idiyopatik karaciğer hastalığı olgularında tek gen hastalıklarının etiyolojide oynadığı rolün aydınlatılması ve aday genlerin tanımlanması amaçlandı.

Analiz sonucu tespit edilen varyantlar birinci basamakta protein üzerindeki etkileri ve minör allel frekansları dikkate alınarak filtrelendikten sonra güncel kılavuzlara göre sınıflandırıldı. Tanısal varyant tespit edilemeyen olgulardaki varyantlar, ikinci basamakta STRING, DAVID, VariEd veri tabanları ve in-silico patojenisite skorları kullanılarak aday gen ve yolakların tanımlanabilmesi için değerlendirildi.

Tüm ekzom dizileme sonucu her bir olguda saptanan ortalama 34.977 varyant, klinik ekzom dizileme sonucu ortalama 8.927 varyant analiz edildi. Birinci basamak analizi sonucunda, dört olguda muhtemel patojenik ve patojenik genetik varyantlar tespit

edildi. Bunlar *ABCB4* geninde homozigot c.181_182del, *ATP7B* geninde heterozigot c.3688A>G ve heterozigot c.2138A>G, *SLC10A1* geninde homozigot c.568-1G>A ve *FOCAD* geninde homozigot c.187C>T değişimleridir. Tanısal varyant tespit edilemeyen sekiz olguya yapılan 'in-silico' fonksiyonel analizlerle toplam 211 aday varyant belirlendi. Ek olarak dört olguda potansiyel klinik önemi olan değişimler saptandı. Bunlar *MYH9* geninde heterozigot c.2519_2536del, *GALK1* geninde homozigot c.552C>G, *SLC25A20* geninde heterozigot c.417+1G>A, *MVK* geninde heterozigot c.1129G>A değişimleridir.

Tanısal varyant tespit edilemeyen olgularda yapılan varyant yükü analizlerinde ortak hücresel yolak gözlemlenmedi. Olgular tek başlarına incelendiğinde tat iletimi ve koku iletimi yolaklarında anlamlı artmış varyant yükü saptandı.

Yapılan çalışma ile klinik araştırmalar ve hedefli gen panelleri sonucunda tanı konulamayan kalıtsal karaciğer hastalığı vakalarında tüm ekzom dizileme yönteminin faydalı olabileceği gösterilmiştir. Çalışmada dört olguda tanısal varyant tespit edilmiş, dört olguda kliniği açıklayabilecek potansiyel varyant saptanmıştır. Tanısal varyant tespit edilemeyen olgularda yapılan 'in-silico' analizler ile kalıtsal karaciğer hastalığı kliniği ile ilişkili aday genler ve varyantlar belirlenmiştir. Bu varyantların etkilerinin kesinleştirilebilmesi için aile taramasına, ileri moleküler incelemelere ve bulunan varyantların etkisini öngörebilmek açısından fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Kalıtsal karaciğer hastalığı etiyolojisi hakkındaki bilgilerin artması ile bu olgularda tanı, tedavi ve izlem için yeni algoritmalar geliştirilebilecektir.

Anahtar Kelimeler: idiyopatik karaciğer hastalığı, kalıtsal karaciğer hastalığı, tüm ekzom dizileme, *ABCB4*, *ATP7B*, *SLC10A1, FOCAD, MYH9*

SUMMARY

INVESTIGATION OF GENE MUTATIONS CAUSING HEREDITARY LIVER DISEASES BY WHOLE EXOME SEQUENCING METHOD

Seray BOZKURT, MD

Dokuz Eylul University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Izmir

Chronic liver disease is a major health concern that results from progressive liver function impairment. It affects 1.8% of the US population and is the 11th leading cause of death, resulting in over 40,000 deaths annually. Despite extensive clinical research and targeted gene panels, the molecular pathogenesis and etiology of chronic liver disease remain unexplained in a significant number of patients, who are diagnosed as idiopathic liver disease.

This study aimed to investigate the role of single-gene diseases in idiopathic liver disease and identify candidate genes. Whole exome sequencing was performed on 10 cases with idiopathic liver disease, and the clinical exome sequencing results of two patients were re-evaluated. Variants detected were filtered and classified according to current guidelines, and in cases where no diagnostic variant was found, variants were evaluated in the second step using STRING, DAVID, VariEd databases, and in-silico pathogenicity scores.

In total, 34,977 variants were detected per person in whole exome sequencing, and 8,927 variants in clinical exome sequencing were analyzed. Likely pathogenic and pathogenic genetic variants were identified in four cases. Homozygous c.181_182del in the *ABCB4* gene, heterozygous c.3688A>G and heterozygous c.2138A>G in the *ATP7B* gene, homozygous c.568-1G>A in the *SLC10A1* gene, and homozygous c.187C>T in the *FOCAD* gene were the changes identified. In eight cases where diagnostic variants could not be detected, 211 candidate variants were identified through in-silico functional analysis, and four cases were found to have a clinically significant potential variant. These changes were heterozygous c.2519_2536del in the *MYH9* gene, homozygous c.552C>G

in the *GALK1* gene, heterozygous c.417+1G>A in the *SLC25A20* gene, and heterozygous c.1129G>A in the *MVK* gene.

In cases where diagnostic variants could not be detected, no common cellular pathways were observed in variant burden analysis. However, individual case analysis showed a significant variant burden in taste and olfactory transmission pathways.

The study has demonstrated the potential usefulness of whole exome sequencing in cases of inherited liver disease where diagnosis is challenging.

The study has shown that whole exome sequencing may be useful in cases of inherited liver disease where diagnosis could not be established through clinical investigations and targeted gene panels. In the study, diagnostic variants were detected in four cases, and potential variants that could explain the clinical presentation were found in four other cases. In cases where diagnostic variants could not be identified, candidate genes and variants associated with inherited liver disease were identified through in-silico analyses. To confirm the effects of these variants, further molecular investigations, functional studies, and family screenings are required. As our understanding of the etiology of inherited liver diseases continues to improve, new algorithms for diagnosis, treatment, and monitoring of these cases could be developed.

Keywords: undiagnosed liver diseases, hereditary liver diseases, whole-exome sequencing, *ABCB4*, *ATP7B*, *SLC10A1, FOCAD, MYH9*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik karaciğer hastalığı, karaciğer fonksiyonlarının ilerleyici bir şekilde bozulması ile ortaya çıkan önemli bir sağlık sorunudur. Etiyolojisinde birçok farklı faktör rol almaktadır ve bu faktörlerin hedefi olan karaciğerde farklı hastalık türleri görülmektedir. Etiyoloji spektrumu, toksinler, uzun süreli yüksek doz alkol kullanımı, otoimmün hastalıklar, safra yolları lezyonları, enfeksiyon, genetik ve metabolik bozuklukları içerecek şekilde oldukça geniştir.[1] Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 40.000'den fazla ölüme yol açan ve nüfusun %1,8'ini (~4,5 milyon insan) etkileyen kronik karaciğer hastalığı, en sık ölüm nedenleri arasında 11. sırada yer almaktadır.[2,3,4] Bu nedenle, kronik karaciğer hastalığının tanısı, tedavisi ve yönetimi, sağlık profesyonelleri, araştırmacılar ve halk sağlığı yetkilileri için önemli bir sağlık yükü oluşturmaktadır.

Kronik karaciğer hastalığı, klinik belirtileri ve laboratuvar test sonuçları ile tanımlanabilmektedir. Karaciğer enzimlerinde yükselme, sarılık, halsizlik, kilo kaybı, karın ağrısı ve karaciğerde büyüme gibi belirtiler, kronik karaciğer hastalığının temel klinik özelliklerinden bazılarını oluşturmaktadır. Ayrıca tanı koyma aşamasında kan testleri, ultrasonografi, manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve karaciğer biyopsisi gibi testler de kullanılabilmektedir.

Literatür taraması yapıldığında siroz vakalarının %30'unun ve karaciğer nakli bekleyen yetişkinlerin %14'ünün idiyopatik karaciğer hastalığı tanısı ile takip edildiği görülmektedir.[5,6] Hastalığa sebep olan etiyolojinin aydınlatılması, tedavi, süreç yönetimi, ileri dönem komplikasyonları, hastalığın ilerleyiş hızı, transplantasyon planlanması, tedavide risk yönetimi ve yakın akrabaların hastalık riskinin hesaplanması gibi başlıkların doğru bir şekilde ele alınmasında büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle hızlı ve doğru etiyoloji tespiti hastanın kendisi, sağlık profesyonelleri ve halk sağlığı yetkilileri açısından önem arz etmektedir. Fakat etiyolojik nedenler çok geniş olduğu için kronik karaciğer hastalıklarının teşhisi aşamasında genetik nedenlerin araştırılması geri planda kalabilmektedir. Genetik nedenlerin birçok fenotipik bulguyu bir arada barındırabilmesi de yine genetik etiyolojilerde teşhis zorluğunu arttırmaktadır. Oysa ki genomik

teknolojilerdeki gelişmeler 1990'lardan itibaren, Mendel kalıtımlı karaciğer hastalıklarından sorumlu genlerin tanımlanmasını sağlamış, son yıllarda genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, çevresel faktörlerin de önemli rol oynadığı multifaktöriyel karaciğer hastalıklarında genetik yatkınlığın incelenmesine olanak sağlamıştır.[7]

Son yıllarda kullanımı giderek artan yeni nesil dizileme yöntemlerinin, özellikle tek gen hastalıkları başta olmak üzere hasta yönetiminde klinik yaklaşımı giderek değiştirdiği gözlemlenmektedir.[8] Tüm ekzom dizileme (TED) yönteminin araştırmalarda kullanıldığı ve ilk yayınların 2009 yılında başladığı dönem insan genetiğinde dönüm noktası olmuştur.[9,10] O zamandan beri TED ve tüm genom dizileme (TGD) sıklıkla pediatrik ve yetişkin popülasyonlarda tanı amaçlı kullanılmaktadır. Bu yöntemler sayesinde birçok hastalıkla ilişkili yeni genler tespit edilebilmekte ve geçmişte tanı konulamayan birçok hastalığın tanısı konulabilmektedir.

İdiopatik kronik karaciğer hastalığı grubunun altında genetik sebeplerin olabileceği aşikardır ancak hedefli gen panelleriyle bu grupta tanı konulma oranı düşük olabilmektedir. Tüm ekzom dizileme yönteminin bu gibi heterojen hastalıklarda tanımlanamayan birçok Mendeliyen özelliğin aydınlatılabilmesinde faydalı olabileceği düşünülmektedir. Ancak idiyopatik karaciğer hastalığı genetik araştırmalarda yeterince yer almamıştır ve literatür tarandığında idiyopatik karaciğer hastalığının etiyolojisinin aydınlatılmasına yönelik TED çalışmaları yetersiz görünmektedir. Karaciğer hastalığı etiyolojisinde yer alan sebepler araştırılırken hastalar aylarca yıllarca takip edilmekte, birçok tanı testine tabi tutulmaktadır. Buna rağmen genetik nedenler göz ardı edildiği ve yeterince araştırılmadığı için tanı konulamayabilmektedir. Bu durum, tanı konulduğunda progresyonu yavaşlatabilecek, semptomları hafifletebilecek tedavilerin uygulanabilmesinin önüne geçmektedir. Daha önce yapılan bir çalışmada idiyopatik karaciğer hastalığına sahip olgularda TED yöntemiyle tanı konma oranı %25 olarak bildirilmiştir.[11] Bu yöntem ile derin intronik bölgeler gibi kapsanmayan bölgeler olması, üçlü tekrar bölgeleri, delesyon/duplikasyonlar, digenik/oligogenik kalıtım, epigenetik değişikler, yapısal mutasyonlar gibi durumlar tespit edilemediği halde oranın bu kadar

yüksek olması idiyopatik olarak adlandırılan karaciğer hastalıklarının büyük kısmının genetik olabileceğini düşündürmektedir.

Araştırmaya dahil edilme kriterlerine uyan, kriptojenik siroz, sebebi bilinmeyen hepatosteatoz, açıklanamayan karaciğer fonksiyon testi (KCFT) yüksekliği, hepatomegali bulgularından en az birine sahip, sık görülen karaciğer hastalıklarının (Hemokromatozis, Wilson hastalığı, otoimmün hastalıklar, alfa 1 antitripsin eksikliği, viral hepatitler) klinik olarak ekarte edildiği, şüpheli ve uygun olan durumlarda genetik olarak da test edildiği, sorumlu klinisyen tarafından değerlendirilmesinde karaciğer hasarına neden olan aktif toksik ilaç kullanım öyküsü olmayan, metabolik ve gastroenterolojik değerlendirme sonrası belli bir hastalık tanısına yönlendirilemeyen, düşünülen/olası tanıların ekarte edildiği (her hastaya özel gerekli ek tetkikler uygulanarak), yalnızca KCFT yüksekliğine sahip olgularda karaciğer harici tanısal hastalıkları olmayan (Çölyak hastalığı, tiroit hastalığı gibi), klinik takip sırasında bulguları gerilemeyen, akut olarak değerlendirilebilecek kısa süreli klinik değişimleri bulunmayan 10 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Olgulardan alınan periferik kan örneklerinden tüm ekzom dizileme analizleri ile elde edilen veri güncel ve uluslararası biyoinformatik analizlerden geçirilerek, etiyolojik nedeni bilinmeyen kronik karaciğer hastalığı olgularında klinik ilişkili tanısal patojenik varyantların tespiti; klinik ilişkili patojenik varyantların bulunmadığı olgularda ise in silico analiz ile aday genlerin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Yapılan araştırma ile çalışmaya dahil edilme kriterlerine uygun hasta grubunda, TED sonrasında, yöntemin Türkiye'de yaşayan olgularda hastalık tanısındaki verimi hakkında bilgi sahibi olunabileceği, dizileme yöntemlerinde öncelikli olarak araştırılması gereken genlerin belirlenebileceği, idiyopatik karaciğer hastalıklarına yönelik yeni nesil dizileme panellerinin oluşturulmasına katkı sağlanabileceği, bu sayede hastalara daha erken tanı konulabileceği ve hastalık progresyonunun ortaya konması ile uygun tedavinin erken planlanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, yeni aday genlerin belirlenmesi ile hastalık patofizyolojisinin anlaşılması ve bu sayede yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesi mümkün olabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Karaciğer Anatomisi ve Fonksiyonu

Karaciğer insan vücudundaki en büyük organ olup, bilinen yaklaşık 500 ayrı işlevi vardır. Başlıca fonksiyonları arasında lipit, karbonhidrat ve protein metabolizması, ilaç metabolizması, zararlı maddelerin detoksifikasyonu, safra üretimi ve salınımı, koagülasyon faktörleri sentezi, bilirubin metabolizması, lenf üretimi, hormon metabolizması, vitamin, demir ve bakır depolanması sayılabilir. Şu anda bu işlevlerin hepsini beraber yapay yollarla gerçekleştirmek mümkün olmadığından karaciğer olmadan yaşam mümkün değildir ve bu nedenle ciddi karaciğer hastalığı ancak karaciğer nakli ile tedavi edilebilmektedir. Karaciğer hastalıklarının patofizyolojisi aydınlatıldıkça bu durum muhtemel sağkalım oranlarında iyileşmeye yol açacaktır .[12]

İnsan karaciğeri normalde yaklaşık 1,5 kg ağırlığına ve yaklaşık 15 cm genişliğe sahiptir.[13] Beden kütlesinin yaklaşık %2'si kütleye sahiptir. Karın boşluğunun sağ üst tarafında, mide, bağırsaklar ve kolonun üstünde, diyafram ve göğüs kafesinin altında yer alır. Sol ve sağ olarak iki loba bölünmüştür. Sağ ve sol lob sınırını arka tarafta vena cava inferior yatağı, önde safra kesesi boşluğu yapar. Sağ lob soldan altı kat daha büyüktür. İki lob, dört sektör ve sekiz segmentten oluşur. Sağ lob anterior (5. ve 8. segmentler) ve posterior (6. ve 7. segmentler) sektörlere; sol lob falsiform ligament ile medial (4. segment) ve lateral (2. ve 3. segmentler) sektörlere ayrılır. Her segmentin kendi biliyer drenajı ve vasküler girişi, çıkışı vardır. Her 4 segmentin ortasında portal ven, hepatik arter dalı ve safra kanalı bulunur. Her segmentin çevresinde hepatik venlerden vasküler çıkış vardır.[14,15]

Porta hepatis, karaciğerin damar sistemi, hepatik kanallar, lenf sistemi ve sinir altyapısı için giriş-çıkış yeridir. Kan, portal venden ve hepatik arterden karaciğere girer, hepatik ven yoluyla kalbin sağ atriyumuna açılan 'vena cava inferior'a çıkar. Hepatik arter, çölyak trunkus yoluyla aorttan gelen oksijen açısından zengin kanı taşırken, portal ven tüm gastrointestinal sistem, dalak ve pankreastan gelen kanı taşır.[16] Karaciğere gelen

kan akımının 3/4'üne yakını portal ven ile, 1/4'ünden biraz fazlası ise hepatik arter ile gelir. Bu kan damarları, karaciğerde sinüzoidler olarak bilinen küçük kılcal damarlara bölünürler. Bunlar daha sonra lobülleri oluşturur. Lobüller karaciğerin fonksiyonel yapı birimleridir.

Karaciğer; hepatositler, yıldız hücreleri, kolanjiyositler, Kupffer hücreleri ve karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri olmak üzere farklı embriyolojik kökenli hücre tiplerinden oluşur. Bu hücre tiplerinin her biri farklı fonksiyonlara sahip olmakla birlikte hücrelerin %80'ini hepatositler oluşturmaktadır. Hepatositler karaciğerin fonksiyonlarında esas görevi üstlenmektedirler. Karaciğerde bulunan hücreler, karaciğerin fonksiyonel ve yapısal birimi olan lobül etrafında organize olur. Lobül, santral ven çevresinde tipik olarak altıgen bir şekilde düzenlenen hepatosit kordlarından oluşmaktadır. Bu altıgenin köşelerinde portal ven, hepatik arter ve safra kanallarının birbirine yakın şekilde gruplanmış dallarından oluşan portal triadlar bulunur. Hepatik arterden gelen oksijenden zengin kan santral vene akmadan önce sinüzoidlerdeki portal dolaşımdan gelen besin açısından zengin kan ile karışır.[17]

Karaciğerin ekskretuar fonksiyonlarının yerine getirilmesi ve karaciğer hastalıklarında oynadığı önemli rol nedeniyle, biliyer sistem oldukça önemlidir. Bu sistem, karaciğerde başlayan sol ve sağ hepatik kanalların birleşerek oluşturduğu ortak hepatik kanal ile safra kesesinden gelen kistik kanalın birleşmesiyle oluşan ortak safra kanalı aracılığıyla safra geçişini sağlamaktadır. Bu safra, duodenum yakınlarında bulunan pankreas kanalı ile birleşerek Ampulla Vater'i oluşturur. Sonuç olarak, biliyer sistem safra akışının sağlanması açısından kritik bir rol üstlenmektedir.

2.2 Karaciğer Hastalıkları

Karaciğer, vücutta birçok farklı işleve sahip olan hayati bir organdır. Konumu ve işlevleri nedeniyle, diğer organların büyük bir kısmına destek sağlar. Bununla birlikte, karaciğerin stratejik konumu, işlevleri ve karmaşıklığı, birçok hastalığa yatkınlık göstermesine neden olmaktadır.

Kronik karaciğer hastalığı, karaciğer fonksiyonlarının ilerleyici bir şekilde bozulmasıdır ve birçok etiyolojik faktör nedeniyle karaciğerde farklı patofizyolojik yolaklar belirlenmiştir. Etiyoloji spektrumu, toksinler, uzun süreli yüksek doz alkol kullanımı, otoimmün hastalıklar, safra yolları lezyonları, enfeksiyon, genetik ve metabolik bozuklukları içerecek şekilde geniştir.[1] Kronik karaciğer hastalığı, Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 40.000'den fazla ölüme yol açan ve nüfusun %1,8'i yani yaklaşık 4,5 milyon insanı etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. [4]

Kronik karaciğer hastalıklarının teşhisi, hastalığın etiyolojik faktörleri ve ortaya çıkabilecek komplikasyonlarına bağlıdır. Bu bağlamda, çeşitli kronik karaciğer hastalıkları ve bunların tanı ve teşhis yöntemlerine yönelik özet bir taslak Tablo 1'de sunulmuştur: [1,18]

Tablo 1. Kronik karaciğer hastalığı tanısında özet tablo

Hastalık	**Teşhis Yöntemi**
Hepatit B ve C	Seroloji, PCR
Alkolik Karaciğer Hastalığı	Kronik alkol kullanım öyküsü olan hastada yüksek AST, ALT. AST/ALT oranı çoğunlukla ≥ 2/1
Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH)	Dışlama teşhisi, ALT>AST. Karaciğer USG'si yardımcı
Hemokromatozis	Yüksek serum demiri, yüksek ferritin, azalmış total demir bağlama kapasitesi, transferrin satürasyonu>%45, karaciğer biyopsisi, genetik testler ile *HFE* geninde mutasyon tespiti
Wilson Hastalığı	İdrar bakır atılımında yükselme, serum seruloplazmininde azalma. Karaciğer biyopsisi. *ATP7B* geni için genetik test
İlaç ilişkili karaciğer hasarı	Anamnez, dışlama tanısı
Otoimmün hepatit	Yükselmiş ANA, ASMA ve LKM-1, IgG
Alfa-1 antitripsin eksikliği	Azalmış alfa-1 antitripsin seviyeleri. PIZZ fenotipi tespiti
Primer biliyer siroz	Antimitokondriyal antikor pozitifliği. Belirgin yükselmiş alkalen fosfataz
Primer sklerozan kolanjit	MRCP
Budd-Chiari ve veno-oklüziv hastalık	Tam kan sayımı, pıhtılaşma profili, doppler USG veya kontrastlı BT gibi görüntüleme çalışmaları

2.2.1 Etiyoloji

Kronik karaciğer hastalıklarının etiyolojisiyle ilgili özet bilgiler tablo 2'de sunulmuştur:

Tablo 2. Kronik karaciğer hastalığı etiyolojisi [19]

Sebep	**Örnekler**
Viral Enfeksiyonlar	Hepatit B virüsü (HBV), Hepatit C virüsü (HCV), Hepatit E virüsü (HEV)
Alkol Tüketimi	Uzun dönemde yüksek miktarda alkol tüketimi
Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH)	Obezite, diyabet, metabolik sendrom
Otoimmün Hastalıklar	Otoimmün hepatit, primer biliyer siroz (PBS), primer sklerozan kolanjit (PSK)
Herediter - Metabolik Hastalıklar	Wilson hastalığı, hemokromatozis, alfa 1 antitripsin eksikliği, galaktozemi
İlaç İlişkili Karaciğer Hasarı	Reçeteli veya reçetesiz satılan ilaçların, bitkisel takviyelerin veya yasa dışı ilaçların aşırı veya yanlış kullanımı
Toksik Karaciğer Hasarı	Çevresel toksinlere, kimyasallara veya ağır metallere maruz kalınması
Safra Yolu Hastalıkları	Kolestatik karaciğer hastalıkları, safra kanalı tıkanıklıkları, safra taşları
Vasküler Hastalıklar	Portal ven trombozu, Budd Chiari sendromu
Kriptojenik	Sebebi bilinmeyen

2.2.1.1 Alkolik Karaciğer Hastalığı

Dünya genelinde en sık görülen kronik karaciğer hastalığı türü, alkolik karaciğer hastalığıdır. Alkolik karaciğer hastalığında asemptomatik hastalıktan, karaciğer yağlanmasıyla başlayıp siroz bulgularına uzanan geniş bir klinik spektrum vardır. Spektrumun değişkenliğinde rol oynayan faktörlerin arasında genetik ve epigenetik etmenler de bulunmaktadır.

Alkolik hepatitin patogenezinde tam olarak anlaşılamayan birçok faktörün etkisi olduğu bilinmektedir. Bu faktörler arasında genetik etkenler, etanol ve metaboliti olan asetaldehit metabolizması, yetersiz beslenme, sitokinlerin uyarılması, steatotik değişiklikler, serbest radikaller ve oksidatif yaralanmalar gibi immünolojik faktörler sayılabilir.[20] Ancak, alkol tüketimi miktarı ve süresi en önemli risk faktörleri olarak kabul edilir. Günlük 40 gram veya daha fazla alkol tüketiminin, alkolik yağlı karaciğer

hastalığının gelişimine neden olduğu kabul edilmektedir. Hastalığın tedavisinde en önemli adım, alkol tüketiminin tamamen kesilmesidir. Bu tedavi, hastalığın ilerlemesini durdurabilir ve karaciğerin fonksiyonlarının yeniden düzenlenmesine yardımcı olabilir.

2.2.1.2 Enfeksiyonlar

Akut hepatit, 6 aydan kısa süreli ve genellikle iyileşme ile sonuçlanan karaciğer hastalıklarıdır. Virüsler, akut hepatitin en sık nedenleridir. Hepatit A (HAV), HBV, HCV, Hepatit D (HDV) ve HEV gibi virüslerin yanı sıra, Epstein Barr, Sitomegalovirüs (CMV), Sarı Humma, Herpes ve Rubella gibi diğer virüsler de hepatit oluşumuna neden olabilirler. Bakteriyel, parazitik ve fungal enfeksiyonlar da hepatitin nedenleri arasında yer alır.

Kronik hepatit 6 aydan uzun süren hücre nekrozu ve inflamasyonudur. Hepatit C en sık sebep olmakla birlikte HBV, HCV ve HDV (delta) başlıca kronik viral hepatit nedenleridir.[21] Kronik hepatit, yaygın karşılaşılan bir hastalık olup, siroz ve hepatoselüler kanser gibi ciddi komplikasyonlarla sonuçlanabilir.

2017 yılında yayınlanan küresel bir hepatit raporu, dünya genelinde yaklaşık 240 milyon insanın kronik hepatit B ve 130-150 milyon insanın kronik hepatit C hastalığına sahip olduğunu ortaya koymuştur. Rapor ayrıca, 2015 yılına kadar viral hepatit ve komplikasyonlarına bağlı olarak 1,4 milyon kişinin hayatını kaybettiğini bildirmiştir.[22] Bu bulgular, kronik hepatit B ve C'nin önemli bir küresel sağlık sorunu olduğunu ve dünya genelinde ciddi sonuçlar doğurduğunu göstermektedir.

2.2.1.3 Otoimmün Hepatit

Otoimmün hepatit kadınlarda daha sık görülen, aminotransferaz yüksekliği, otoantikor pozitifliği, immunglobulin G (IgG) yüksekliği görülen, progresif, kronik inflamatuvar bir karaciğer hastalığıdır. Otoantikorlar arasında en sık olarak anti düz kas antikoru (ASMA) pozitifliği görülür. Anti nükleer antikor (ANA) ve anti karaciğer böbrek mikrozomal tip 1 antikor (anti-LKM1) pozitifliği de görülebilmektedir. Otoimmün hepatit düşünülen hastalarda hastalığın şiddetini belirlemek amacıyla karaciğer biyopsisi gerekmektedir.

Histopatolojik görüntüde rozet oluşumu görünümü ve ‘emperipolesis’ gibi bulgular tespit edilebilir. Sitotoksik T hücresi ve plazma hücre artışı vardır.[23]

Otoimmün hepatit, Kuzey Amerika ve Avrupa'da kronik hepatitlerin %10-20'sinde görülürken, Türkiye'de %2'sinde tespit edilmiştir. Kortikosteroidler, otoimmün hepatitin birinci tercih tedavisi olarak kabul edilmektedir. Azatioprin gibi immünsupresif ilaçlar, daha sık olarak dirençli vakalarda tedaviye ek olarak kullanılmaktadır. Tedavilerin etkisiz olduğu olgularda, karaciğer transplantasyonu gerekebilmektedir.

2.2.1.4 Herediter Nedenler

2.2.1.4.1 Alfa-1 Antitripsin Eksikliği

Alfa-1 antitripsin (AAT) esas olarak karaciğer tarafından sentezlenen, akciğer dokularını proteolitik enzim hasarından koruyan bir proteindir. AAT eksikliğinde nötrofil elastaz gibi proteazlar inhibe edilemediği için alveol duvarı ve hepatoselüler çatıda hasar meydana gelir. Toplum prevalansı 1-5/10.000’dir.[24] Hastalığın başlangıç yaşı, belirti ve semptomlar kişiler arası farklılık gösterir. Bebeklikten yetişkinliğe kadar olan bireylerde karaciğer fonksiyon bozukluğu ve 30 yaşından büyük bireylerde kronik obstrüktif akciğer hastalığı (amfizem ve/veya bronşektazi) ile kendini gösterebilir. İzole olguların bildirilmesi ile birlikte çocukluk çağında amfizem oldukça nadir görülmektedir. Olgularda ayrıca panniküllit ve c-ANCA (+) vaskülit için artmış risk bildirilmiştir. Etkilenen çocukların sadece küçük bir kısmında gözlemlenen AAT eksikliği ile ilişkili karaciğer hastalığı, neonatal kolestaz olarak kendini gösterir. Karaciğer hastalığının insidansı yaşla birlikte artar. Yetişkinlerde, yenidoğan veya çocukluk dönemi karaciğer hastalığı öyküsü olmaksızın karaciğer hastalığı ortaya çıkabilir. Ek olarak AAT eksikliği olan bireylerde hepatoselüler karsinom riski artar.[25]

AAT proteini 14. kromozomda yer alan *SERPINA1* geni tarafından kodlanır. AAT eksikliği otozomal resesif kalıtımlı bir hastalıktır. Günümüzde bu hastalıkla ilişkili 68 patojenik varyant bildirilmiştir. En sık patojenik değişimler nokta mutasyonu ve çerçeve kayması oluşturan varyantlardır.[26] Yaygın görülen yabanıl tip varyant M alleli iken, en sık

bildirilen eksiklik alleleri S ve Z formlarıdır. Bu alleler protez inhibitörü (PI) ön eki ile adlandırılır. PI*ZZ genotipine sahip olgular azalmış AAT seviyeleri gösterir ve akciğer hastalığına güçlü yatkınlıkları vardır. PIMZ genotipine sahip bireylerde, AAT seviyeleri genellikle normal veya hafif azalmıştır. Sigara kullanımı gibi ek risk faktörlerine bağlı olarak akciğer amfizemi geliştirme riskine sahiptirler. Ayrıca heterozigot Z alleli taşıyıcılarında artmış karaciğer hasarı ve siroz riski olduğuna ilişkin yayınlar mevcuttur. Bu grup PI*ZZ genotipindeki bireylere göre daha düşük serum transaminaz seviyelerine, karaciğerde daha az AAT protein inklüzyonuna ve daha düşük karaciğer sertliğine sahiptir, ancak PI*Z varyantı olmayan yetişkinlere göre riskleri daha yüksektir. PI*SZ genotipine sahip bireyler orta düzeyde azalmış AAT seviyeleri gösterir; akciğer hastalığına yakalanma açısından orta derecede artmış riske sahiptir.[27,28] PI*SS genotipinin karaciğer hastalığı için artmış riske sahip olmadığı gözlemlenmiştir.[29]

Alfa-1 antitripsin eksikliği teşhisi, düşük serum AAT konsantrasyonu ile birlikte *SERPINA1* genindeki patojenik varyantın tespiti veya AAT proteininde fonksiyonel bozukluğun gösterilmesi yoluyla konulmaktadır.[30]

Alfa-1 antitripsin eksikliği tanısı, ilk semptomların diğer solunum yolu hastalıklarına benzer olması nedeniyle zor konulmaktadır. Dünya genelinde yapılan çalışmalarda, 97 ülkede 180.000'den fazla kişide (%0,1) PI*ZZ, 1,2 milyondan fazla kişide (%0,7) PI*SZ genotipi tespit edilmiştir. Ancak, birçok hastada öncesinde tanı konulamamıştır.[31] Erken teşhis edildiğinde, AAT eksikliği ile ilişkili hastalıkların etkileri hafifletilebilir. Bu nedenle, ailesel yatkınlığı olan bireylerin geciktirmeden gerekli tetkikleri yapılmalıdır.

2.2.1.4.2 Wilson Hastalığı

Wilson hastalığı 13. kromozomdaki *ATP7B* genindeki mutasyonlardan kaynaklanan, otozomal resesif kalıtımlı, bakır depolanması bozukluğuna bağlı dejeneratif değişikliklere neden olan, multisistemik bir hastalıktır. Wilson hastalığının toplum prevalansları, 100.000 kişide 1-9 arasındadır.[32]

Wilson hastalığında *ATP7B* genindeki bozukluk bakırın safra yollarına atılımında bozulmaya ve bakırın özellikle hepatosit sitozolünde birikmesine neden olur. Bakır ilk olarak karaciğer hücrelerinde, ardından beyin, göz, böbrek gibi organlara yayılarak birikmeye başlar. Günümüzde hastalıkla ilişkili 966 patojenik varyant bildirilmiştir. Bu değişimlerin büyük bölümünü nokta mutasyonları ve çerçeve kayması oluşturan değişimler oluşturmaktadır.[33]

Wilson hastalığı karaciğerde asemptomatik hepatomegali, hepatit, siroz, hepatoselüler kanser gelişimine neden olabilir. Nörolojik tutulumla birlikte ekstrapiramidal tutuluma ait tremor, distoni, parkinsonizm, demans bulguları görülebilir. Hemolitik anemi bulguları, renal hasara bağlı Fanconi sendromu, osteoporoz, osteomalazi gibi iskelet sistemi bulguları görülebilir. Semptomlar sıklıkla 5 ile 30 yaş arası başlar. Gözde Kayser-Fleischer halkası bulunması tanıda önemli bir ipucudur. Serum seruloplazmin seviyelerinin azalması, Wilson hastalığının laboratuvar tanısında en önemli belirteçlerinden biridir. Ancak nörolojik belirtileri olan Wilson hastalarının en az %5'inde ve karaciğer bulguları olan bireylerin %40'a kadarında normal serum seruloplazmin konsantrasyonu tespit edilebilir. Serum seruloplazmin konsantrasyonu bu nedenle Wilson hastalığı için güvenilir bir tarama testi değildir.[34] Hastalarda ayrıca idrarda bakır atılımı artmıştır. Karaciğer biyopsisinde spesifik bulgular olmamasına rağmen doku kuru bakır ağırlığı artışı önemlidir.[34] Wilson hastalığı tanısı, klinik, biyokimyasal ve moleküler genetik verilerin kullanıldığı, Leipzig 2001'deki 8. Uluslararası Wilson Hastalığı Toplantısı'nda geliştirilen bir tanı puanlama sistemi ile yapılmaktadır.[35] Hastalığın tedavisinde D-penisilamin, trientin gibi bakır şelatörleri kullanılmaktadır.

2.2.1.4.2 Hemokromatozis

Genetik kaynaklı karaciğer hastalıklarının tarihi, 1865-1890 yılları arasında Triouseau ve von Recklinghausen tarafından tanımlanan hemokromatozis ile başlar.[36] Bu tarihten sonra, 1990'ların ortalarında *HFE* geninin klonlanması, haritalanması ve fonksiyonel karakterizasyonu, hemokromatozis tanısı ve yönetimi için önemli bir dönüm noktası olmuştur.[37]

Hemokromatozis, ince bağırsak mukozasında demir emiliminde artış veya hücre içi demir transportunda bozukluk sonucu oluşan bir hastalıktır. Otozomal resesif kalıtımlı olan bu hastalıkta, karaciğer, pankreas, deri, kalp gibi organlara aşırı demir birikimi meydana gelmektedir. *HFE* ile ilişkili herediter hemokromatozisin Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ve Avustralya gibi ülkelerdeki prevalansı yaklaşık 1/200 ile 1/400 arasında değişmektedir.[38] Ancak hemokromatozisin penetransı düşük olduğundan ve tedavi edilmemiş bireylerin doğal seyri tahmin edilemediğinden genotip tabanlı popülasyon taramaları önerilmemektedir.[39] Bu hasta popülasyonunda karın ağrısı, halsizlik, kilo kaybı, eklem ağrıları ve diyabetes mellitus gibi bulgular sıklıkla gözlemlenmektedir. Ayrıca, serum ferritini düzeyleri 1000 ng/ml'nin üzerinde olan bireylerde siroz gelişme riski artmaktadır. Klinik bulguların erkeklerde daha sık gözlemlenmesi de dikkate alınması gereken bir faktördür.[39]

Laboratuvarda hafif aminotransferaz yükseklikleri görülebilir. Serum demiri, ferritin ve transferin satürasyon düzeyleri yükselmiştir. Yüksek ferritin düzeyi ve transferrin satürasyonunun %45 üzerinde olması hemokromatozis tanısını kuvvetli destekler.

HFE geni, insan genomunda 6. kromozomunun HLA-A lokusunda bulunmaktadır. Hemokromatozis olgularında, *HFE* geninde bulunan patojenik C282Y ve/veya H63D varyantları sık tespit edilen değişimlerdir. Hemokromatozis olgularında tanı, moleküler genetik testler aracılığıyla biallelik *HFE* patojenik varyantlarının tespitiyle doğrulanmaktadır.[40] Aralıklı flebotomi tedavisi, hemokromatozis hastalığının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, günümüzde diğer tedavi yöntemlerinin etkinliğinin klinik araştırmaları devam etmektedir.

2.2.1.4.3 Fruktoz- Galaktoz Metabolizması Hastalıkları

- Galaktozemi (Galaktoz-1 Fosfat Üridil Transferaz Eksikliği)
- Üridin Difosfat Galaktoz-4-Epimeraz Eksikliği
- Herediter Fruktoz İntoleransı (HFI)
- Fruktoz-1,6-Bifosfataz Eksikliği
- Transaldolaz Eksikliği

2.2.1.4.4 Aminoasit Metabolizması Bozuklukları

- Üre Siklus Bozuklukları
- Organik Asidemiler
- Sitrin Eksikliği

2.2.1.4.5 Glikojen Depo Hastalıkları

- Tip Ia, Tip Ib, Tip IIIa, Tip IIIb, Tip IV, Tip IX, Tip XI

2.2.1.4.6 Lipit Metabolizmasının Bozuklukları

- Abetalipoproteinemi
- Hipobetalipoproteinemi

2.2.1.4.7 Safra Asit Metabolizmasının Sentez Bozukluğu

2.2.1.4.8 Kistik Fibrozis

2.2.1.4.9 Mitokondriyal Hastalıklar

2.2.1.5 Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH)

Karaciğer yağlanması, hepatositlerdeki yağ miktarının karaciğer ağırlığının %5'inden fazla olduğu durumu tanımlar. Fazla alkol tüketimi ve benzeri diğer olası nedenlerin dışlandığı durumlarda, yağ metabolizmasındaki bozukluklar ve serum trigliserid seviyelerinde artış sonucu ortaya çıkmaktadır. Santral obezite, Tip 2 Diyabetes Mellitus, dislipidemi ve metabolik sendrom, bu hastalığın önemli risk faktörleridir. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH), dünya çapında en yaygın karaciğer hastalığıdır ve prevalansı %25'tir.[41]

Karaciğer yağlanması, karaciğer hücrelerindeki yağ miktarının normalden fazla olmasıdır. Bu durum, bazı insanlarda fibrozis gelişmesine ve kriptojenik siroz hastalığına yol açabilir. Karaciğerde belirgin inflamasyon olmadan sadece yağlanma olması durumunda hastalık NAYKH olarak isimlendirilir. Ancak, karaciğerde inflamasyon, dejenerasyon veya fibrozis varlığında, bu duruma non-alkolik steatohepatitis (NASH) denmektedir. Steatoz ve steatohepatit ayırımı için, karaciğerin biyopsi ile histopatolojik incelemesine ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle çocukluk çağındaki hastalarda genetik ve

metabolik nedenlerin sıklığı yüksek olduğundan, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı düşünüldüğünde, obezite varlığında dahi olası diğer nedenler (metabolik hastalıklar vb.) açısından araştırılması gerekmektedir.[42]

Toplumda alanin aminotransferaz (ALT) yüksekliğinin en sık nedeni karaciğerde yağlanmadır. Hastalık genellikle asemptomatik ilerlemektedir. Semptomu olan hastalarda hepatomegali nedeniyle sağ üst kadran ağrısı ve dolgunluk hissi olabilir. Hastalar genellikle farklı bir sebeple yapılan karaciğer fonksiyon testleri veya abdominal görüntüleme sonucunda insidental tanı alırlar.

NAYKH tanısı için aşağıdaki özelliklerin tümünün varlığı gereklidir:

- Hepatik steatozun görüntüleme veya biyopsi yoluyla teşhis edilmesi
- Yüksek miktarda alkol tüketiminin olmaması
- Hepatik steatozun diğer nedenlerinin dışlanması
- Farklı bir kronik karaciğer hastalığının bulunmaması[43]

NAYKH nedenleri tablo 3'te belirtilmiştir.

Tablo 3. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı nedenleri

Genel	
o Obezite o Tip 1 DM, Tip 2 DM o Metabolik sendrom o Tiroit hastalıkları o Çölyak hastalığı	o Hepatit C o Polikistik over sendromu o İnflamatuvar bağırsak hastalığı o Anoreksiya nervoza o Hipotalamohipofizer bozukluklar
Toksik Maddeler	
o Ekstazi, kokain, solventler o Pestisitler o Östrojen o Asetaminofen o Tetrasiklin o Kortikosteroidler	o Metotreksat o Amiodaron o Nifedipin o Diltiazem o Valproik asit o Zidovudin ve diğer anti-HIV ilaçları

Tablo 3 (Devam). Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı nedenleri

Genetik ve Metabolik Nedenler
o Wilson hastalığı o Herediter fruktoz intoleransı o Glikojen depo hastalığı (Tip 1, 6, 8) o Abeta/hipobetalipoproteinemiler o Ailesel hiperlipoproteinemiler o Konjenital glikozilasyon bozuklukları o Lizozomal asit lipaz eksikliği o Kistik fibrozis o Organik asidemiler o Safra asit sentez bozuklukları o Schwahmann sendromu o Sitrin eksikliği o Mitokondriyal ve peroksizomal bozukluklar o Homosistinüri o Turner Sendromu

2.2.1.6 Toksik Faktörler

Alkol başta olmak üzere, birçok ilaç ve madde farklı klinik bulgularla seyreden karaciğer hastalıklarına neden olabilir. Kadın cinsiyet, ileri yaş, alkol kullanımı, obezite, genetik yatkınlık ve böbrek yetmezliği gibi durumlar toksik karaciğer hastalığı riskini artırabilir. İlaçlar, doza bağlı olarak veya idiosenkratik reaksiyon geliştirerek karaciğer hasarı oluşturabilirler. Ayrıca, mantar intoksikasyonu ve ağır metaller de toksik hepatit oluşumunda değerlendirilmelidir.

2.2.1.7 Primer Biliyer Kolanjit (PBK), Primer Sklerozan Kolanjit (PSK)

Primer biliyer kolanjit, genellikle 30 ila 65 yaşları arasında görülen, hastaların çoğunluğunu kadınların oluşturduğu (%90-95) nadir görülen bir hastalıktır. Hastalık halsizlik, yorgunluk, kaşıntı gibi şikayetlere neden olabileceği gibi asemptomatik de ilerleyebilmektedir. Sarılık, kolestatik karaciğer enzimlerinde yükseklik, antimitokondriyal antikor (AMA) pozitifliği bulguları hastalığa eşlik edebilmektedir. Primer biliyer kolanjitte immunglobulin M (IgM) düzeyi üst sınırın 3-6 kat fazlası artabilir. Hastalarda ilk tedavi seçeneği ursodeoksikolik asittir ve kullanımı ile hastalık progresyonunda ve mortalitede azalma görülür. Primer sklerozan kolanjit ise primer

biliyer kolanjite benzer bir hastalık olmakla birlikte daha agresif seyretme eğiliminde olup, kolon kanseri gelişimi riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir.[44,45]

Primer sklerozan kolanjit, intrahepatik ve/veya ekstrahepatik safra kanallarında inflamasyonun bulunduğu, safra akışının engellendiği veya azaldığı, fibrozis ile sonuçlanarak siroza yol açabilen ve genellikle inflamatuvar bağırsak hastalıklarıyla birliktelik gösteren bir hastalıktır. Hastalığın etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Farklı popülasyonlarda, genellikle 30 ile 40 yaşları arasındaki erkeklerde daha sık görülmektedir. Karaciğer biyopsisinde duktal proliferasyon, periportal inflamasyon, portal fibrozis ve periportal bakır birikimi gözlemlenebilir. Hastalarda karın ağrısı, kaşıntı, sarılık ve yorgunluk temel semptomlardır. Tedavi, semptomların ve komplikasyonların azaltılması veya ortadan kaldırılması için gerekli adımları içerir. Karaciğer transplantasyonu, olumlu sonuçlar sağlayabilmesine rağmen, hastalığın tekrarlayabildiği ve nakil sonrası morbiditelerin oluşabileceği gözlemlenmiştir.[45,46]

2.2.1.8 Sistemik Hastalıklar

- Hematolojik hastalıklar
- Kalp hastalıkları
- Kolajen doku hastalıkları
- Endokrin hastalıklar
- Nöromusküler hastalıklar
- Gastrointestinal hastalıklar
- Amiloidozis

2.2.1.9 Malign Hastalıklar

2.2.2 Semptom ve Bulgular

2.2.2.1 Klinik ve Muayene

Birçok karaciğer hastalığı, erken evrelerinde semptom ortaya çıkarmaz ve genellikle tesadüfen tespit edilir. Bununla birlikte, ilerleyen karaciğer hasarı semptomların ortaya

çıkmasına neden olabilir. Karaciğer hasarı belirtileri çok çeşitli olup, şiddet ve sıklıkları, hasarın ciddiyeti ve bireyin genel sağlık durumuna bağlıdır.

Karaciğer hasarı durumunda sıklıkla görülen klasik semptomlar, aşağıda sıralanmıştır:[47]

- İştah kaybına bağlı kilo kaybı
- Kronik halsizlik ve yorgunluk
- Mide bulantısı, kusma
- Ağız kuruluğu, susuzluk hissi
- Sarılığa bağlı gözde ve ciltte sararma
- Karın ağrısı, şişkinlik
- Ciltte kaşıntı
- İdrar renginde değişiklik
- Soluk dışkı rengi
- Bacaklarda ve ayak bileklerinde ödem
- Burun kanaması, diş eti kanaması, ciltte kolay morarma
- Hafıza kaybı ve konsantrasyon bozukluğu

Kronik karaciğer hastalığının fizik muayenede tespit edilebilen bulguları, aşağıda sıralanmıştır: [47]

- Sarılık
- Hepatomegali, splenomegali
- Asit
- Telenjiektaziler ve ‘Spider’ nevüs
- Jinekomasti
- Çomak parmak (‘Clubbing’)
- ‘Caput Medusa’
- Palmar eritem
- Testiküler atrofi
- Dupuytren kontraktürü

- Hepatik ensefalopati bulguları
- Kas erimesi
- Artmış juguler ven basıncı
- Nörolojik bulgular
- Parotis bezinde büyüme
- Fötor hepatikus

Ancak, karaciğer hastalıklarının tanısı genellikle görüntüleme yöntemleri, kan testleri ve biyopsi gibi tıbbi testler kullanılarak konulur.

2.2.2.2 Laboratuvar

Karaciğer fonksiyon testleri, karaciğer hasarının belirlenmesi ve fonksiyonel kapasitesinin değerlendirilmesi için kullanılan tıbbi testlerdir. Bu testler, karaciğer enzimlerinin ölçümlerini ve karaciğerde üretilen proteinlerin kan konsantrasyonlarının belirlenmesini içerir. Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP), gama glutamil transpeptidaz (GGT), 5' nükleotidaz, albumin, bilirubin ve total protein, karaciğer fonksiyon testlerinde sıkça kullanılan parametrelerdir. ALT, AST, ALP ve GGT, karaciğer hasarının belirlenmesinde sık kullanılan enzimleri oluşturur. Diğer parametreler karaciğerin genel fonksiyonlarını belirlemeye yardımcıdır.[48]

Alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz, α-aminoasitlerin α-keto asitlere dönüşümünü gerçekleştiren enzimlerdir ve normal değerleri 5-40 IU/L arasındadır. Karaciğer hasarı nedeniyle hepatosit yıkımının artması ve hücre zarı geçirgenliğindeki artış sonucu, bu enzimler hücre zarı dışına çıkar ve serum düzeyleri yükselir. ALT ve AST arasında karaciğere özgün olan aminotransferaz ALT'dir. AST karaciğer haricinde kas, böbrek, beyin, pankreas dokularında ve lökosit, eritrosit hücrelerinde de bulunur. Bu nedenle serum AST düzeyleri kalp ve kas hastalıklarında da artar. ALT ise en fazla karaciğerde bulunurken karaciğer dışı üretimi belirgin olarak az olmasından dolayı karaciğer parankim hastalıklarında genelde ALT, AST'den daha fazla yükselir. Ek olarak klinik yaklaşımda kronik karaciğer hastalarında AST/ ALT oranının >2 olması alkolik hepatiti düşündürür.

AST ve ALT seviyelerinin serumda artması, genellikle klinik uygulamada ve sağlık taramalarında karaciğer hastalıklarının belirteci olarak kullanılır. Bu enzim testlerindeki yükseklik, birçok karaciğer hastalığında mevcut olduğundan hastalıkların ayırıcı tanısında sınırlı bir değere sahiptir. Bununla birlikte, aminotransferaz yüksekliğinin, birçok ciddi karaciğer hastalığının tek göstergesi olabileceği unutulmamalıdır. Ayrıca, bu hastalıkların anamnez ve fizik muayenede hiçbir belirti vermeden fibrozis ve siroza ilerleyebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, AST ve ALT testleri, karaciğer hastalıklarının taramasında ilk basamak tetkik olarak kullanılmalıdır.[49]

Aminotransferaz yüksekliği, karaciğer hasarının önemli bir göstergesidir. Ancak, normal seviyelerde olması karaciğer hastalığı olmadığı anlamına gelmemektedir. Özellikle fulminan hepatit ve sirozlu hastalarda aminotransferazlar normal seviyelerde gözlemlenebilir.[48] Bu nedenle, karaciğer hastalığının tanısı ve yönetimi için aminotransferaz testlerinin yanı sıra diğer klinik ve laboratuvar yöntemlerinin de kullanılması gerektiği akılda bulundurulmalıdır.

Transaminaz değerlerinde 300 U/L'ye kadar yükselme genellikle spesifik olmayan karaciğer hastalıklarında gözlenmektedir. Aşağıda, AST ve ALT'nin 400 IU/L'nin üzerinde olduğu akut durumlar listelenmiştir:

- Akut viral hepatit
- Toksik hepatit
- İlaca bağlı hepatit
- Akut obstrüksiyon
- Şok
- Akut kalp hastalığı

Toplumda aminotransferaz yüksekliğinin en sık görülen nedeni karaciğer yağlanmasıdır. Bununla birlikte, kronik aminotransferaz yükselmesine yol açan karaciğer dışı nedenler arasında çölyak hastalığı da bulunmaktadır. Bu nedenle, aminotransferaz yüksekliği değerlendirilirken Immunglobulin A (IgA) ve doku transglutaminaz A (TgA)

antikorları da dikkate alınmalıdır.[50] Aminotransferaz yüksekliğine yol açabilecek diğer karaciğer dışı hastalıkları tablo 4'te belirtilmiştir.

Tablo 4. Aminotransferaz yüksekliğine yol açan karaciğer dışı hastalıklar [51]

Kas kaynaklı nedenler o Musküler distrofiler (DMD, BMD) o Kardiyomyopatiler ve diğer myopatiler o Yoğun egzersiz	**Hematolojik Hastalıklar** o Hemolitik anemiler o Orak hücreli anemi o Paroksismal nokturnal hemoglobinüri
Nefropatiler	**Makro AST**
Çölyak Hastalığı	**Endokrin nedenler** o Adrenal yetmezlik o Hipotiroidi

Aminotransferaz düzeylerinin referans aralığı üst sınırının 10 katından yüksek olması ciddi yükseklik, 5-10 katı arasında olması orta yükseklik, 5 katın altındaki yükselmeler ise hafif yükseklik olarak adlandırılmaktadır. Bu gruplama yapılması planlanan etiyolojik değerlendirmeler için yol gösterici olarak kullanılır.[48]

Aminotransferaz seviyelerinde ciddi yükseklik saptanıldığında hastalığın ciddiyetinin anlaşılması açısından, karaciğer yetmezliğinin ve karaciğerin sentez fonksiyonunun göstergeleri olan albümin, PT, PTT ve INR parametrelerine bakılması önerilmektedir. Protrombin zamanında 5 saniyenin üzerinde olan artış kötü prognoz göstergesidir.

Normal düzeyin 10 katından daha fazla ve ani gelişen aminotransferaz yükseklikleri akut hepatit göstergesi olabilmektedir. Hastalarda birinci basamakta enfeksiyöz nedenler, viral hepatitler araştırılmalıdır. Serolojik olarak enfeksiyöz nedenlerin negatif bulunduğu durumlarda hastaların ikinci basamakta Wilson Hastalığı, otoimmün hepatit, safra kanalı tıkanıklığı, iskemi (hemodinamik şok, akut kalp yetmezliği vb.) ve toksik nedenler (mantar vb.) açısından incelenmeleri önerilmektedir. Ayrıca transaminaz yüksekliği olan her olguda eşlik edebilecek rabdomyolizin dışlanması için serum CK düzeyi de ölçülmelidir. [52]

Hafif ve orta transaminaz yüksekliklerinde olgularda 3-6 aylık izlem sonrasında aminotransferaz düzeylerinin normale dönebildiği bilinmektedir. Aminotransferazların normale gerilediği görüldüğünde hasta, nedeni açıklanamamış bir akut hepatit olarak değerlendirilir. İzlemde aminotransferaz yüksekliği devam ettiği durumlarda hasta, ileri laboratuvar ve görüntüleme yöntemleriyle incelenmeli, gerekirse karaciğer biyopsisi planlanmalıdır.

ALT yüksekliğinin eşlik etmediği AST yüksekliklerinde makro AST düşünülmelidir. Makro AST, AST'nin immunglobulinlerle kompleks oluşturması sonucu böbreklerden atılamaması nedeniyle gelişir. AST yapılan tahlillerde kronik olarak yüksek saptanabilir, takip eden izlemlerde tamamen normale de dönebilir.

Aminotransferaz yüksekliklerinde hangi tetkiklerin isteneceği tablo 5'te belirtilmiştir. Bu yaklaşım, sadece aminotransferaz yükseklikleri için değil, karaciğer fonksiyon bozuklukları için de uygulanabilir.

Tablo 5. Hipertransaminazemi tanısında kullanılan tetkikler

Birinci basamak o ALT, AST, GGT, CPK o Total bilirubin, direk bilirubin o Protein elektroforezi o Tam kan sayımı o Serum albümin, protrombin zamanı, INR o Hepatobiliyer ultrasonografi, portal venöz sistem doppler ultrasonografisi
İkinci basamak o Viral markerlar (HBsAg, anti-HBc IgM, anti-HBc IgG, HBeAg ve anti-HBe, Anti HCV, HIV Seroloji, CMV ve EBV) o Total IgG ve IgA, ilişkili otoantikorlar (ANA, SMA, LKM) o Seruloplazmin, serum bakır düzeyi, 24 saatlik idrarda bakır düzeyi o 'Kaiser-Fleischer halkası' o Serum AAT düzeyi veya AAT fenotipi o Demir, demir bağlama, ferritin

Tablo 5 (Devam). Hipertransaminazemi tanısında kullanılan tetkikler

İkinci basamak (Devam) o T3, T4, TSH, serum kortizol o Ter testi o Fekal elastaz o Metabolik taramalar o Laktat, amonyak, lipit profili o Ekokardiyografi
Üçüncü basamak o Karaciğer biyopsisi o Genetik analiz o Kemik iliği aspirasyonu

Artmış GGT düzeyine eşlik eden ALP yüksekliği olası kolestazın bulgusu olabilir. Biliyer patolojilerde ALP üç kat yükselir. ALP yüksekliğinin karaciğer kökenli olup olmadığının ayrımında kullanılmasında önemlidir. Karaciğer parankim hastalıklarında ise AST, ALT ile birlikte daha az yükselir. ALP>1000 IU/L olduğu durumlarda primer biliyer siroz ve kemik patolojileri araştırılmalıdır. GGT seviyeleri kolestazın en sensitif göstergesidir. Kronik alkolizm hastalarında ALP normal iken GGT yüksekliği görülür. Alkol kullanımının bırakılmasından haftalar sonra GGT değerleri normal seviyelere dönebilir.[48]

Kronik hepatitlerde ve otoimmün hepatitlerde immünglobulin artışı görülür. Otoimmün hepatitte IgG artışı, primer biliyer sirozda IgM artışı, alkolik karaciğer hastalarında IgA artışı tipiktir. Sirozlu hastalarda poliklonal gamopati vardır. Protein elektroforezinde hipoalbuminemi, hipergamaglobulinemi görülür. Otoantikorlardan AMA primer biliyer siroz, anti LKM-1, ASMA otoimmün hepatit tanısında kullanılır.

Kronik karaciğer hastalıklarında albümin düzeyi düşer, globülin artar.[48] Kolestazın en spesifik göstergeleri serum 5' nükleotidaz ve lösin aminopeptidaz düzeyleridir.

2.2.2.3 Görüntüleme

Kronik karaciğer hastalıklarında başlıca görüntüleme yöntemleri USG, BT ve MRI'dır. Ultrasonografi tanıda en sık kullanılan ve ilk tercih edilen yöntemdir. Karaciğerin büyüklüğü, parankim yapısı, özellikle 1 cm'den büyük yer kaplayıcı lezyonlar, safra kesesi ve safra yolları hakkında bilgi verir. Karaciğer hastalıklarından şüphelenildiği durumlarda biliyer atrezi, koledok kistleri gibi anormallikleri dışlamak için öncelikli olarak USG istenilmesi önerilmektedir. Bu görüntüleme yöntemi ile kolelitiazis veya koledokolitiazis de tespit edilebilmektedir. Doppler USG ile birlikte kullanılması durumunda vasküler yapılar hakkında aynı anda bilgi edinilebilmektedir. Elastografi modülü mevcut USG'ler ile ise doku sertliği hakkında bilgi verir. Ek olarak biyopsi gereksiniminde ultrasonografi kılavuz olarak kullanılmaktadır.

Bilgisayarlı tomografi ve MRI karaciğerde özellikle küçük fokal lezyonların tanımlanmasında yararlıdır. Bilgisayarlı tomografi, hızlı bir görüntüleme yöntemi olması ve manyetik rezonans görüntülemeye kıyasla daha kolay ulaşılabilir olması gibi avantajlara sahiptir. Bununla birlikte, parankimal çözünürlük MRI'ya göre daha düşük olduğundan, lezyonlar ve dokular hakkında genellikle daha az bilgi sağlamaktadır. Fakat bilgisayarlı tomografide dual enerji yöntemi ile parankimal yağ, demir, glikojen birikimi saptanabilmektedir.

Karaciğerin diffüz yağlanmasında USG'de karaciğer hiperekojen, BT'de hipodens görülebilmektedir. MRI'da 'in-out of' faz görüntülemelerde sinyal kaybı görülür. MRI'nın doğruluk oranı ve özgüllüğü diğer görüntüleme yöntemlerine kıyasla en yüksektir.

Hemokromatoziste ise BT'de karaciğer dansitesinde artış görülür. MRI, hemokromatoz hastalarının tanısında ve tedavi takibinde referans görüntüleme yöntemidir. MRI'da karaciğerde parankimde sinyal kaybı görülür ayrıca bu görüntüleme yöntemi ile karaciğerde demir birikim derecesi hakkında bilgide edinilebilmektedir. Budd-Chiari sendromunda USG'de kaudat lobda genişleme, Doppler USG'de ise hepatik venlerde tromboz veya incelme görülür.

Akut hepatitlerde USG'de karaciğer normal olabilir veya ekojenite azalması görülebilir. Ek olarak bu hastalığa sahip kişilerde yine USG'de periportal bölgede ekojenite artışı (yıldızlı gökyüzü manzarası) görülebilir. Perihepatik alanda minimal sıvı, hepatosplenomegali, safra kesesi duvarında kalınlaşma diğer bulgularıdır. Kronik hepatitlerde ise karaciğer parankimi kaba ve granüler görünümdedir. Portal triadlardaki parlaklık azalmıştır. Kronik hepatitte karaciğer boyutlarında artış görülmemektedir.

Siroz; parankim kaybı, fibrozis, hepatoselüler nekroz, rejenerasyon nodülleri ve vasküler yapıların bozulması ile karakterize progresif ilerleyen bir hastalıktır. Ultrasonografi tanıda, BT ve MRI ise tanı ve takipte kullanılır. Testlerin ortak görüntüleme bulguları kontur düzensizliği, multipl nodüller, parankimal heterojenite, sağ lob atrofisi, kaudat lob hipertrofisidir. Siroz hastalarında portal hipertansiyon bulguları olarak portal venöz damar sisteminde genişleme, porto-sistemik kollateraller, splenomegali ve asit görülebilir. MRI sirozun erken tanısında yetersizdir ancak hepatoselüler kanserin ayırıcı tanısında kullanılabilir. Ayrıca manyetik rezonans anjiyografi, portal ven trombozu açısından değerlendirilmesinde ve BT portal ven açıklığının değerlendirilmesinde kullanılabilir.[53,54]

Wilson hastalığında siroz gelişmişse görüntülemede siroz bulguları tespit edilir. Wilson hastalığında siroz geliştiğinde perihepatik yağ tabakası varlığı tespit edilmiş olup, bu bulgu USG'de perihepatik hiperekoik, BT'de subkutan yağ ile izodens, MRI'da ise T1 ve T2A kesitlerde hiperintens tabaka şeklinde izlenebilir. Bakır birikiminin karaciğer parankiminde BT'de dansite artışına neden olması beklenir, ancak aynı zamanda yağlanmaya bağlı dansite azalması da olabileceğinden, dansite artışı görülmeyebilir. Bunun yanı sıra, nodüler hiperatenüasyon alanları da görülebilir. [55]

Ultrason Elastografi, doku ve lezyonların fonksiyonunun, kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirildiği bir tetkiktir. Temel prensibi dokuların sertliğini farklı tekniklerle tespit etmektir. Dual Enerji BT, karaciğerde demir ve yağ birikimini göstermede ve sirozlu karaciğerde heterojen parankimde nodül ayırımında kullanılır. BT perfüzyon ile kronik karaciğer hastalığında hepatik disfonksiyon derecelendirilir. MRI spektroskopi,

karaciğerdeki steatoz varlığı ve kantifikasyonu için kullanılabilir. MRI elastografi ile sirozda fibrozis erken evrede tanınabilmektedir. MRI elastografi ile ölçülen karaciğer sertlik derecesi ile histolojik fibrozis evresi arasında yüksek oranda korelasyon görülmüştür. Bu teknikler, teknolojik gelişmelerle birlikte karaciğer biyopsisine olan gereksinimi azaltabileceği umudunu oluşturmaktadır.[56]

2.2.2.4 Histopatoloji

Karaciğer hastalıklarının tanısında biyopsi, etkili, hızlı, güvenli bir yöntemdir ve her yaşta uygulanabilir. Bu yöntemle histolojik ve biyokimyasal incelemeler için yeterli doku örneği elde edilir. Karaciğer biyopsisi, fibrozisin derecesi, siroz varlığı, glikojen, lipid, bakır, demir ve alfa-1 antitripsin birikimlerini gösterir. Biyopsi ayrıca neonatal hepatit, biliyer atrezi, intrahepatik safra yolları atrezisi ve konjenital hepatik fibrozis gibi hastalıkların tanısının konulmasına ve metabolik-genetik hastalıklar açısından enzimatik çalışmaların yapılmasına olanak sağlar.[57]

İlk karaciğer biyopsisi Paul Ehrlich tarafından 1883 yılında yapılmıştır. 1958 yılında Menghini'nin günümüzde kullanılan biyopsi tekniğinin temellerini atması ile karaciğer biyopsisi daha güvenli ve uygulanabilir bir girişim haline gelmiştir.[58]

Günümüzde karaciğer biyopsisi, diğer tanı yöntemleriyle (anamnez, fizik muayene, laboratuvar vb.) tanı konulamayan hastalarda tanı konulması ya da tanısı konmuş hastalarda hastalığın şiddetinin belirlenmesi, prognoz tahmini, evrelendirme ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Ek olarak transplant sonrası rejeksiyon şüphesi oluşan hastalarda karaciğerin durumu hakkında da bilgi sağlar.

Kesin tanıda karaciğer biyopsisinin kullanıldığı siroz, rejeneratif nodüllerin histolojik olarak gelişiminin portal hipertansiyona ve son dönem karaciğer hastalığına yol açmasıdır.[59] Hepatositlerde meydana gelen inflamasyon, nekroz, hücreler arası matriksin aşırı artması sonucu oluşan yaygın fibrozis ve nodüler rejenerasyon ile karakterize kronik ve ilerleyici bir karaciğer hastalığıdır.[60] Kronik parankimal hasarlanma, inflamasyon ve yara iyileşme yanıtının sonucunda karaciğerde fibrogenezde sürekli aktivasyon meydana

gelir. Etiyolojisinde viral hepatitler ve alkol en sık nedendir (Tablo 6). Batı Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde daha çok aşırı alkol kullanımına bağlı ortaya çıkarken, ülkemiz de dahil az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde en sık kronik viral hepatit zemininde gelişmektedir. Bu durum sosyoekonomik ve kültürel farklılıklardan kaynaklanır. ABD'de siroz ölüm nedenleri arasında erkeklerde 10, kadınlarda 12. sırada yer alır.[61] Siroz ülkemizde 2000 yılında yapılmış Ulusal Hastalık Yükü-Maliyet Etkililik çalışmasına göre ölüm nedenleri arasında kırsal bölgede yaşayanlarda 14, kentsel bölgede yaşayanlarda ise 19. sıradadır. [62]

Genel şikayetler halsizlik, sebebi bilinmeyen ateş, iştahsızlık, bulantı, burun ve diş eti kanamaları, ekimozlar, kas krampları, kaşıntı, dispne, erkekte libido azalması, empotans, kıllanmada azalma ve dağılımında bozukluk, jinekomasti; kadınlarda menstrüasyon değişiklikleri, karında şişlik ve ödemdir. Fizik muayene bulguları ise dil papillalarında atrofi, ikter, peteşi, ekimoz, 'spider anjiyom', palmar eritem, parotis bezinde büyüme, kas atrofileri, beyaz tırnak, çomak parmak, tenar-hipotenar atrofi, dupuytren kontraktürü, jinekomasti, testiküler atrofi, amenore, siyanoz, dispne, ödem, herniler, splenomegali, karın venlerinde belirginleşmedir.

Sentez fonksiyonu bozulmuş bir karaciğerde, USG, BT veya MRI'da düzensiz ve nodüler bir karaciğer görüntüsünün bulunması siroz tanısında yeterlidir. Diğer bulguları arasında normalden küçük karaciğer, splenomegali ve portosistemik kollaterallerin bulunması yer alır. Ayırıcı tanıda; nonsirotik portal hipertansiyon, nodüler rejeneratif hiperplazi ve konjenital hepatik fibrozis bulunur. Kesin tanı karaciğer biyopsisi ile konulur. Karaciğer biyopsisi belirsizlik olan durumlarda etiyolojiyi doğrulayabilir ve erken dönemde fibrozisin skorlaması için yol göstericidir. Histolojik bulgular inflamatuvar aktiviteyi değerlendirmeyi sağlar. Septal konnektif doku ve parankim arasında ileri derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu bulunması sirozun aktif ve progresif olduğunu gösterir. Lobüler parankim boyunca apoptotik ve nekrotik süreçler görülebilir. Portal-portal ve portal-santral fibröz köprüler, daha önce oluşmuş parankim nekrozunun göstergesidir. Rutin hematoksilen eosin boyamanın dışında demir, bakır, retikülin, periyodik asit-Schiff (PAS) ve Masson Trichrome boyaları da kullanılabilir.

Tablo 6. Sirozun etiyolojik sınıflandırması

Viral hepatit (hepatit B, hepatit C)
Alkolik karaciğer hastalığı
NASH
Metabolik ve Genetik Hastalıklar o Wilson hastalığı o Alfa1-antitripsin eksikliği o Hemokromatozis o Glikojen depo hastalığı o Galaktozemi o Herediter tirozinemi o Herediter fruktoz intoleransı o Kistik fibrozis o Porfiria o Kolesterol ester depo hastalığı o Gaucher Hastalığı o Mitokondrial hepatopatiler o Wolman hastalığı
İmmün aracılı o Otoimmün hepatit (tip 1 ve 2) o PBK, PSK o İmmünoglobulin G4 kolanjiyopati
Kardiyovasküler o Budd-Chiari sendromu o Konjestif kalp yetmezliği o Kalıtsal hemorajik telenjiektazi (Osler-Weber-Rendu hastalığı)
Kronik biliyer hastalık o Tekrarlayan bakteriyel kolanjit o Safra yolu stenozu o Byler's hastalığı o Alagille sendromu o PFIC1, PFIC2, PFIC3
İlaç ve toksinler
Malnütrisyon
Kriptojenik

Sirozda prognoz; etiyoloji, hastalık ciddiyeti, komplikasyonların gelişmesi ve komorbid hastalıklar gibi birçok faktörden etkilenir ve bu nedenle oldukça değişkendir. Hastada varis kanaması, asit, hepatik ensefalopati, hepatorenal sendrom veya spontan bakteriyel peritonit gelişmesi gibi dekompansasyon bulguları varlığında mortalite artar. Kompanse siroz hastaları sıklıkla asemptomatiktir.

Karaciğer sirozu olan hastaların prognozlarının tahminine yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Günümüzde bu çalışmalar arasında en yaygın olarak kullanılan iki model Child-Pugh sınıflandırması ve MELD (‘Model for End-Stage Liver Disease’)

skorlamasıdır (Tablo 7). Bu modellerde, hastanın karaciğer fonksiyonları, pıhtılaşma faktörleri ve varsa asit-alkali dengesi parametreleri dikkate alınarak, prognoz tahmini yapılmaktadır. Child-Pugh ve MELD modelleri klinik uygulamalarda tedavi planlanması amacıyla yaygın olarak kullanılmakta ve karar verme sürecine yardımcı olmaktadır.

Tablo 7. Child-Pugh Sınıflandırması

Parametre	**1 puan**	**2 puan**	**3 puan**
Asit	Yok	Kontrollü	Kontrol dışı
Ensefalopati	Yok	Minimal	İleri
Total bilirubin (mg/dl)	< 2	2-3	> 3
Albumin (g/dl)	> 3.5	2.8-3.5	< 2.8
Protrombin zamanında uzama	1-4 sn	4-6 sn	> 6 sn

Sınıflamayı belirlemek için skorlar toplanır. Child-Pugh A: 5-6 puan; Child-Pugh B: 7-9 puan; Child-Pugh C: 10-15 puan

MELD skorlama sistemi, bilirubin seviyesi, kreatinin seviyesi, INR, varsa diyaliz ihtiyacı ve siroz etiyolojisine dayanarak hastaların ciddiyet derecesini belirlemektedir. Bu skorlama sistemi, karaciğer nakli bekleyen hastaların nakil önceliğinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Hastalar bu parametrelere göre 5 ile 40 arasında skorlanır ve skor ne kadar yüksekse, nakil aciliyeti o kadar yüksektir.[63]

MELD skoru = $3.8*\log_e$(serum bilirubin [mg/dL]) + $11.2*\log_e$(INR) + $9.6*\log_e$(kreatinin [mg/dL]) + 6.4 formülü ile hesaplanır. [64]

2.3 İdiopatik Karaciğer Hastalıkları

Kronik karaciğer hastalığı, ABD'de ölüm sebepleri arasında önde gelen 11. sırada yer almaktadır ve özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki insidansı giderek artmaktadır.[2,3] Kronik karaciğer hastalarında yapılan kapsamlı incelemelere rağmen, bazı vakalarda etiyoloji açık bir şekilde belirlenemeyebilir. Bu durum, idiyopatik karaciğer hastalığı olarak adlandırılmaktadır. Bir araştırmada 6 ay boyunca sürekli anormal karaciğer fonksiyon testlerine sahip 272 yetişkin hastadan oluşan grubun yaklaşık %20'sinde bu anormallikler için herhangi bir etiyolojinin tespit edilemediği görülmüştür.[65] Karaciğer fonksiyon testleri anormal olan ve karaciğer biyopsisi yapılan 354 erişkin hastanın

incelendiği başka bir çalışmada, hastaların %6'sında karaciğer histolojisi normal olarak tespit edilmiş, %9'unda ise etiyolojisi bilinmeyen hepatit saptanmıştır.[66] Yapılan bu ve benzer çalışmalar ile klinik gözlemler günümüzde önemli sayıda kronik karaciğer hastalığına sahip hastada, hastalığın moleküler patogenezi ve etiyolojisinin açıklanamadığını göstermektedir.

Sirozu mevcut hastalar açısından bakıldığında da nedeni belirlenemeyen vakalar kriptojenik siroz olarak adlandırılmaktadır. Kriptojenik siroz, en eski ve en yaygın idiyopatik karaciğer hastalığı kategorilerinden biridir. Kriptojenik siroz tanısı için, öncelikle hastaların viral belirteçlerinin negatif olduğunun, parenteral kan ürünlerine, alkole ve hepatotoksik ilaçlara maruz kalmadıklarının, seruloplazmin, alfa-1 antitripsin ve ferritin kan düzeylerinin normal olduğunun, ANA, AMA, ASMA ve anti-LKM-1 antikorlarının tespit edilmediğinin ve PBS ile PSK'in ekarte edildiğinin gösterilmesi gerekmektedir.

Geçmiş literatürde, siroz vakalarının %5 ila %30'u kriptojenik siroz olarak bildirilmekteydi. 1965'te hepatit B virüsünün, 1989'da hepatit C virüsünün keşfi ve tanısal serolojik testlerin geliştirilmesi, çok sayıda siroz vakasının viral hepatit kaynaklı olduğunun belirlenmesini sağladı. Son otuz yılda otoimmün hepatitin tanımlanması ve NAYKH'nın hepatik işlev bozukluğunun bir nedeni olduğunun keşfedilmesi, diğer kriptojenik siroz vakalarının da açıklanmasını sağlamıştır. 2011 yılında yayınlanan bir çalışmada, 1990-2009 yılları arasında kriptojenik siroz tanısı alan hasta grubunun yeniden incelenmesi sonucunda, örneklemin %30'unda kesin bir tanı konulabilmiştir.[67] Yapılan başka bir araştırmada, 1988 ile 2015 yılları arasında gerçekleştirilen 135.000 karaciğer nakli incelenerek, bu hastaların yalnızca %7'sine kriptojenik tanısı konulduğu tespit edilmiştir.[68] UNOS veri tabanına göre, 2002-2016 yılları arasında karaciğer nakli için listelenen hastalar arasında kriptojenik siroz prevalansı yaklaşık %4 olarak belirlenmiştir.[69] Bu hastalarda altta yatan olası etiyolojiler arasında, gizli alkol tüketimi, tespit edilemeyen viral etkenler (non-B, non-C), sessiz seyirli otoimmün hepatit, ileri evre NASH, tanısı konulamamış genetik veya metabolik hastalıkların yer alması muhtemeldir.

Gao ve ark. idiyopatik karaciğer hastalıklarını incelerken dört ayrı kategoriye ayırmışlardır: [70]

(I) Gizli karaciğer hastalığı: İyi bilinen karaciğer hastalığının, eksik teşhis edilmesi veya yanlış teşhis edilmesinden kaynaklanan gizli karaciğer hastalığıdır.

Viral hepatitler, uygun tarama yapılmaması veya yanlış negatif tarama testleri sonucu yetersiz teşhis nedeniyle tanı alamama riski taşımaktadır. Örneğin, transaminaz seviyeleri yüksek olan hastaların birinci basamakta yalnızca %16'sının HCV için serolojik testlere tabi tutulduğunu gösteren veriler mevcuttur.[71]

HEV testi, ABD'de rutin olarak istenmemektedir. İlaca bağlı karaciğer hasarından şüphelenilen 318 hastadan oluşan kohortun değerlendirildiği bir çalışmada, hastaların %3'ünün akut karaciğer hasarının HEV enfeksiyonlarından kaynaklandığı görülmüştür.[72] Birleşik Krallık'ta gerçekleştirilen başka bir araştırmada, ilaca bağlı karaciğer hasarından şüphelenilen hastaların %12'sinde HEV enfeksiyonunun varlığı tespit edilmiştir.[73] Ek olarak HEV'in transplant hastalarında 6 aydan uzun saptanabilir viral yükün devam ettiği kronik hepatite neden olduğu gösterilmiştir. Karaciğer nakli hastalarının dahil olduğu solid organ nakli alıcılarının %46 ile %80'i, immünsupresif tedavi almaları nedeniyle virüs eradike edilemediğinden kronik HEV enfeksiyonu açısından risk altındadır ve bu hastalarda fibrozis gelişebilmektedir.[74,75] Semptomatik HEV enfeksiyonu olan, kronik immünsupresyonu bulunan 23 hastadan oluşan bir Fransız kohortunun %61'inde de, kronik karaciğer hastalığı geliştiği bildirilmiştir.[76] Bu nedenlerle, karaciğer hastalığının diğer etiyolojilerinin ekarte edildiği hastalarda HEV enfeksiyonunun da göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

(II) Maskelenmiş karaciğer hastalığı: Kistik fibrozis gibi iyi karakterize edilmiş sistemik hastalıkların hepatik tutulumlarını içeren gizlenmiş karaciğer hastalığıdır.

Karaciğer tutulumu, multisistemik hastalıkların önemli bir bulgusudur. Bazı sistemik hastalıklar, ilk belirtileri veya baskın semptomları olarak karaciğer tutulumu gösterebilir. Örneğin otozomal resesif polikistik böbrek hastalığında hepatobiliyer tutulum genellikle

böbrek hastalığının şiddeti tarafından gölgelenir. Ancak hastaların yaklaşık dörtte birinde, ilk klinik tablo karaciğer tutulumuna bağlı belirtilerle de ortaya çıkabilmektedir.[77]

Yaygın değişken immün yetmezlikte (CVID) karaciğer tutulumunun bildirilen prevalansı %9 ile %79 arasında değişmektedir.[78,79] Yaygın değişken immün yetmezlik hastalarında, karaciğer tutulumunun iki yaygın fenotipi nodüler rejeneratif hiperplazi ve granülomatöz karaciğer hastalığıdır. CVID'de karaciğer hastalığının ciddiyeti giderek daha iyi tanımlanmakla birlikte, altta yatan sistemik duruma ilişkin araştırmalar hala devam etmektedir. Örneğin, eskiden CVID'in bir parçası olarak kabul edilen aktive edilmiş fosfoinositid 3-kinaz δ sendromu, yakın zamanda TED ile aydınlatılmıştır. Günümüzde fosfoinositid 3-kinaz δ sendromu hastalarının %30'unda karaciğer tutulumunun olduğu bilinmektedir.[80]

Adenozin deaminaz eksikliği ilk olarak erken başlangıçlı laküner inmeler, poliarteritis nodosa, liveoid döküntü ve aralıklı ateş gibi multisistemik özellikleri olan hastalarda tanımlanmıştır.[81] Orijinal kohorttaki 7 hastanın 6'sında hepatosplenomegali gözlenirken, ek hastaların tanımlanması karaciğer tutulumunun daha iyi karakterize edilmesini ve sonraki bir kohortta ise hastaların %16'sında portal hipertansiyonun tespitini sağlamıştır.[82] Benzer şekilde, telomer hastalıklarının pulmoner fibrozis ile ilişkisi iyi bilinirken, hastaların %10-40'ında karaciğer tutulumunun çeşitli fenotipleri de bulunmaktadır .[83,84]

(III) Nedeni bilinmeyen, bilinen karaciğer hastalığı: Biliyer atrezi, PSK ve NAYKH gibi etiyolojisi henüz bilinmeyen ancak iyi tanımlanmış fenotipleri olan karaciğer hastalıklarıdır.

(IV) Bilinmeyen karaciğer hastalığı: Bu grupta, henüz karakterize edilmemiş fenotipik özelliklere sahip ve etiyolojisi bilinmeyen yeni karaciğer hastalıkları yer almaktadır.

Geçmişe dönük bir perspektiften bakıldığında, viral enfeksiyonlar gibi karaciğer hastalıklarının temel nedenlerinden biri, eskiden idiyopatik grup içerisinde bulunmaktaydı. Son on yılda yeni nesil dizileme teknolojilerindeki ilerlemeler, özellikle

de TED yönteminin kullanımı, karaciğer hastalığına neden olan birçok yeni genetik hastalığın belirlenmesine olanak sağlamıştır. Karaciğer hastalığına neden olan bu genetik hastalıkların %50'sinden fazlası son 20 yılda, yaklaşık %25'i ise son 10 yılda tanımlanmıştır.[70]

Çeşitli etiyolojik faktörlere bağlı olarak gelişen karaciğer hastalıkları, biyopside benzer bulgulara sahip olabilmektedir. Ayrıca, aynı genetik hastalığa sahip bireylerde farklı klinik fenotipler görülebilmektedir. Karaciğer hastalıklarının genetik etiyolojisindeki ilerlemeler, klinik ve histopatolojik fenotiplerin tamamlayıcısı olarak kullanılarak ve karaciğer hastalığının mevcut taksonomisini yeniden düzenleyerek, altta yatan moleküler patogenez hakkında yeni bilgiler sağlayabilir.[85] Gerçekleştirdiğimiz araştırma da, TED yönteminin idiyopatik karaciğer hastalıklarının moleküler temelinde aydınlatıcı bir rol oynayabileceğine dair yol gösterici bulgular sunabilir.

2.4 İdiopatik Karaciğer Hastalıklarına Sebep Olan Diğer Genetik Hastalıklar

2.4.1 Klasik Galaktozemi

Galaktozemi genellikle hayatın ilk yılında sarılık, hepatomegali, katarakt, hepatik ve renal disfonksiyonla ortaya çıkan, galaktoz metabolizmasında yer alan üç enzimden birinin eksikliği sonucu gelişen, otozomal resesif kalıtımlı bir karbonhidrat metabolizması hastalığıdır.[86] Teşhis, eritrositlerde galaktoz-1-fosfat seviyeleri ve galaktoz-1-fosfat üridiltransferaz (GALT) enzim aktivitesi ölçülerek veya moleküler genetik testlerle *GALT* genindeki patojenik değişimlerin belirlenmesi ile konulur.

GALT geni, kromozom 9p13 üzerinde konumlanmış olup, 11 adet ekzondan oluşan yaklaşık 4 kb genişliğinde bir yapıya sahiptir.[87] Genin farklı allelik varyantlarında farklı derecelerde enzim aktivitesi görülür. Duarte varyantı, GALT enzim aktivitesinde hafif bir azalmaya neden olur ve hafif klinik belirtiler ile gözlemlenir. Galaktozemi hastalarında temel tedavi diyet ile galaktoz alımının kısıtlanmasıdır.

2.4.2 Herediter Fruktoz İntoleransı (HFI)

Herediter fruktoz intoleransı kusma, büyüme geriliği ve hepatomegali ile karakterize, *ALDOB* genindeki mutasyonlardan kaynaklanan otozomal resesif geçişli bir hastalıktır.[88] *ALDOB* geni 9q31.1 bölgesinde bulunmaktadır ve 9 ekzondan oluşmaktadır.[89]

Aldolaz B, fruktoz 1-fosfatın üç karbonlu şekerler olan gliseraldehit ve dihidroksiaseton fosfata reversibl dönüşümünden sorumludur. Aldolaz B eksikliği, fruktoz-1-fosfatın anormal birikimine yol açar. Bu birikim toksik etki gösterir ve zamanla karaciğer hücrelerinin apoptozuna neden olur. Ek olarak, enerji üretmek ve kan şekeri seviyelerini korumak için vücutta fruktoz-1-fosfatın metabolik ürünlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Herediter fruktoz intoleransı, azalmış hücresel enerji, düşük kan şekeri ve karaciğer hücrelerindeki apoptozun birleşik etkisi ile karakterizedir. [90]

Herediter fruktoz intoleransı vakalarının çoğunda semptomlar çocukluk veya ergenlik döneminde ortaya çıkar. Semptomları yetişkinlik çağında başlayan vakalar da bildirilmiştir.[91] Genetik testler, günümüzde HFI tanısı koymak için altın standarttır. Herediter fruktoz intoleransının erken teşhisi tedavinin erken başlanması, doku hasarı ve büyüme geriliğinin önlenmesi için önemlidir.[92]

2.4.3 Fruktoz 1, 6 Bifosfataz Eksikliği

Fruktoz 1,6 bifosfataz eksikliği, *FBP1* genindeki patojenik değişimlerden kaynaklanan otozomal resesif kalıtımlı bir glukoneogenez yolağı hastalığıdır. *FBP1* geni, insan kromozomunun 9q22.32 bandına lokalizedir ve 8 ekzondan oluşur.[93]

Fruktoz-1, 6-bifosfataz enzimi, glukoneogenezin anahtar düzenleyicisidir. Bu enzim fruktoz-1, 6-bifosfatın, fruktoz-6-fosfat ve inorganik fosfata hidrolizini katalize eder.[94] Eksikliğinde epizodik, sıklıkla yaşamı tehdit eden metabolik asidoz, karaciğer disfonksiyonu ve hiperlaktatemi görülür. Bu hastalığa sahip olgular oruç tutmaktan kaçınma gibi önlemler ve kriz dönemlerinde uygun müdahale, izlem ile normal bir yaşam sürdürebilirler. Ancak, bu hastalarda en büyük sorun, zamanında ve doğru bir tanı

konulmasındaki güçlüktür. Doğru tanı, enzim testi veya genetik testler ile sağlanabilir. Enzim testi invaziv bir yöntem olan karaciğer biyopsisi gerektirdiğinden öncelikli olarak tercih edilmemektedir. Bu nedenle genetik test, tanıyı doğrulamak için en uygun yöntemdir. Tanı konulduktan sonra tedavi uygun şekilde yönetildiğinde prognoz mükemmeldir.[95]

2.4.4 Galaktoz Epimeraz Eksikliği

GALE geni, UDP-glikozun UDP-galaktoza epimerizasyonu ve UDP-N-asetilglukozaminin UDP-N-asetilgalaktozamine epimerizasyonunu katalize eden UDP-galaktoz-4-epimeraz enzimini kodlar. *GALE* geni insan kromozomunun 1p36.11 bandına lokalizedir ve 12 ekzondan oluşur.[96]

GALE genindeki patojenik değişimler otozomal resesif kalıtımlı, galaktokinaz 3 olarak da bilinen galaktoz epimeraz eksikliğine neden olur. Klinik belirtiler değişkendir. Hastalığın generalize, ara ve periferik olmak üzere üç formu bulunur. Periferik formdaki hastalar genelde yüksek miktarda laktoza maruz kaldıklarında bile asemptomatiktir. Ara form, klinik olarak periferik forma benzer. Generalize form, tüm dokularda GALE eksikliğinin olduğu en şiddetli formdur. Hastalar hipotoni, yetersiz beslenme, kusma, kilo kaybı, sarılık, hepatomegali, karaciğer disfonksiyonu, aminoasidüri ve katarakt gibi GALT eksikliğindekine benzer klinik semptomlar gösterir. Tedavi diyetten galaktozun kısıtlanmasıdır.[97]

2.4.5 Kistik Fibrozis

Kistik fibrozis *CFTR* genindeki patojenik değişimlerden kaynaklanan, Kuzey Avrupa'da en sık görülen, otozomal resesif kalıtımlı hastalıktır.[98] Hastalığın prevalansı 1-5/10000 kişidir.[99] Klinik tablo akciğerlerde obstrüksiyon, mekonyom ileusu, tekrarlayıcı akciğer enfeksiyonları, pankreas yetmezliği, infertilite bulgularıyla karakterizedir. *CFTR* geni kromozom 7q31.2'de lokalizedir ve 27 ekzonu vardır.[100]

Bazı kistik fibrozis hastalarında kronik karaciğer hastalığı görülebilir. En sık ve en erken görülen karaciğer değişikliği yağlanmadır. Yenidoğan döneminde bazı olgularda dev hücreli hepatit görülebilir. Kistik fibrozis hastalarının %3-5'inde siroz ve portal hipertansiyon gelişebilmektedir.[101] Fakat karaciğer tutulumu aynı genotipe sahip hastalarda bile farklılık gösterebilir. Bu farklılığa neden olduğu bilinen varyantlar *MBL2* genindeki patojenik değişimler ve *SERPINA1* geninin Z allelidir.[102,103]

2.4.6 Gaucher Hastalığı

En sık lizozomal depo hastalıklarından birisi olan Gaucher hastalığı lizozomal hidrolaz enzimlerinden β-glukozidaz eksikliğine bağlı gelişmektedir.[104] Enzim eksikliğine bağlı olarak lizozom organellerinin içerisinde glukozilseramid molekülleri yıkılamamaktadır.[105] Fakat hastalığın tüm bulguları yalnız yıkılamayan glukozilseramid moleküllerinin birikmesi ile tam olarak açıklanamamaktadır. Güncel bilgilere göre, temel patofizyolojide lizosfingolipid birikimi nedeniyle protein kinaz C inhibisyonuna bağlı hücre hasarı ve hücre ölümü önerilmektedir.[106] Ek olarak, birçok çalışma, nöral hücre ölümüne yol açan *BCL-2* down regülasyonu gibi ek patofizyolojik mekanizmaların varlığına işaret etmektedir.[107]

Gaucher hastalığı geniş bir klinik spektrum göstermektedir. Hastalık infant döneminde ortaya çıkan hepatomegali ve bilateral fikse strabismus bulguları ile kendini gösterebildiği gibi 8. dekatta anemi, trombositopeni bulguları ile de tanı alabilmektedir. Bu farklı klinik özellikleri nedeniyle Gaucher hastalığı klasik olarak üç tipe ayrılmaktadır. Bunlar: tip I veya non-nöropatik tip, tip II veya akut nöropatik tip ve tip III veya subakut nöropatik tip olarak tanımlanmaktadır. Tip I vakaları en sık gözlemlenen Gaucher hastalığı tipini oluşturmaktadır. Birçok vaka hepatosplenomegali, trombositopeni-anemi gibi kemik iliği anomalileri ve iskelet bulgularına sahiptir. Tip I vakalarında genelde santral sinir sistemi tutulumu gözlemlenmese de hastalığın geç bulgusu olarak Parkinson hastalığı gelişebildiği bildirilmiştir. Ek olarak Gaucher hastalarında akciğer tutulumu da görülebilmektedir. Tip II ve tip III Gaucher hastalıkları nöropatik tipler olarak

tanımlanmaktadır ve tip I'de gözlemlenen bulgulara ek olarak santral sinir sistemi tutulumu bulgularına da sahiptirler.

Gaucher hastalığında etiyoloji çoğunlukla *GBA* genindeki patojenik değişimlere bağlıdır ve otozomal resesif kalıtılır. Tanı, periferik kanda lökosit veya diğer çekirdekli hücrelerde yetersiz glukoserebrozidaz (glikozil seramidaz) enzim aktivitesinin (normal glukoserebrozidaz enzim aktivitesinin %0 ile %15 arasında) gösterilmesi ve *GBA* geninde biallelik patojenik değişimlerin gösterilmesi ile koyulur.[108] Fakat *GBA* geninin gerek dizileme gerek delesyon/duplikasyon analizlerinde bu gene yüksek oranda benzerlik gösteren psödogen varlığı (*GBAP*) genetik analizleri güçleştirmektedir. Yapılan dizileme veya delesyon/duplikasyon analiz sonuçları *GBA* geni yerine psödogeni yansıtabilmektedir.

Gaucher hastalarında tanı için genellikle enzim analizleri kullanılsa da öncelikli olarak genomik yöntemlerle tanı konulmak istenildiğinde ilk basamakta *GBA* geninin dizi analizi gerçekleştirilmelidir; ardından, bir patojenik varyant varlığında veya güçlü klinik şüphenin var olduğu durumlarda *GBA* geni hedeflenerek MLPA ve benzeri delesyon/duplikasyon analizleri yapılmalıdır. İlk basamakta yapılan dizileme analizleri sonucunda olguların ~99%'unda patojenik değişim tespit edilebilmektedir. Delesyon duplikasyon analizleri ise olguların yaklaşık %1'lik diliminde patojenik değişim tespit edebilmektedir.[109,110] Gaucher olgularında yapılan genomik analizlerin sonucunda olguların birçoğunda genotipik olarak *GBA* geninde birleşik heterozigot patojenik değişimler tespit edilebilmektedir.[111]

2.4.7 Tirozinemi Tip 1

Tirozinemi Tip 1, *FAH* genindeki patojenik değişimler nedeniyle meydana gelen otozomal resesif kalıtımlı bir hastalıktır. *FAH* geni 15q25.1 kromozomal bölgede bulunmaktadır ve 14 ekzondan oluşmaktadır.[112] Gen tirozin metabolizmasındaki son enzim olan fumaril asetoasetat enzimini kodlar.[113] Tirozinemi tip 1, olgularda infant döneminde hepatomegali, akut karaciğer yetmezliği ve sirozla ortaya çıkabilir. Akut fazda (6. aydan önce) hafif derecede karaciğer sentez bozukluğu, AST, ALT, bilirubin

yüksekliği; tedavi edilmeyen olgularda görülen kronik fazda (6. aydan sonra) karaciğer fonksiyon bozukluğu, kronik böbrek hastalığı, raşitizm, nörolojik krizler ve hepatoselüler kanser görülebilir.[114] Tanısı serum ve idrarda yüksek süksinil aseton δ amino levülinik asit ve serumda yüksek alfa fetoprotein düzeyleri ve / veya *FAH* geni moleküler testleri ile konulur. Nitisinon ve düşük tirozinli diyet ile tedavi sonucu hastaların %90'ında karaciğer yetmezliği kontrol altına alınır ve karaciğer dışı semptomlarda iyileşmeler görülür.[115]

2.5 Tüm Ekzom Dizileme (TED)

21. yüzyılın başlangıcında kısa DNA amplikonlarının masif paralel dizilenmesinin keşfi (yeni nesil dizileme) özellikle tek gen hastalıklarında klinik yaklaşımı değiştirmiştir.[8]

Tüm ekzom dizileme, insan genomunda transkripte olan genlerin ekzonlarını ve ekzon-intron birleşim bölgelerini test eden bir yöntemdir. Genomun yalnızca %1,5-2'lik kısmı protein kodlamaktadır. Ekzom terimi, genomda protein kodlayan bölümler olan ekzonların tamamını ifade etmektedir ve Mendeliyen hastalıklar açısından düşünüldüğünde bilinen patojenik değişimlerin yaklaşık %85'i genomun ekzon bölgelerinde yer almaktadır.[116] Ekzonlarda tespit edilebilen tüm patojenik değişimlerin çeşitlerine bakıldığında değişimlerin %56'sının missense (yanlış anlamlı)/nonsense (anlamsız), %24'ünün küçük insersiyon ve delesyonlar, %10'unun 'splicing' (kırpılma) mutasyonları, %1,8'inin ise düzenleyici mutasyonlar tarafından oluşturulduğu görülmektedir.[116]

Tüm ekzom dizileme yönteminde DNA'nın kodlayan %1,5-2'lik bölümü olan ekzom kısmı dizilenmektedir. Tüm ekzom dizilemede DNA yaklaşık 150 bç'lik fragmanlara ayrılarak dizilenmektedir. Bu fragmanlar içerisinde kodlayan DNA bölgeleri (ekzom) önce 'capture' probları kullanılarak yakalanmakta ardından kalan kodlamayan DNA fragmanları filtrelerden geçirilerek temizlenmektedir. Son basamakta yakalanan ekzom bölgeleri 'massive paralel sequencing' yöntemi ile dizilenmektedir.

Tüm ekzom dizileme ıslak laboratuvar aşamaları sonucu elde edilen ham veriler genetik varyantları tanımlamak için bir dizi biyoinformatik 'pipeline'lar aracılığıyla işlenir. Veriler önce referans genoma hizalanır ve ardından varyantlar, varyant çağırma algoritmaları kullanılarak tespit edilir. Tanımlanan varyantlar daha sonra potansiyel patojenik varyantların tespiti için önceliklendirilir. Bu süreçte tanımlanan varyantlar, varyant veri tabanlarıyla karşılaştırılır ve protein yapısı ve işlevi üzerindeki etkileri değerlendirilir.

Tüm ekzom dizileme monogenik kalıtıma sahip hastalıkların teşhisinde hızlı ve güvenilir bir yöntem olmasına rağmen, genomun geri kalan %98,5'inde düşük kaplama sahip olması nedeniyle düzenleyici bölgelerdeki varyantların, derin intronik varyantların ve büyük yapısal varyantların tespitinde sınırlılıklar bulunmaktadır. Buna rağmen, TED tüm genom dizileme (TGD) yöntemine göre ülkemizde rutinde genellikle daha fazla tercih edilmektedir. Bunun nedeni, TGD yönteminin daha maliyetli olması ve TED'nin varyant fonksiyonu hakkında daha az bilgi bulunan intronik bölgeler gibi genomik bölgeleri değil, ekzon ve kırpılma bölgeleri gibi varyant değerlendirmesinin daha kolay olduğu bölgeleri dizilemesidir. Ayrıca TED yöntemi kullanılarak TGD'ye göre, ilgili bölgelerde çok daha yüksek okuma derinliği elde edilebilmektedir.

Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı TED, çeşitli genetik bozuklukların ve karmaşık hastalıkların tanısında giderek daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Yöntemin teşhis verimi oldukça yüksektir ve yapılan araştırmalar, genetik bozukluk şüphesi olan hastalarda teşhis oranının %25-50 arasında olduğunu göstermektedir.[117,118] Tüm ekzom dizileme, hastalığa neden olan yeni genlerin ve varyantların tanımlanmasını sağlayarak hastalıkların genetik temelinin daha iyi anlaşılmasını sağlar. Tüm ekzom dizileme kullanılarak tanı ve tedavi ilişkili varyantların tanımlanması, hastalar için kişiselleştirilmiş tedavi ve yönetim stratejilerine de rehberlik edebilir.

Tüm ekzomun seçilerek dizilenmesi ilk kez Ng ve ark. tarafından 2009 yılında tanımlanmıştır.[9] Tüm ekzom dizileme sayesinde konulan kesin tanıya işaret eden ilk bildiri, 2009'da Choi ve ark.'nın hipokalemi ile karakterize nadir görülen kalıtsal bir

hastalık olan Bartter sendromu nedeniyle sevk edilen bir hastanın, *SLC26A3* geninde yeni bir homozigot mutasyona sahip olduğunun gösterilmesidir. Bu gendeki mutasyonların konjenital klorür kaybettiren ishale neden olduğu bilinmektedir. Yanlış Bartter sendromu tanısı konulan hasta tekrar değerlendirildiğinde, konjenital klorür kaybettiren ishal tanısının doğru olduğu bulunmuştur.[10] Sonrasında başka araştırmalarda da TED, kompleks ve monogenik hastalıklardaki mutasyonları saptamakta kullanılmaya devam etmiştir.[119–133] Tüm ekzom dizileme çok sayıda nadir, çoğunlukla monogenik genetik bozuklukların yanı sıra, yaygın hastalıklara ve kanserlere predispozan varyantları da ortaya çıkarma potansiyeline de sahiptir.

Tüm ekzom dizileme, hastalığın neden olduğu belirli bir fenotip ile ilişkilendirilen neredeyse tüm genleri inceleyebilme kabiliyetine sahip olmasının yanı sıra, hastalık durumundaki değişikliklere ve genetik bilgilerde kaydedilen gelişmelere göre mevcut verileri gerektiğinde yeniden analiz etme imkânı da sunar. Ayrıca TED, hastalıkla ilişkili olduğu bilinen genlerdeki varyantları tespit etmek için kullanılabileceği gibi, yeni genlerle hastalık arasındaki ilişkiyi kurmak için de kullanılabilir.

Fenotipik veya genetik heterojeniteye sahip bozuklukların veya örtüşen semptomları olan hastaların teşhis edilmesi, genellikle klinik incelemelerde zorlu bir süreçtir. Olgularda ayrıntılı değerlendirme ve tanısal test süreçleri zaman alıcı ve maliyetli olabilir. Tüm ekzom dizileme, zorlu vakaların genetik tanılarına ilişkin önemli bilgi sağlayan bir yöntemdir. Bu nedenle, TED yönteminin, idiyopatik karaciğer hastalığı gibi farklı klinik durumlarla ilişkilendirilebilecek birçok hastalık grubunda faydalı olabileceği düşünülmüştür.

2.6 İdiopatik Karaciğer Hastalıklarında Tüm Ekzom Dizileme ile Tanı

İdiopatik karaciğer hastalıkları hem pediatrik hem erişkin hasta gruplarında önemli bir sağlık yükü oluşturmaya devam etmektedir. Bu hastalıkların taranması ve tanısının geliştirilmesinin yanı sıra, tanı konamayan karaciğer fonksiyon bozukluklarının moleküler nedenlerinin araştırılması da önemlidir. Karaciğer hastalıklarının moleküler alt tiplerini tanımak ve araştırmak, hastaların neden karaciğer hastalığına yakalandığının daha iyi

anlaşılmasını sağlayacak ayrıca karaciğerin fonksiyonu hakkındaki bilgimizi de ilerletecektir. Bu sayede hem nadir hem de yaygın karaciğer hastalıkları için semptomatik ve terapötik müdahalede yeni yollar ortaya çıkarılabilecektir.[70]

Örneğin yapılan bir çalışma protein-protein etkileşim ağ analizlerini kullanarak siroz etyolojisinde rol alan fibroblast growth factor receptor 4 (*FGFR4*), tropomyosin 4 (*TPM4*), tropomyosin 2 (*TPM2*), lectin galactoside-binding soluble 3 binding protein (*LAALS3BP*) ve *APOA1*'i tanımlayarak lipid metabolizmasının düzenlenmesi ve hücre sağkalımının siroz hastalığında yer alan önemli biyolojik süreçler olduğunu göstermiştir.[134] Protein profilleme, protein-protein etkileşimleri ve post translasyonel modifikasyonların karakterizasyonundaki son teknolojik gelişmeler, karaciğer hastalığının araştırılmasında yeni yaklaşımlar sağlamıştır.

İnsan genetiği ve genomik alanındaki ilerlemeler, klinik teşhisin hızlı ve doğru bir şekilde konulabilmesi ve yeni gen keşiflerinin yapılabilmesi için önemli bir fırsat sunmaktadır. İnsan genetiğinde, Mendeliyen hastalıklara neden olan mutasyonların yaklaşık %85'inin, protein kodlayan genlerdeki ekzon veya ekzon-intron birleşim bölgelerinde meydana geldiği bilinmektedir. Tüm ekzom dizileme yöntemi ile bu bölgeler taranmaktadır ve şu anda maliyet, analiz süresi, toplanan bilgiler arasında dikkate değer bir dengeyi temsil ederek, klinik kullanım ve translasyonel araştırma çalışmaları için ilgi çekici ve uygun seçenek haline gelmiştir. Buna rağmen TED araştırmaları genellikle pediatrik ve onkolojik hasta grubuna yönelik devam etmekte, diğer alanlardaki kullanımı sınırlı kalmaktadır. Literatür taraması, idiyopatik karaciğer hastalıklarının TED yöntemiyle araştırılmasının diğer hastalık gruplarına kıyasla yetersiz olduğunu göstermektedir.

Hakim ve ark.'nın 2019 yılında yaptığı bir çalışmada idiyopatik karaciğer hastalığı teşhisi bulunan akraba olmayan 19 erişkinden 5'ine tanı konmuştur. Hastaların %25'ine tanı koyularak TED yönteminde beklenen ortalama tanı yüzdesine ulaşılmıştır. Ayrıca bu çalışma sayesinde Wilson hastalığı gibi sık görülen genetik karaciğer hastalıkları dışında farklı hastalıkların da genetik olarak araştırılması gerektiği ortaya konmuştur. Hasta 1

PPARG geninde patojenik heterozigot varyanta bağlı olarak tip 3 ailesel kısmi lipodistrofi, hasta 2 ve 3 *ABCB4* genindeki resesif mutasyonlar nedeniyle MDR3 eksikliği teşhisi, hasta 4 *NDUFB3* geninde homozigot bir patojenik varyanta bağlı olarak mitokondriyal bozukluk teşhisi, hasta 5 *APOB* geninde patojenik bir heterozigot varyanta bağlı familiyal hiperkolesterolemi teşhisi almıştır. Hastalığın doğru tanısı konulduktan sonra, uygulanan tedavi algoritmalarının değişmesi, hastaların semptomları ve laboratuvar bulgularının gerilemesine yardımcı olmuştur.[11]

Vilarinho ve ark.'nın yaptığı araştırmada, belirsiz etiyolojiye sahip üç pediatrik karaciğer hastasına TED yöntemiyle tanı konulabildiği gösterilmiştir. Bu çalışmada Wilson hastalığı ön tanısı ile araştırılan genetik etiyolojisi belirlenemeyen dekompanse sirozlu hasta 1'de *MPV17* geninde homozigot patojenik değişim, sebebi bilinmeyen akut karaciğer yetmezliği ile takip edilen hasta 2'de *SERAC1* geninde homozigot patojenik değişim, progresif sendromik kolestazı olan hasta 3'te *NOTCH2* geninde biallelik patojenik değişim tespit edilmiştir.[135]

Maddirevula ve ark.'nın kolestatik karaciğer hastalığı olan ve bilinen genlere yönelik test sonucu negatif olan 7 aileye ait hastalara TED analizi yaptığı çalışmada, 3 ailede *KIF12* geninde homozigot varyant, bir ailede *POPX2* geninde homozigot varyant, bir ailede LSR geninde homozigot varyant ve bir ailede *USP53* geninde homozigot genetik varyant belirlenmiştir.[136]

Gunzer ve ark.'nın yaptığı çalışmada bebeklik çağından itibaren nedeni bilinmeyen transaminaz yüksekliği olan 7 yaşında bir kız çocuğunda TED, *haptoglobin* geninde homozigot 3 baz çiftinin çerçeve içi silinmesini ortaya çıkarmıştır. Hastada bu değişim hepatositlerde protein birikimi nedeniyle anhaptoglobinemiye yol açmaktadır. Araştırmanın sonuçlarına göre, Gunzer ve arkadaşları, alfa-1 antitripsin eksikliğine benzer bir patofizyolojik mekanizma ile ilişkili olarak, yüksek karaciğer enzimleri ve doku anormallikleri gibi belirtilerin daha önce bilinmeyen bir haptoglobin depo hastalığından kaynaklandığını öne sürmüşlerdir.[137]

Pelusi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kriptojenik karaciğer hastalığı olan altı yetişkin hastaya TED uygulanmış ve yağlı karaciğer hastalığında poligenik risk skorlaması değerlendirmesi yapılmıştır. Multisistemik tutulum gösteren bir hastada Hermansky-Pudlak sendromu tanısı konulurken, diğer iki hastada *LDLRAP1/MSH6* ve *ALDOB* genlerinde genetik varyantlar tanımlanarak hastaların %17'sinde kesin genetik tanıya ulaşmış, %50'sinde ise fenotipe katkıda bulunabilecek varyantlar bildirmişlerdir.[138]

Kong ve ark.'nın 2022 yılında yaptığı 758 kronik karaciğer hastasının TED verilerini reanaliz ettikleri çalışmada, 959 genden oluşan gen listesi tabanlı TED analizi, kronik karaciğer hastalığı olan olgularda %5,7'lik bir tanı oranı sağlamıştır. Mutasyon saptanan genler arasında *HNF1A*, *PKD1*, *PRKCSH, SEC63, HFE, SERPINA1'*in yer aldığı çalışmada, Alagille sendromu, alfa-1 antitripsin eksikliği, kistik fibrozis ve progresif ailesel intrahepatik kolestaz-2 hastalıklarının da saptandığı bildirilmiştir.[139]

Bu çalışmalarda tespit edilen farklı tanı oranların altında yatan temel nedenin olguların seçimlerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca çalışmaların tamamında trio analiz yapılmaması ile de ilişkili olması muhtemeldir. Trio analizlerde de novo değişimlerin tanımlanabilmesi, aynı gen içerisinde tespit edilen değişimlerin cis/trans durumu hakkında bilgi sahibi olunabilmesi ek avantajlar sağlamakta ve bu sebeple trio analiz kullanılan TED çalışmalarında, tanı oranlarının daha yüksek saptanmasına neden olabilmektedir.

Günümüzde, TED analizi düşük maliyetli ve çoğu klinikte ulaşılabilir olduğu için, idiyopatik karaciğer hastalığı tanı algoritmalarına TED analizinin dahil edilmesi düşünülmelidir. Bunun yanı sıra, genetik keşiflerin hızlı bir şekilde ilerlemesi göz önüne alındığında, teşhis konulamamış bir hastanın genetik sonuçları yeniden analiz edilmeli (belki yılda bir kez) ve bu analiz hastalık sebebi olan bir değişim bulunmadı ise tekrarlanmalıdır. Bazı çalışmalar, ekzom dizilemesi sonrasında tanı konulamayan hastaların %7-10'unun, verilerin tekrar analizi yapıldıktan sonra tanı aldığını göstermektedir.[140,141]

İdiopatik karaciğer hastalıklarının araştırılması, sadece altta yatan patofizyolojinin yeterince anlaşılamadığı hastalar için değil, aynı zamanda normal karaciğer fonksiyonları ve metabolizmasının daha iyi anlaşılması için de büyük önem taşımaktadır. Bu yaklaşım, daha sık görülen karaciğer hastalıklarına uygulanabilen invaziv olmayan teşhis ve tedavi araçlarının geliştirilmesine imkân sağlayabilir. Geçmişte idiyopatik olarak adlandırılan karaciğer hastalığı belirtileri, günümüzde iyi tanımlanmış klinik sendromlar olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, yukarıda özetlenen bilgilerin entegrasyonu ve genişletilmesiyle, günümüzde açıklanamayan karaciğer hastalıkları kolayca teşhis edilebilir hale gelebilir ve gelecekte tedavi edilebilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Örneklem Seçimi

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun 02.02.2022 tarihli 2022/04-06 numaralı onayı ile gerçekleştirildi (Ek-1). Etik kurul onayı alındıktan sonra tez çalışması için Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne TTU-2022-2824 proje kodu ile başvuru yapıldı. Proje, 14.09.2022 tarihinde onaylandı. Gerekli evraklar tamamlandıktan sonra çalışmaya katılmaya gönüllü olan olgulardan aydınlatılmış onam formu alındı (Ek-2).

Araştırmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğine başvurmuş, kriptojenik siroz, sebebi bilinmeyen hepatosteatoz, açıklanamayan KCFT yüksekliği, hepatomegali bulgularından en az birine sahip, sık görülen karaciğer hastalıklarının (Hemokromatozis, Wilson hastalığı, Otoimmün hastalıklar, alfa 1 antitripsin eksikliği, viral hepatitler) klinik olarak ekarte edildiği, şüpheli ve uygun olan durumlarda genetik olarak test edildiği, sorumlu klinisyen tarafından değerlendirilmesinde karaciğer hasarına neden olan aktif toksik ilaç kullanım öyküsü olmayan, metabolik ve gastroenterolojik değerlendirme sonrası belli bir hastalık tanısına yönlendirilemeyen, düşünülen/olası tanılarının ekarte edildiği (her hastaya özel gerekli ek tetkikler uygulanarak), yalnızca KCFT yüksekliğine sahip olgularda karaciğer harici tanısal hastalıklarının olmadığı (Çölyak hastalığı, tiroit hastalığı gibi), klinik takip sırasında bulguların gerilemediği, akut olarak değerlendirilebilecek kısa süreli klinik değişimlerin bulunmadığı hastalar dahil edilmiştir.

Bu çalışmaya, viral hepatit belirteçleri negatif olan, serum demir, demir bağlama kapasitesi, ferritin düzeyleri ve serum transferrin satürasyonu normal olan, Wilson ve AAT eksikliği hastalığının dışlanması için α1-antitripsin ve seruloplazmin düzeyleri normal olan ve otoimmün hepatitin dışlanması için ANA, ASMA, AMA, Anti LKM antikorlarının negatif olduğu hastalar dahil edilmiştir. Aşırı alkol kullanım öyküsü, klinisyen tarafından değerlendirildiğinde karaciğer hasarı oluşumuna sebep olduğu düşünülen aktif toksik ilaç kullanım öyküsü olan, KCFT yüksekliği yapan karaciğer dışı

tanısal hastalıkları olan, klinik takip sırasında bulguları gerileyen, akut olarak değerlendirilebilecek kısa süreli değişimleri bulunan, KCFT yüksekliği grubunda çölyak hastalığı, tiroit hastalığı gibi karaciğer bulgularının nedeni olabileceğini düşündüren ek hastalıkları bulunan ve onamı alınamayan olgular çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışmaya dahil edilebilecek olgular yukarıda belirtilen kriterler kullanılarak belirlendikten sonra, telefon numaraları Probel hastane kayıt sistemi ve Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Genetik Polikliniğinde bulunan hasta dosyalarından elde edilerek iletişime geçildi. Olgular ayrıntılı öykü, özgeçmiş, soygeçmiş ve fiziksel muayene değerlendirmesi amacıyla kontrol muayenelerine çağrıldı.

3.2 Örneklem Olgularının Değerlendirilmesi ve Verilerin Toplanması

Olguların klinik bilgilerine Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD Çocuk Metabolizma Hastalıkları ve Beslenme Bilim Dalı, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD Çocuk Genetik Bilim Dalı polikliniklerindeki hasta dosyalarından ve Probel hastane kayıt sisteminden ulaşıldı. Çalışmaya katılan olguların doğum tarihleri, yaşları, cinsiyetleri, muayene bulguları, bu zamana kadar aldığı tanılar, yapılan genetik tetkikler ve sonuçları, kullandıkları tedaviler sorgulandı. Olguların Dokuz Eylül Hastanesi Gastroenteroloji Anabilim Dalı ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD Çocuk Metabolizma Hastalıkları ve Beslenme Bilim Dalında yapılmış olan muayeneleri ve tetkik sonuçları kaydedildi. Geçmişe yönelik yapılan görüntüleme yöntemleri ve biyopsi sonuçları not alındı. Olguların özgeçmiş ve soygeçmişleri sorgulanarak en az 3 kuşağı dahil edecek şekilde aile ağaçları çizildi.

Araştırma için hastalara ait bilgiler ve tüm ekzom dizileme ile elde edilen varyantlar veri kayıt formlarına işlenerek değerlendirildi (Ek-3). Veri kayıt formları, olgulara ait yaş, cinsiyet, başvuru şikayeti, şikayet başlangıç yaşı, geçirilen operasyonlar, kronik hastalıklar, kullanılan ilaçlar, özgeçmiş, soygeçmiş, parental akrabalık, vücut kitle indeksi, lipit panelleri, yapılan genetik tetkikler, USG ve karaciğer biyopsisi sonuçları, alkol kullanım öyküsü, seruloplazmin ve bakır düzeyleri, AAT düzeyleri, seroloji,

otoimmün belirteçler, ferritin ve transferrin satürasyonları, TED ile tespit edilen varyantlara ait bilgileri içermektedir.

3.3 Periferik Kandan Genomik DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için olgulardan EDTA'lı tüplere 4 ml periferik kan örneği alındı. Saflaştırılmış total genomik DNA elde etmek için spin kolon pürifikasyon tekniğini kullanan "Roche High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Applied Science, Almanya)" kullanıldı. İzolasyon protokolünde üretici firmanın önerileri takip edildi. Yapılan DNA izolasyon ve pürifikasyon işlemleri aşağıda sıralanmıştır:

1. 40 µl proteinaz K, 200 µl 'Lysis buffer' solüsyonu, 200 µl periferik kan 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne eklenir ve 15 saniye (sn) vortekslenir.
2. 72 °C'de 10 dakika inkübasyonda bekletilir.
3. 100 µl izopropanol (%96-100) örneğe eklenir ve pipetajla karıştırılır.
4. Karışım spin kolona aktarılır. Spin kolon temiz 2 ml toplama tüpüne konulur ve 1 dakika (dk) oda sıcaklığında bekletilir.
5. 8000 x g hızında 1 dk santrifüj edilir. Ardından filtrat atılır.
6. 500 µl 'Removal buffer' eklenir. Spin kolon yeni 2 ml toplama tüpüne konulur.
7. 8000 x g hızında 1 dk santrifüj edilir. Ardından filtrat atılır.
8. 500 µl 'Wash buffer 1' eklenir. Spin kolon yeni 2 ml toplama tüpüne konulur.
9. 8000 x g hızında 1 dk santrifüj edilir. Ardından filtrat atılır.
10. 500 µl 'Wash buffer 2' eklenir. Spin kolon yeni 2 ml toplama tüpüne konulur.
11. 8000 x g hızında 1 dk santrifüj edilir. Ardından filtrat atılır. Yeni toplama tüpüne aktarılmadan 13000 x g hızında 1 dk santrifüj edilir. Filtrat atılır.
12. Spin kolon temiz 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alınır ve 100-200 µl 'Elution buffer' veya distile su eklenir. 1-5 dk oda sıcaklığında beklenir.
13. 8000 x g hızında 1 dk santrifüj edilir. Spin kolonlar atılır.
14. Elde edilen DNA'lar saflıkları ve konsantrasyonları belirlendikten sonra, parafilm ile ağızları kapatılarak DNA saklama kutularına konulup -20°C'de saklanır.

3.4 Spektrofotometre ile DNA Konsantrasyon ve Saflığının Belirlenmesi

Çalışmada, konsantrasyon ve saflık ölçümleri için Thermo Fisher Scientific firması tarafından üretilen "NanoDrop ND1000® Spektrofotometre" cihazı kullanıldı. Spektrofotometrik ölçüm, DNA, RNA ve protein gibi maddelerin içinde bulundukları sıvı solüsyondan geçirilen belirli spektrumlardaki ışığın, kimyasal yapılarına ve konsantrasyonlarına bağlı olarak absorbe edilmesi prensibine dayanır. DNA ve RNA gibi nükleik asitler 260 nm'de, proteinler ise 280 nm'de maksimum absorbans gösterirler. Bu nedenle, DNA saflığının analiz için uygun olduğu kabul edilen A260/A280 oranı 1,8-2 aralığıdır. Bu hedef aralıktan daha az olan oranlar çözeltilerde protein kontaminasyonu varlığını gösterirken, daha fazla olan oranlar RNA kontaminasyonunu gösterir.

Bu çalışmada kullanılan DNA örneklerinin A260/A280 oranının 1,8-2,0 arasında olması, konsantrasyonunun ise en az 50 ng/µl olması hedeflendi. Örneklerin ideal saflık oranında olmadığı veya DNA konsantrasyonun yetersiz olduğu durumlarda, örneklerden tekrar DNA izolasyonu yapılmıştır.

3.5 Tüm Ekzom Dizileme (TED)

Tüm ekzom dizileme, genomun protein kodlayan bölgelerini oluşturan ekzomdaki genetik mutasyonların tespitini sağlayan güçlü bir tekniktir. Yapılan çalışma ile toplam 20.000 civarı gen üzerinde bulunan 180.000'den fazla RNA kodlayan ekzon ve tüm bilinen genlerin ekzon-intron birleşim bölgeleri taranmaktadır. Tüm ekzom dizileme yöntemiyle, toplumda sık rastlanan ve hastalık oluşturmayan varyasyonlar kadar, nadir ve kişiye özgü varyantlar da tespit edilebilir. Tespit edilen varyantların tek gen veya multifaktöriyel hastalıkların etiyolojisinde rol alıp almadığı araştırılırken varyantın frekansı, kodladığı protein üzerindeki fonksiyonel etkisi, değişimin ailedeki segregasyonu, sebep olduğu hastalığın kalıtım şekli, 'in silico' prediksiyon programlarından edinilen bilgiler, 'splicing' (kırpılma) etkisi ve mRNA maturasyonu üzerindeki etkileri dikkate alınmaktadır. Yapılan analizde incelenen ekzonlar, genomun yaklaşık %1,5-2'sini oluşturmasına rağmen Mendeliyen hastalıkların %85'inden sorumlu olan varyantların bu bölgede yer aldığı bilinmektedir.[116]

Tüm ekzom dizileme yöntemi, hedef bölgelerin önceden belirlenmesi (yakalama-'capture') ve ardından bu bölgelerin dizilenmesi olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilir. Hedef yakalama ('Capture') işlemi sırasında genomik DNA, rastgele veya belirli bölgelerde kesilerek fraksiyonize edilir. Ardından adaptörler eklenen bu DNA fragmentleri pürifikasyon aşamasından geçirilir. Pürifikasyon aşamasından sonra hastalardan elde edilen ürünler tek bir tüpte birleştirilerek kütüphane hazırlanır. Hazırlanan kütüphane, önceden belirlenmiş problarla hibridize edilerek amplifiye edilir, ardından dizileme işlemi gerçekleştirilir ve biyoinformatik analizler yapılarak varyantlar belirlenir.

Tüm ekzom analizi verilerinin değerlendirilmesinde, temel olarak iki kalite parametresi kullanılmaktadır. Kaplam, hedef bölgenin yüzde kaçının okunduğunu ifade ederken, derinlik; belirli bir bölgenin toplamda kaç defa okunduğunu ifade etmektedir.

Bu tez çalışmasında, hedef yakalama ve zenginleştirme (target capture and enrichment) prensibiyle çalışan 'Twist Bioscience™ Customized Kit for Exome' (Twist Bioscience, Amerika) kiti, üretici firmanın direktifleri doğrultusunda kullanıldı. Kullanılan kitte, hedef bölgenin belirlenmesi için biyotinile edilmiş problar kullanılmıştır. Bu problar, hedef bölge ile hibridize olduktan sonra streptavidin manyetik boncuklar kullanılarak manyetik alan yardımıyla hedef dışı bölgelerden ayrıştırılmış ve çoğaltılmıştır.

Aşağıdaki tablolarda, kütüphane hazırlığı için kullanılan materyaller (Tablo-8) ve ekipmanlar (Tablo-9) gösterilmiştir.

Tablo 8. Tüm ekzom dizileme için kullanılan materyaller

Malzeme	**Marka**
Target Capture NGS kit	Twist Bioscience™ Customized Kit for Exome
DNA Pürifikasyonu için Manyetik Boncuklar	Beckman Coulter™ AMPure XP for PCR Purification
Kütüphane Amplifikasyon Kiti	Roche™ KAPA HiFi HotStart Library Amplification Kit
NGS Reaksiyon Kartuşu	Illumina™ HiSeq X Ten Reagent Kit v2.5
Etanol	MERCK™ Ethanol
Nükleaz İçermeyen Su	MERCK™ Nuclease free water

Tablo 9. Tüm ekzom dizileme için kullanılan ekipman

Ekipman	Marka
Spektrofotometre	Thermo Fisher Scientific™ NanoDrop ND1000® Spectrophotometer
PCR Cihazı	Bio-Rad™ T100 Thermal Cycler
Vorteks	IKA™ Vortex
Santrifüj	Eppendorf™ 5425/5424R
Termal Çalkalayıcı	BIOSAN™ TS-100 Thermo-Shaker
Manyetik Stand	DynaMag™ -2 Magnet
Mikropipet Setleri	Eppendorf™
0.2 ml, 1.5 ml, 2 ml PCR tüpleri	Eppendorf™

3.5.1 Tüm Ekzom Dizileme Islak Laboratuvar Aşamaları

Tüm ekzom dizileme ıslak laboratuvar çalışması için spektrofotometre ile ölçülen A260/A280 oranı 1,8-2,0 olan ve en az 50 ng/µl konsantrasyona sahip DNA örneği kullanıldı. Kütüphane hazırlığı sırasındaki 'wetlab' aşamaları hizmet alımı ile gerçekleştirilmiş olup, biyoinformatik aşamalar ve klinik analizi DEÜTF Tıbbi Genetik AD'da yapıldı. Tüm ekzom dizileme laboratuvar aşamaları özetle 5 teknik aşama içerir. Bunlar sırasıyla; hibridizasyon için kütüphanelerin hazırlanması, (fragmantasyon, açık uç onarımı, A ucu takılması, adaptör ligasyonu, indeks ile işaretleme), "Capture" probları ile kütüphanenin hibridizasyonu, hibridize olan "target" bölgelerin streptavidin boncuk ile izolasyonu, post-capture PCR amplifikasyonu ve pürifikasyonu, son olarak dizileme basamaklarıdır.

TED sırasında uygulanan reaksiyon basamakları sırası ile aşağıdaki gibidir:

DNA Fragmantasyonu: DNA'nın, fragmantaz enzimi ile 37°C'de inkübe edilmesi. Bu yöntem ile 150-250 baz çifti (bç) uzunluğunda DNA fragmanları elde edildi.

Pürifikasyon*: Pürifikasyon işlemi manyetik boncuklar (Magnetik bead) ile yapıldı. Manyetik boncuk çözeltisi önce 30 dakika oda sıcaklığına bekletildi. İki mililitrelik konik dipli tüplere her örnek için eklenen DNA volümünün 1,8 katı manyetik boncuk dağıtıldı. Üzerine fragmantasyon basamağı sonrası elde edilen DNA ürünleri eklendi. Vorteks ve spin yöntemleri ile homojenizasyon sağlandı. Manyetik boncukların DNA'ya bağlanmasını sağlamak amacıyla 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.

Ardından tüpler manyetik standa yerleştirilip, sıvı şeffaf olduğunda süpernatant kısım pipetle atıldı. Tüpler manyetik stand üzerindeyken her tüpe 500 µL etanol (%80) ilave edildi. Otuz saniye bekleme sonrası alkol pipetaj ile uzaklaştırıldı. Bu işlem toplam 2 kez daha tekrarlandı. Kalan alkolü temizlemek için örneklere spin yapıldı ve 10 µL pipetle kalan alkol temizlendi. Alkol tamamen evapore oluncaya kadar beklendi. Tüpler stand üzerindeyken nükleaz içermeyen su eklendi ve stanttan alındı. Vorteks ve spin sonrası 2 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Tekrar standa yerleştirilip, çözeltinin şeffaflaşması sonrası süpernatant yeni tüplere alındı ve sonraki aşamalar için kullanıldı. DNA üzerine uygulanan tüm işlemlerin arasında pürifikasyon tekrarlandı. *

DNA ucu onarımı (End repair): Test kitinde bulunan 'End Repair Mix' üzerine bir önceki basamakta elde edilen DNA ürünü eklenerek 20°C'de 30 dk inkübe edildi.

*Pürifikasyon adımı tekrarlandı.

A ucu takılması (A-tailing): Bu adımda DNA fragmentlerinin ucuna adenilasyon amacıyla test kitinde bulunan A-tailing tüplerinin üzerine bir önceki pürifikasyon basamağından elde edilen DNA ürünü eklendi. Örnekler 30°C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı.

*Pürifikasyon adımı tekrarlandı.

Adaptör Ligasyonu: Bir önceki pürifikasyondan elde edilen süpernatant ligasyon tüplerine eklendi. Üzerine kitin içerisinde bulunan adaptör eklendi. 15 dk 20°C'de inkübasyon yapıldı. Ardından USER enzimi eklenip ve 37°C'de 15 dk inkübe edildi.

*Pürifikasyon adımı tekrarlandı.

İndeks ile İşaretleme: Dual indeks (ikili indeks) seti kullanıldı. İndeksler aynı anda birden fazla örneğin tek bir tüpte birleştirilmesi ve eş zamanlı sekanslanmasını mümkün kılan primer dizileridir. Çalışmada i5 ve i7 olarak adlandırılan evrensel dual indeks sistemi kullanılmıştır. Bir önceki adımdan elde edilen DNA ürünü, 'KAPA Library Amplification Mix' ve indeks primerleri ile reaksiyon karışımı oluşturulup PCR cihazına kondu ve kit kullanım kılavuzunda önerilen PCR protokol basamakları uygulandı.

*Pürifikasyon adımı tekrarlandı.

Prob Hibridizasyonu: Kitin içerisinde bulunan Blok miks, Hibridizasyon miks ve Target 'Capture' probları ile hibridizasyon reaksiyon çözeltisi hazırlandı. Örnekler 16 saat 65°C'de inkübe edildi.

Streptavidin boncuk ile hedef kütüphanenin seçilmesi: Hibridizasyon basamağından sonra elde edilen örnekler streptavidin boncuklar ve kitin içerisinde bulunan yıkama çözeltileri ile seri yıkama işleminden geçirildi. Elde edilen DNA ürünü hedef kütüphaneyi oluşturmaktadır.

Hedef kütüphanenin amplifikasyonu: Elde edilen hedef kütüphane universal PCR primerleri ile amplifiye edildi. Son kez pürifikasyon adımı tekrarlandı. Yürütme öncesi hedef bölgeleri seçilmiş, indekslenmiş kütüphanenin konsantrasyon kontrolü yapıldı.

Illumina Cihazı ile Yeni Nesil Dizileme: Kütüphane hazırlama kiti ile elde edilen indekslenmiş örnekler tek bir tüpte birleştirildikten sonra Illumina™ HiSeq cihazı kartuşuna yüklendi. Reaksiyon kartuşu ve akış hücresi ('flow cell') cihaza yerleştirildi. Cihazdan elde edilen veri, "FASTQ" formatında alındı.

3.5.2 Tüm Ekzom Dizileme Biyoinformatik Analizi

Tüm ekzom dizileme sonucunda elde edilen ham veriler, FASTQ formatında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda analiz edildi; veriler hizmet alımı yapılan merkezde kaydedilmedi. Ham veriler, SEQ (Genomize, Türkiye) analiz programı kullanılarak Şubat 2009 (GRch37/hg19) tarihinde güncellenen insan genom dizisi referans alınarak hizalandı, sıralandı, varyant çağırma, güvenilirlik skorlaması ve varyant anotasyonu işlemlerinden geçirildi.[142] Hizalama ve sıralama işlemleri için *Burrows-Wheeler-Aligner* programı, varyant çağırma ('variant calling') için ise optimize edilmiş haplotip tabanlı FreeBayes programı SEQ platformu içerisinde kullanılmaktadır. Varyantların güvenilirliğinin değerlendirilmesi için primer ve sekonder kaplam eşiği, alternatif/yabanıl allel oranı eşiği, iplikçik eğilimi değeri eşiği ve heterozigot varyantlar için her iki iplikçikteki alternatif/yabanıl allel oranı eşiği şeklinde beş parametre dikkate alındı. Varyantlar, tüm parametrelerden geçtiğinde yüksek güvenilirlik, bir veya daha fazla parametreden başarısız olduğunda düşük güvenilirlik, primer kaplam eşiğini

geçemediğinde ise yetersiz güvenilirlik olarak sınıflandırıldı. Yetersiz güvenilirlik olarak kategorize edilen varyantlar değerlendirilmeye alınmadı. Hg19 insan referans genomuna hizalanmış fragmanlardan, kalite kontrol basamaklarından geçirilip, varyant çağırma ve anotasyon basamaklarından işlenerek elde edilen varyantlar, ileri filtrelendirme adımları ile patojenisite açısından değerlendirildi. Tüm olgular için, 20.000 civarı gen hedef bölgesinde en az 20x derinlik ve minimum %98 kaplam oranı veri elde edilmesi hedeflendi.

3.5.3 Tüm Ekzom Dizileme Verilerinin Klinik Analizi

Saptanan varyantların patojenite sınıflandırmasında Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Derneği'nin 2015 yılında yayınlanan güncel kılavuzu esas alınmıştır.[143] Bu kılavuza göre varyantlar benign, muhtemel benign, klinik önemi belirsiz, muhtemel patojenik ve patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Varyantların sınıflandırılması işlemi esnasında kullanılan veriler aşağıda belirtilmiştir:

- Varyantın tipi (nonsense, missense, stop vb.),
- Varsa daha önce bildirilmiş aynı aminoasit değişiminin patojenitesi,
- Bilinen fonksiyonel çalışmasının olup olmaması,
- Toplumda minör allel frekansı ve merkez içi frekansı,
- Varsa eski vaka-kontrol çalışmalarındaki frekansları,
- Protein üzerinde mutasyonel `hotspot' bir noktada yer alıp almaması,
- Biallelik olup olmaması,
- Protein uzunluğu üzerindeki etkisi,
- *In silico* analiz verileri (SIFT, PolyPhen, CADD, MetaLR ve REVEL prediksiyon araçları, MutationTaster, ADA ve RF skoru)
- Uluslararası veri tabanlarındaki veriler
- Varyantın sebep olduğu hastalığın kalıtım modeli göz önüne alınarak heterozigot/homozigot tespiti
- Human Phenotype Ontology (HPO) terimi ile tespit edilen varyant ile genin ilişkisi

Varyantların patojenite sınıflandırmasında SEQ platformu, Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enstitüsü'ne ait ClinVar veri tabanı, Varsome (Saphetor, İsviçre), Franklin (Genoox, ABD), VarSeak (JSI, Almanya) ve NGS Cloud (Pairend, Türkiye) analiz platformlarından da yararlanıldı.

Analiz edilen varyantlara ait genlerin klinik olarak yorumlanması için OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man®) veri tabanı ile hastaların klinik bulguları ile ilişkili 'Human Phenotype Ontology (HPO)' terimleri kullanılarak ve literatür taraması yapılarak, karaciğer ilişkili bilinen genler, karaciğer ilişkili yolak genleri, diğer model organizmalarda karaciğer ilişkisi gösterilen ancak insan fenotipi gösterilmeyen genler önceliklendirildi. Yapılan birinci basamak incelemeler sonucunda ACMG kriterleri ile klinik uyumlu bilinen genlerde tanı alamayan olgular aday gen ve varyant belirlenebilmesi amacıyla, ikinci basamak incelemede "VariEd", "DAVID", "STRING" veri tabanları ve literatür taramaları kullanılarak incelendi.

Çalışmamızda filtrelenen hedef varyantlar hücresel yolaklardaki varyant yüklerinin araştırılması amacıyla DAVID veri tabanında işlevsel zenginleştirmeye tabii tutuldu.[144] Bu sayede karaciğer patofizyolojisinde rol alan hücresel yolaklarda anlamlı artmış varyant yükü varlığı değerlendirildi. Değerlendirme sırasında *Benjamini-Hochberg* metodunda $p<0,05$ olan hücresel yolaklar anlamlı kabul edildi.[145]

DAVID ('Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery') veri tabanı, 'National Institute of Allergy and Infectious Diseases' ve 'National Institutes of Health' desteği ile geliştirilmiştir ve ilk olarak 2003 yılında piyasaya sürülmüştür.[144] Veri tabanı 'Gene Ontology' terimleri, 'pathway' bilgileri, protein domainleri ve 'KEGG', 'BioCarta', 'Reactome' gibi çeşitli veri tabanlarından gelen fonksiyonel anotasyon datalarını entegre etmektedir.

Hastalık teşhisinde kullanımı, hastalık patogenezi ile ilişkili anahtar biyolojik 'pathway'lerin ve fonksiyonel anotasyonların tanımlanmasını sağlamaktadır. Çalışmamızda kullandığımız 'pathway' analizi özelliği, bir gen listesiyle ilişkili önemli biyolojik yolların tanımlanmasını sağlar.

Üç adet geniş, kapsayıcı HPO terimi ve Panelapp (https://panelapp.genomicsengland.co.uk/) sitesi kullanılarak karaciğer hastalıklarıyla ilişkilendirilmiş genler belirlendi. Karaciğer hastalıkları ile ilişkili geniş ve kapsayıcı 'Abnormality of the liver HP:0001392', 'Elevated hepatic transaminase HP:0002910', 'Abnormality of hepatobiliary system physiology HP:0025155' HPO terimleri kullanıldı. Her 3 terimde ortak olan genler çıkarılarak toplam 1.133 gen filtrelendi. Mitokondriyal 18 gen çıkarıldığında geriye 1.115 gen kaldı.[146] Panelapp sitesinde karaciğer hastalıkları ile ilişkilendirilmiş "mitokondriyal karaciğer hastalıkları", " neonatal kolestaz", "polikistik karaciğer hastalıkları" panelleri de kullanılarak bir önceki gen serisiyle ortak olmayan ilişkilendirilmiş 13 gen daha gen tablosuna dahil edildi.[147] Sonuç olarak, tablo 10'da gösterilen toplam 1.128 gen elde edildi. Varyant tespit edilen genlerin, olguların klinik özelliklerini kapsayan 1.128 gen ile fonksiyonel olarak ilişkili olup olmadığı, STRING ('Search Tool for Recurring Instances of Neighboring Genes') programı kullanılarak değerlendirildi.

STRING, protein-protein etkileşimlerinin kapsamlı bir değerlendirmesini sağlamak için hesaplamalı tahminler, organizmalar arasındaki bilgi transferi ve veri tabanlarından gelen verileri birleştirir. STRING ilk olarak 2000 yılında piyasaya sürülmüştür. Kurulduğu zamandan beri yeni verileri dahil etmek ve protein-protein etkileşimlerinin kalitesini artırmak için sürekli olarak güncellenmektedir. Eldeki verilere göre, şu anda 5.000'den fazla organizmadan toplam 24 milyondan fazla proteine ilişkin veriler içeren STRING veri tabanı, mevcut en büyük protein-protein etkileşimi veri tabanlarından biri olarak kabul edilmektedir.

STRING, protein-protein etkileşimlerinin analizini mümkün kılmak için çeşitli özellikler sunar. Bu özellikler, etkileşen proteinlerin tanımlanmasını, protein-protein etkileşim ağlarının görselleştirilmesini ve fonksiyonel zenginleştirme analizini içermektedir. STRING veri tabanı ayrıca her protein-protein etkileşimi için güvenilirlik puanları sağlayarak verilerin güvenilirliği hakkında bilgi sunar. Veri tabanının araştırmalarda kullanımı, hastalık patogenezleri ile ilişkili kritik protein-protein etkileşim ağlarının belirlenmesine olanak tanımıştır.[148]

Araştırmamızda tablo 10'da yer alan genler içerisinde önceliklendirilen varyant bulunan genler ile, STRING programında bu genler ile minimum 0.7 ve üzeri etkileşim skoru olan (yüksek güvenilirlikli) varyantları olan genler, aday gen olarak kabul edildi.[148] STRING programında araştırılacak sinonim olmayan tek nükleotid değişimi varyantları, REVEL ("Rare Exome Variant Ensemble Learner"), MetaLR algoritma skorlarına göre önceliklendirilerek seçildi. [133-136]

İkinci basamak incelemede filtrelenen hedef varyantların karaciğerdeki ekspresyon seviyeleri VariED (http://varied.cgm.ntu.edu.tw) veri tabanında değerlendirildi.[149] VariED programında araştırılacak sinonim olmayan tek nükleotid değişimi varyantları da, REVEL, MetaLR algoritma skorlarına göre önceliklendirilerek seçildi.

VariED, insan hastalıklarıyla ilgili varyantlar için gen anotasyonu ve ekspresyon profillerinin entegre edildiği ilk veri tabanıdır. Genotype-Tissue Expression (GTEx) projesi ve İnsan Protein Atlası'ndan (HPA) alınan veriler dahil olmak üzere çeşitli dokular ve hücre tipleri için gen ekspresyon profilleri hakkında bilgi içerir.[149] VariED'in temel özelliklerinden biri, genetik varyantları gen ekspresyon profillerindeki değişikliklere bağlama yeteneğidir. Bu bilgi, genetik varyantların fonksiyonel etkilerini belirlemek ve varyant önceliklendirmek için kullanılabilir. Ekspresyon profilleme çalışmaları daha önce yapılan yayınlarda da, meme kanseri gibi hastalıklarla ilişkili potansiyel fonksiyonel değişkenlerin tanımlanması amacıyla kullanılmıştır.[152]

Bu çalışmada, VariED'in temel hizmetlerinden biri olan ekspresyon profilleme özelliği kullanılmıştır. Platformun 'Expression profiles' bölümü açılarak ardından 'species' bölümünde 'Homo sapiens' seçilmiştir. Aday olarak düşünülen genler 'gene symbol' bölümüne yazıldıktan sonra doku tabanlı gen ekspresyon profillemesi kısmında 'liver' seçilmiştir. Aday varyanta ilişkin genin karaciğerde ekspresyonunun bulunması pozitif bulgu olarak değerlendirilmiştir.[149]

REVEL, SIFT, PolyPhen-2, MutPred, FATHMM v2.3, VEST 3.0, PROVEAN, MutationAssessor, MutationTaster, LRT, GERP++, SiPhy, phyloP, and phastCons 'in-silico' analiz programlarının skorlarının entegrasyonuyla, nadir missense varyantların

patojenite tahmininde kullanılan bir analiz programıdır. REVEL skorunun diğer patojenite tahmin araçlarına göre daha yüksek performans gösterdiği ve klinik genetik ve genom araştırmalarında değerli bir araç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

REVEL skorlamasında 0-1 arası değerler tespit edilmekte ve bu değerler varyantın patojenisite olasılığını yansıtmaktadır. REVEL skorlaması, tanımlayıcı bir tahmin yapmamakla birlikte geliştiriciler, 0,5 değerinin üzerindeki değerleri muhtemel hastalık yapıcı, altındakileri ise muhtemel benign olarak önermişlerdir. Ioannidis ve arkadaşları ise spesifitenin arttırılması amacıyla, REVEL skoru için 0,75 ve üzeri skorların patojenik olarak kabul edilebileceğini belirtmiştir.[150] Yine aynı çalışmada daha sensitif bir analiz amaçlandığında bu sınırın 0,5 olarak da kabul edilebileceği belirtilmiştir. Çalışmamızda, varyant seçiminde spesifitenin artırılması ve ileri çalışmalarda ilk adımda yol gösterici olması amacıyla, REVEL skoru 0,5 ile 0,75 arasındaki değerler VUS olarak, 0,75'ten üzerindeki değerler ise patojenik lehine değerlendirildi.

MetaLR, "dbNSFP" projesi kapsamında elde edilen 37 algoritmadan elde edilen skorların birleştirilerek sinonim olmayan tek nükleotid değişimlerinin puanlandığı bir algoritmadır. Skorlama işlemi sırasında, varyantların protein üzerindeki etkisi ve allel frekans bilgilerinin dahil edildiği bir lojistik regresyon modeli kullanılmaktadır. İşlem sonucunda 0-1 arasında kantitatif sonuç elde edilmektedir ve varyantlar '*tolerated'* ve *'damaging'* olarak iki kategoriye sınıflandırılmaktadır.[153,154]

ABCA1	ALG2	ATP7A	BTD	CDKN2A	CPT1A	DNAJC21	EXTL3	FUCA1	GSTM3	HOXD13	IL36RN	KRAS
ABCA12	ALG3	ATP7B	BTK	CEACAM3	CPT2	DNAJC30	F13A1	G6PC1	GSTZ1	HPD	IL6	KRIT1
ABCB11	ALG5	ATP8B1	BTNL2	CEACAM6	CR2	DNASE1L3	F13B	G6PC3	GTF2I	HPGD	IL6ST	KRT18
ABCB4	ALG6	ATPAF2	BUD23	CEL	CREBBP	DNASE2	F5	G6PD	GTF2IRD1	HSD17B10	IL7R	KYNU
ABCC2	ALG8	ATRX	C1QBP	CEP120	CSF3R	DOCK6	FADD	GAA	GTF2IRD2	HSD17B4	INPP5E	LACC1
ABCC6	ALG9	AUH	C1S	CEP164	CSPP1	DOLK	FAH	GABRD	GUCY2D	HSD3B7	INPPL1	LARS1
ABCC8	ALMS1	AXIN1	C2orf69	CEP19	CTBP1	DPAGT1	FAM111B	GALE	GUSB	HSPG2	INS	LARS2
ABCD3	AMACR	B2M	C4B	CEP290	CTC1	DPF2	FAN1	GALK1	GYPC	HYMAI	INSR	LBR
ABCG5	ANK1	B3GLCT	CA2	CEP83	CTCF	DPM1	FANCA	GALM	GYS2	HYOU1	INTU	LCAT
ABCG8	ANKRD55	B4GALT1	CACNA1S	CFAP418	CTLA4	DPM2	FANCB	GALNS	H19	IARS	INVS	LDHA
ABHD5	ANKS6	B9D1	CALR	CFH	CTNNB1	DPM3	FANCC	GALT	H4C3	IARS1	IQCB1	LDLR
ACAD9	ANTXR1	B9D2	CARS2	CFI	CTNS	DUOX2	FANCD2	GANAB	HACD1	ICOS	IRAK4	LDLRAP1
ACADM	AP1B1	BAAT	CASK	CFTR	CTRC	DUOXA2	FANCE	GATA2	HADH	IDS	IRF2BP2	LETM1
ACADS	AP1S1	BAP1	CASP10	CHD7	CTSA	DYNC2H1	FANCF	GATA6	HADHA	IDUA	IRF4	LHX1
ACADVL	AP3B1	BAZ1B	CASP8	CIDEC	CTSC	DYNC2I1	FANCG	GATC	HADHB	IER3IP1	IRF5	LHX3
ACAT1	AP3D1	BBIP1	CASR	CIITA	CTSK	DYNC2I2	FANCI	GBA	HAMP	IFIH1	ITCH	LHX4
ACOX1	APC	BBS1	CASZ1	CLCA4	CYBA	DYNC2LI1	FANCL	GBA1	HAVCR2	IFNG	ITK	LIG3
ACP5	APC2	BBS10	CAV1	CLCN7	CYBB	DZIP1L	FANCM	GBE1	HBA1	IFNGR1	IYD	LIG4
ACSF3	APOA1	BBS12	CAVIN1	CLDN1	CYBC1	EARS2	FARSA	GCDH	HBA2	IFT122	JAG1	LIMK1
ACTG2	APOB	BBS2	CBL	CLEC7A	CYC1	EDNRA	FARSB	GCGR	HBB	IFT140	JAK1	LIPA
ACVR2B	APOC2	BBS4	CBS	CLIP2	CYP19A1	EFL1	FAS	GCK	HBG1	IFT172	JAK2	LIPE
ACVRL1	APOE	BBS5	CC2D2A	CLPB	CYP27A1	EHHADH	FASLG	GCLC	HBG2	IFT27	JAK3	LIPT1
ADA	APPL1	BBS7	CCDC115	CNOT1	CYP7A1	EIF2AK3	FBN1	GDF2	HELLPAR	IFT43	JAM2	LMBRD1
ADA2	ARG1	BBS9	CCDC28B	CNTNAP2	CYP7B1	EIF4H	FBP1	GFM1	HESX1	IFT74	JAM3	LMNA
ADAMTS13	ARHGAP31	BCAT2	CCDC47	COA8	DAXX	ELN	FBXL4	GGCX	HEXB	IFT80	JMJD1C	LMNB2
ADAMTSL2	ARID1A	BCHE	CCND1	COG1	DCDC2	ENG	FCGR2A	GH1	HFE	IGF2	KCNAB2	LONP1
ADAR	ARID1B	BCL7B	CD19	COG2	DCLRE1C	ENPP1	FCGR3B	GIMAP5	HFE2	IGF2R	KCNH1	LPIN1
ADK	ARID2	BCS1L	CD247	COG4	DCTN4	EOGT	FDX2	GLB1	HGSNAT	IGHG2	KCNJ11	LPIN2
AGA	ARL13B	BICC1	CD27	COG5	DDOST	EP300	FECH	GLIS3	HIRA	IGHM	KCNN3	LPL
AGGF1	ARL6	BICRA	CD28	COG6	DDRGK1	EPB41	FERMT3	GLRX5	HJV	IGKC	KCNN4	LRP5
AGL	ARMC5	BLK	CD3D	COG7	DEF6	EPB42	FGA	GNAS	HK1	IGLL1	KCNQ1	LRPPRC
AGPAT2	ARSA	BLM	CD3E	COG8	DGUOK	EPCAM	FGFR2	GNB2	HLA-B	IKBKG	KCNQ1OT1	LRRC8A
AHCY	ARSB	BLNK	CD40LG	COMT	DHCR7	EPHX1	FGFRL1	GNE	HLA-DQA1	IKZF1	KDM5C	LSM11
AIRE	ARVCF	BLVRA	CD46	COQ2	DHDDS	EPM2A	FH	GNMT	HLA-DQB1	IL12A	KIAA0586	LTBP3
AKR1D1	ASAH1	BMP2	CD55	CORIN	DHFR	ERBB3	FKBP6	GNPTAB	HLA-DRB1	IL12RB1	KIF12	LUZP1
AKT2	ASL	BMP6	CD70	COX14	DIS3L2	ERCC1	FLI1	GNS	HMBS	IL17F	KIF20A	LYRM4
ALAS2	ASS1	BMPER	CD79A	COX15	DKC1	ERCC4	FLNC	GP1BB	HMGCL	IL17RA	KIF23	LYST
ALDH1A2	ASXL1	BMPR1A	CD79B	COX16	DLD	ERCC6	FLT1	GPBAR1	HMGCS2	IL17RC	KIF3B	LYZ
ALDOA	ATAD3A	BOLA3	CD81	COX4I2	DLK1	ERCC8	FOCAD	GPC3	HMOX1	IL18BP	KIT	LZTFL1
ALDOB	ATM	BPGM	CD96	COX5A	DLL4	ESCO2	FOS	GPC4	HNF1A	IL1RN	KLF1	LZTR1
ALG1	ATP11C	BRCA1	CDAN1	CP	DMD	ETFA	FOXF1	GPD1	HNF1B	IL21R	KLF11	MAD2L2
ALG11	ATP6AP1	BRCA2	CDIN1	CPA1	DMPK	ETFB	FOXP3	GPI	HNF4A	IL2RA	KMT2B	MADD
ALG12	ATP6AP2	BRIP1	CDKN1B	CPLX1	DNAJB11	ETFDH	FOXRED1	GPIHBP1	HNRNPA1	IL2RB	KMT2E	MAGT1
ALG13	ATP6V1B2	BSCL2	CDKN1C	CPOX	DNAJC19	EWSR1	FTL	GPR35	HNRNPA2B1	IL2RG	KPTN	MAN2B1

Tablo 10. Herediter karaciğer hastalıkları ile ilişkilendirilmiş genler[107,108]

MAPK8IP3	MST1	NDUFS6	P4HA2	PIEZO1	PRSS1	RFXAP	SLC25A19	SOX11	TERC	TRAF3IP1	USP9X
MARS1	MTM1	NDUFS7	PALB2	PIGA	PRSS2	RHAG	SLC25A20	SOX4	TERT	TRAF3IP2	UTP4
MCCC1	MTRR	NDUFS8	PALLD	PIGG	PSAP	RHBDF2	SLC25A4	SP110	TET2	TRAPPC11	VCP
MCM4	MTTP	NDUFV1	PARN	PIGM	PSMB10	RHCE	SLC26A4	SPEN	TF	TREX1	VHL
MECOM	MTX2	NDUFV2	PARS2	PIGS	PSMB4	RHD	SLC26A9	SPIB	TFAM	TRHR	VIPAS39
MECP2	MUC5B	NEK1	PAX4	PIK3C2A	PSMB8	RINT1	SLC27A5	SPINK1	TFE3	TRIM28	VPS11
MED12	MVK	NEK8	PAX8	PIK3CA	PSMB9	RIPK1	SLC29A3	SPOP	TFR2	TRIM32	VPS13A
MED25	MYBPC3	NELFA	PC	PIK3CG	PSMG2	RIT1	SLC2A1	SPRED2	TG	TRIM37	VPS33A
MEFV	MYC	NEU1	PCCA	PIK3R1	PSTPIP1	RMND1	SLC2A2	SPRTN	TGFB1	TRIP13	VPS33B
MEG3	MYD88	NEUROD1	PCCB	PKD1	PTEN	RMRP	SLC30A10	SPTA1	TGFBR2	TRMT10C	VPS37D
MET	MYH9	NEUROG3	PCK1	PKD2	PTPN11	SDHB	SLC34A2	SPTB	TIMMDC1	TRMT5	VPS45
METTL27	MYL2	NFKB1	PCK2	PKHD1	PTPN2	SDHC	SLC35A2	SPTBN1	TINF2	TRMU	VPS4A
MFN2	MYO5B	NFKB2	PCSK1	PKLR	PTPN22	SDHD	SLC35C1	SRD5A3	TJP2	TRPV6	VPS50
MICOS13	MYORG	NFS1	PCSK9	PLAGL1	PTPN3	SEC23B	SLC37A4	SRP54	TKFC	TSC1	VPS51
MICU1	MYPN	NGLY1	PDE11A	PLEKHM1	PTPRC	SEC24C	SLC38A3	SRSF2	TKT	TSC2	WDPCP
MIF	MYRF	NHLRC1	PDE8B	PLIN1	PTRH2	SEC61B	SLC39A4	STAT1	TLR8	TSFM	WDR19
MKKS	NAA10	NHLRC2	PDGFB	PMM2	PUS7	SEC63	SLC39A8	STAT2	TMEM107	TSHB	WDR35
MKS1	NAB2	NHP2	PDGFRA	PMS1	PYGL	SEMA4A	SLC40A1	STAT3	TMEM126B	TSHR	WDR83OS
MLH1	NAGA	NKX2-5	PDGFRB	PMS2	QRSL1	SEMA4D	SLC44A1	STAT4	TMEM165	TTC21B	WRAP53
MLH3	NAGLU	NLRP1	PDGFRL	PNPLA2	RAB27A	SEMA7A	SLC4A1	STAT6	TMEM199	TTC26	WRN
MLXIPL	NAGS	NLRP3	PDPN	PNPLA6	RABL3	SERPINA1	SLC51A	STEAP3	TMEM216	TTC7A	WT1
MMAA	NBAS	NOD2	PDX1	PNPT1	RAC2	SETBP1	SLC51B	STK11	TMEM231	TTC8	XIAP
MMAB	NCF1	NOP10	PEPD	POLD1	RACGAP1	SETD2	SLC5A5	STN1	TMEM237	TUFM	XK
MMACHC	NCF2	NOS3	PERCC1	POLG	RAD51	SF3B1	SLC6A14	STOX1	TMEM270	TULP3	XPR1
MMEL1	NCF4	NOTCH1	PEX1	POLG2	RAD51C	SFTPA2	SLC7A7	STX11	TMEM67	TWNK	XRCC2
MMP23B	NCKAP1L	NOTCH2	PEX10	POLR3A	RAF1	SFTPC	SLC9A3	STX1A	TMEM70	TXNDC15	XRCC4
MMUT	NDUFA1	NPC1	PEX11B	POMC	RAG1	SGSH	SLCO1B1	STXBP2	TMPRSS6	TYMP	XYLT1
MOGS	NDUFA11	NPC2	PEX12	PORCN	RAG2	SH2B1	SLCO1B3	SUCLG1	TNFRSF11A	TYMS	YARS1
MPC1	NDUFA6	NPHP1	PEX13	POU1F1	RASA2	SH2D1A	SLCO2A1	SUMF1	TNFRSF13B	UBE2T	YARS2
MPI	NDUFAF1	NPHP3	PEX14	POU2AF1	RASGRP1	SHPK	SLX4	SUPT16H	TNFRSF13C	UBE4B	ZAP70
MPL	NDUFAF2	NPHP4	PEX16	POU6F2	RBCK1	SKI	SMAD4	SURF1	TNFRSF1A	UBR1	ZFTA
MPV17	NDUFAF3	NPM1	PEX19	PPARG	RBM8A	SKIC2	SMARCA4	SYK	TNFRSF1B	UCP2	ZFYVE19
MRAS	NDUFAF4	NR1H4	PEX2	PPOX	RBPJ	SKIC3	SMARCB1	TALDO1	TNFSF11	UFD1	ZIC3
MRM2	NDUFAF5	NRAS	PEX26	PPP1R21	RECQL4	SLC10A1	SMARCC2	TANGO2	TNFSF12	UGT1A1	ZNF699
MRPL3	NDUFAF8	NSD1	PEX3	PRDM16	REL	SLC10A2	SMARCD1	TARS2	TNFSF15	UNC13D	ZNFX1
MRPL44	NDUFB10	NSD2	PEX5	PRF1	RELA	SLC11A1	SMARCE1	TBL2	TNNI3	UNC45A	ZPR1
MRPS16	NDUFB11	NSMCE2	PEX6	PRIM1	RERE	SLC11A2	SMPD1	TBX1	TNNT2	UQCRB	
MRPS2	NDUFB3	NUBPL	PEX7	PRKACA	REST	SLC16A2	SNX10	TBX19	TNPO3	UQCRC2	
MRPS23	NDUFB8	OCLN	PFKM	PRKAR1A	RFC2	SLC17A5	SNX14	TCF3	TOGARAM1	UQCRFS1	
MRPS28	NDUFB9	OCRL	PGM1	PRKCD	RFT1	SLC20A2	SOCS1	TCF4	TOM1	UROD	
MRPS7	NDUFS1	OFD1	PHKA2	PRKCSH	RFWD3	SLC22A5	SON	TCIRG1	TP53	UROS	
MS4A1	NDUFS2	OSTM1	PHKB	PRKCZ	RFX5	SLC25A1	SOS1	TCTN1	TPI1	USB1	
MSH2	NDUFS3	OTC	PHKG2	PROP1	RFX6	SLC25A13	SOS2	TCTN2	TPO	USP18	
MSH6	NDUFS4	OTUD5	PI4KA	PRPS1	RFXANK	SLC25A15	SOX10	TCTN3	TPP2	USP53	

Tablo 10 (Devamı). Herediter karaciğer hastalıkları ile ilişkilendirilmiş genler[107,108]

4. BULGULAR

4.1 Tüm Ekzom Dizileme Bulguları

Çalışmamızda on örneğe TED analizi yapılması planlandı. Çalışmaya dahil edilmesi planlanan olgu V ve olgu VIII, süreç içerisinde dış merkezde yapılan klinik ekzom dizileme (KED) testi sonucunda klinikleri ile uyumlu patojenik varyantlar tespit edilmesi nedeniyle proje dışı bırakıldı. Bu hastaların yerine, uygun iki hasta belirlenerek tüm ekzom dizileme çalışıldı. Böylece toplam hasta sayısı on ikiye tamamlandı. Klinik ekzom dizileme yapılan hastaların FASTQ dataları ilgili merkezden alınarak reanalizi yapıldı. Tüm ekzom dizileme ve KED sonucu elde edilen veriler VCF formatında değerlendirilerek kalite kontrol aşamasından geçirildi. Olgu VII hariç tüm olgularda 50x okuma derinliğinde en az %93 kaplam verisine ulaşıldı. Tüm ekzom dizileme analizinde ortalama okuma sayısı 64,3 milyon, klinik ekzom dizileme analizinde ortalama okuma sayısı 27,2 milyon olarak tespit edildi. Analiz öncesi elde edilen TED verilerinin kalite parametreleri tablo 11'de, KED verilerinin kalite parametreleri tablo 12'de gösterilmiştir.

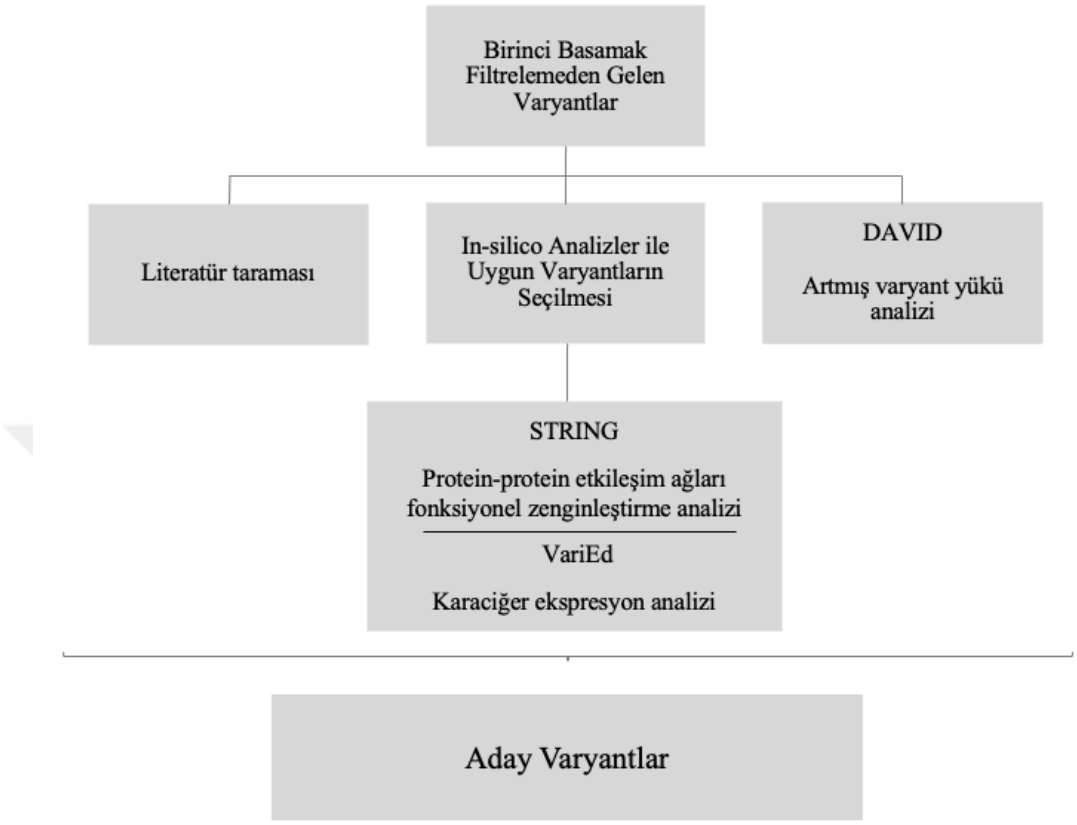
Tablo 11. TED kalite parametreleri (Ti/Tv: Transisyon/Transversiyon oranı)

Olgular	Okuma Sayısı (milyon)	Ortalama Derinlik	Ti/Tv Oranı	Het/Hom Oranı	En az 20 kere (20x) okunan baz yüzdesi	En az 50 kere (50x) okunan baz yüzdesi
Olgu I	68,9	149,5	2,1	1,58	%99,19	%97,10
Olgu II	63,5	137,49	2,13	1,53	%99,30	%96,79
Olgu III	59,4	127,65	2,11	1,56	%98,94	%96,01
Olgu IV	56,6	125,65	2,25	1,15	%98,94	%92,74
Olgu VI	67	148,73	2,23	1,31	%99,24	%96,11
Olgu VII	51,5	114,52	2,26	1,32	%99,06	%91,66
Olgu IX	66,6	148,59	2,25	1,46	%99,42	%96,35
Olgu X	58,9	132,46	2,26	1,43	%99,35	%94,41
Olgu XI	91,3	196,55	2,19	1,38	%99,51	%98,30
Olgu XII	59,1	130,53	2,25	1,33	%99,13	%93,93

Tablo 12. KED kalite parametreleri (Ti/Tv: Transisyon/Transversiyon oranı)

Olgular	Okuma Sayısı (milyon)	Ortalama Derinlik	Ti/Tv Oranı	Het/Hom Oranı	En az 20 kere (20x) okunan baz yüzdesi	En az 50 kere (50x) okunan baz yüzdesi
Olgu V	26,37	149,05	1.84	1.31	%98.83	%97.15
Olgu VIII	28,04	165,2	1.84	1.37	%99.18	%97.30

Yapılan TED analizi sonucunda olgularda ortalama 34.977, KED analizi sonucunda olgularda ortalama 8927 varyant saptandı. Her bir olguda GnomAD, ESP6500, ExAC, 1000Genome veri tabanları incelenerek MAF<0.001 olan varyantlar önceliklendirildi. Ardından RefSeq veri tabanında var olan transkriptler temel alınarak ekzonlarda ve kırpılma bölgelerinde (ekzon-intron sınırı, +10, -10 bp) yer alan varyantlar önceliklendirildi. Kalan varyantlar arasından, Türkiye geneli SEQ veri tabanında MAF<0.001'in üzerinde olanlar önceliklendirildi. Filtreleme sonrasında elde edilen varyantlar ACMG kriterleri kullanılarak sınıflandırıldı. Sınıflandırılma sırasında "VarSome", "Franklin Genoox", "VarSeak", "NGS Cloud" ve "SEQ Genomize" varyant sınıflandırma programlarından faydalanıldı. LP/P olarak sınıflandırılan varyantlar, hastanın kliniğini açıkladığı ve literatürdeki bildirimlere uygun olduğu durumlarda etiyolojik varyant olarak kabul edildi. Birinci basamak sonunda etiyolojik tanısal varyantın bulunmadığı olgular ikinci basamak filtrelemeler ile aday varyant tespiti için incelendi. İkinci basamak incelemelerinde olgular VariEd programı kullanılarak ve özellikle REVEL, MetaLR 'in-silico' prediksiyon sınıflandırması baz alınarak incelendi. "DAVID", "STRING" programları kullanılarak yolak analizi ve protein etkileşimleri değerlendirildi. Ek olarak literatür taraması yapılarak, tespit edilen varyantların karaciğer hastalıkları ilişkisi değerlendirildi (Şekil 1).



Şekil 1. Tüm Ekzom Dizileme İkinci Basamak Veri Analizinde İzlenilen Strateji

DAVID veri tabanında artmış varyant yükü bulunan yolakların tespit edilmesi amacıyla hedef varyantların ait olduğu gen listeleri 'Official Gene-Symbol' isimleri ile girildi. Referans genom ve 'background' olarak 'homo sapiens' kullanıldı. 'Benjamini' protokolünde $p<0,05$ değerine sahip yolaklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Yapılan incelemede;

- Artmış varyant yükü olan ortak yolak tespit edilmedi.
- Olgu I'de tat iletimi yolağında ($p=0,0031$),
- Olgu X'da koku iletimi yolağında ($p=2,5x10^{-5}$) artmış varyant yükü tespit edildi.

Literatür tarandığında karaciğerde homeostatik fonksiyonların sürdürülmesi için çeşitli olfaktör ve tat reseptörlerinin yolaklarda kullanıldığına ilişkin çalışmalar mevcuttur.[155–157] Bu nedenle hastalarımızda bulunan yolaklardaki artmış varyant yükü ile

karaciğer fonksiyon bozukluğu ilişkisinin araştırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

4.2 Olguların Klinik Özellikleri ve Ekzom Dizileme Sonuçları

Olgularda saptanan klinik bulgular ve ekzom dizileme sonuçları aşağıda özetlenmiştir. Olgulara ait klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular ilişkili tablolarda belirtilmiştir.

4.2.1. Olgu I'e Ait Klinik Bulgular:

25 yaşında kadın hasta, rutin bakılan tetkiklerinde insidental tespit edilen KCFT yüksekliği nedeniyle 11 yıldır takip edilmekteydi. Baş dönmesi, mide bulantısı, halsizlik şikayetlerinin sürekli devam ettiği öğrenildi. Ayrıca idiyopatik trombositopeni ve işitme kaybı mevcuttu. 2020 yılında yapılan USG'sinde hepatomegali tespit edilmişti. Otoimmün hepatit olabilir diye düşünülerek tedavi başlanmış, ancak fayda görmeyince bırakılmıştı.

Tablo 13. Olgu I'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

AST: 70 U/L (↑) **ALT:** 116 U/L (↑)	**ALP:** 139 U/L (↑) **GGT:** 58 U/L (↑)	**AAT:** 143 mg/dL (N)
Seruloplazmin: 33 mg/dL **(**N) **Bakır:** 152 µg/dL (N) **İdrar bakır:** Normal	**Otoimmün belirteçler:** **(ANA, ENA, ASMA, AMA, Anti LKM, Anti CCP):** Negatif **IgG4:**0,27 (N) **IgG**:1215 mg/dL (N)	**Seroloji (HBV, HCV, HEV, HIV):** Negatif
Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Yok **Boy:** 152 cm **Vücut ağırlığı:** 54 kg	**Lipid paneli:** Total kolesterol: 256 mg/dL (↑) Trigliserid: 162 mg/dL (↑) LDL: 163 mg/dL (↑)	**Ferritin: 1**3 ng/mL (N) **Transferrin satürasyonu:**10,9 (N)
Metabolik tetkikler: Normal		
Görüntüleme bulguları: Batın USG (2020): Karaciğer normalden büyük (16 cm), parankim normal Abdomen MR (2017): Hepatomegali MR kolanjiografi: Hepatomegali Kraniyal MRG: Flairde sağ frontal lob subkortikal lokalizasyonlu 2 adet yüksek sinyal gösteren oluşum		

Tablo 13 (Devam). Olgu I'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Patoloji bulguları: 2013 yılı karaciğer biyopsisi: Normal, PAS+ depolanma yok. 2017 yılı karaciğer biyopsisi: Morfolojik limitlerde karaciğer dokusu. Bakır boyası ile fokal alanlarda sitoplazmik pozitif boyanma saptanmıştır. Wilson hastalığına spesifik olmamakla birlikte klinikle birlikte değerlendirilmesi önerilir. Bakır (+), demir (-), Kongo (-), Amiloid A (-) 2020 yılı karaciğer biyopsisi: Portal ve lobüler alanlarda orta düzey inflamasyon. Histokimyasal bakır birikimi saptanmamıştır.
Genetik tetkikler(devam): ***ATP7B*, *ATP7C* dizi analizi:** Normal ***SERPINA1* dizi analizi:** Normal ***GBA*, *NPC1*, *NPC2* dizi analizi:** Normal **Serebrotendinoz ksantomatozis (*CTX*) dizi analizi:** Normal **Herediter karaciğer hastalıkları paneli (*AHCY*, *NPC1*, *TALDO1*, *MAT1A*, *GNMT*, *GALE*, *ALDOB*, *GALT*, *CBS*, *FAH*, *SLC25A13*, *NPC2*, *GALK1*):** Normal **Glikojen depo hastalıkları paneli:** Normal, *AGL* geninde, klinik önemi bilinmeyen c.3635T>C değişimi
Ek muayene ve tetkik bulguları: Çölyak antikorları: Negatif — EKO: Normal Göz hastalıkları muayenesi: Normal — Trombosit: 102 (10*3/uL) (↓) Kulak burun boğaz muayenesi: Hafif işitme kaybı — TSH: 1,14 m[IU]/L (N) Periferik yayma: Yarısı makrotrombositik, yarısı normal boyutlarda trombositler. 100 nötrofil hücresi sayıldığında 3-4 hücrede "Döhle" benzeri cisimcikler

Alınan soygeçmiş öyküsünde dayısının kızında da idiyopatik karaciğer hastalığı olduğu, 15 yaşında idrar tetkiki ve karaciğer biyopsisi ile Wilson hastalığı tanısı konularak takip edildiği öğrenildi. Ancak yapılan genetik tetkiklerinde Wilson hastalığı patojenik varyantı saptanmamıştı. Şu anda 28 yaşında olan olgu primer sklerozan kolanjit ön tanısıyla takip edilmekteydi. (Şekil 2, Olgu I). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu I), filtrelemeler sonucunda tespit edilen aday varyantlar (Tablo 25) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.2. Olgu II'ye Ait Klinik Bulgular:

20 yaşında erkek hasta, hepatosplenomegali ve siroz nedeniyle 3 yıldır takip edilmekteydi. 2 yıldır karın ağrısı şikâyeti olduğu öğrenildi. Trombositopenisi mevcuttu.

ANA ve IgG düzeyleri sınırda yüksek saptanmış ancak gastroenteroloji değerlendirmesi sonucu otoimmün hepatit düşünülmemişti.

Tablo 14. Olgu II'ye ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

<table>
<tr><td>AST: 26 U/L (N)</td><td>ALP: 78 U/L (N)</td><td>AAT: 128 mg/dL (N)</td></tr>
<tr><td>ALT: 25 U/L (N)</td><td>GGT: 48 U/L (N)</td><td></td></tr>
<tr><td>Seruloplazmin: 21 mg/dL (N)
Bakır: 152 µg/dL (N)
İdrar bakır: -</td><td>Otoimmün belirteçler (ENA, ASMA, AMA, Anti LKM): Negatif IgG: 2,5 mg/dL (↑) ANA: Pozitif, benekli</td><td>Seroloji (HAV, HBV, HCV, HIV, Brucella): Negatif</td></tr>
<tr><td>Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Yok
Boy: 172 cm
Vücut ağırlığı: 74 kg</td><td>Lipid paneli:
Total kolesterol:133 mg/dL (N)
Trigliserid: 59 mg/dL (N)
LDL: 74 mg/dL (N)</td><td>Ferritin: 39 ng/mL (N)
Transferrin satürasyonu: 40 (N)</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Metabolik tetkikler:</u> Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Görüntüleme bulguları:</u>
Batın USG: Karaciğer normal boyutlarda olup parankim belirgin kaba ve heterojen olup mikronodüler görünüm mevcuttur. Karaciğer sirozu?
Üst abdomen MRG: Karaciğer boyutları normaldir. İç yapısı homojendir. Karaciğer sağ lob 6-7 düzeyinde subplevral yamasal belirgin kitle formu oluşturmayan parankimal kontrastlanma izlenmektedir. Bu bulgu kronik parankim hastalığına bağlı değişiklik olarak yorumlanmıştır. İntra ve ekstra hepatik safra yolları doğaldır. Dalak boyutu uzun aksda 160 mm ile artmıştır.</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Patoloji bulguları:</u>
2021 yılı karaciğer biyopsisi: Hafif derecede aktif interface hepatit, modifiye hepatit indeksi 3/18, fibrozis evre 2/6, glikojen birikimi, biliyer duktus harabiyeti görülmedi. Demir ve bakır birikimi görülmedi. İnterselüler inklüzyon görülmedi.</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Genetik tetkikler:</u>
Herediter karaciğer hastalıkları paneli (AHCY, NPC1, TALDO1, MAT1A, GNMT, GALE, ALDOB, GALT, CBS, FAH, SLC25A13, NPC2, GALK1): Normal
GBA, NPC1, NPC2, SMPD1 dizi analizi: SMPD1 geni, ekzon 5, c.1474G>A klinik önemi bilinmeyen değişim.
SMPD1 MLPA: Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Ek muayene ve tetkik bulguları:</u>
Periferik yayma: Normal EKO: Normal
Göz muayenesi: Normal Kulak Burun Boğaz muayenesi: Normal</td></tr>
</table>

Soygeçmişine bakıldığında 1. derece kuzen evliliği bulunmaktaydı. (Şekil 2, olgu II). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu II), filtrelemeler sonucunda tespit edilen aday varyantlar (Tablo 26) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.3. Olgu III'e Ait Klinik Bulgular:

45 yaşında kadın hasta, iki yıl önce diyabetes mellitus nedeniyle geçirdiği mide küçültme operasyonu sırasında, karaciğerinde anormallik fark edilmesi nedeniyle alınan karaciğer biyopsisi sonucu siroz tanısı almıştı. 5 yıl önce de katarakt tanısı konulmuştu. Hashimato tiroiditi tanısı nedeniyle levotiroksin kullanmaktaydı.

Tablo 15. Olgu III'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

<table>
<tr><td>AST: 38 U/L (↑)
ALT: 43 U/L (N)</td><td>ALP: 51 U/L (N)
GGT: 92 U/L (↑)</td><td>AAT: 173 mg/dL (N)</td></tr>
<tr><td>Seruloplazmin: 22 mg/dL (N)
Bakır: 104 µg/dL (N)
İdrar bakır: -</td><td>Otoimmün belirteçler (ANA, ASMA, AMA, Anti LKM):
Negatif</td><td>Seroloji (HAV, HBV, HCV, HEV, HIV): Negatif</td></tr>
<tr><td>Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Levotiroksin
Boy: -
Vücut ağırlığı: -</td><td>Lipid paneli:
Total kolesterol: 142 mg/dL (N)
Trigliserid: 53 mg/dL (N)
LDL: 96 mg/dL (N)</td><td>Ferritin: 70 ng/mL (N)
Transferrin satürasyonu: 32 (N)</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Metabolik tetkikler:</u> Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Görüntüleme bulguları:</u>
Portal ven renkli doppler USG: Hepatik venler ve inferior vena kava normal.
Batın USG: Karaciğer yaklaşık 125 mm, konturları düzensiz, lobüle, parankim ekosu kabalaşmış ve heterojen.</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Patoloji bulguları:</u>
Operasyon sırasında alınan karaciğer biyopsisi: Subkapsüler nodüler değişiklik
2021 yılı karaciğer biyopsisi: Sirotik karaciğer dokusu, hafif düzeyde steatoz</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Genetik tetkikler:</u>
Herediter karaciğer hastalıkları paneli (AHCY, NPC1, TALDO1, MAT1A, GNMT, GALE, ALDOB, GALT, CBS, FAH, SLC25A13, NPC2, GALK1): Normal, GALT geninde, klinik önemi bilinmeyen, c.940 A>G değişimi
Serebrotendinoz ksantomatozis (CTX) dizi analizi: Normal
GLA (Fabry) dizi analizi: Normal
GBA, NPC1, NPC2 dizi analizi: Normal
Glikojen depo hastalıkları paneli: Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Ek muayene ve tetkik bulguları:</u>
Çölyak hastalığı antikorları: Negatif
EKO: Sol ventrikül diastolik disfonksiyon grade 1
Göz: Arka subkapsüler katarakt</td></tr>
</table>

Soygeçmişinde, 20'li yaşlarda Hodgkin lenfoma teşhisi konulmuş üç akrabası ve sebebi bilinmeyen karaciğer hastalığı olan üvey halası olduğu tespit edildi. (Şekil 2, olgu III). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu III), filtrelemeler sonucunda tespit edilen aday varyantlar (Tablo 27) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.4. Olgu IV'e Ait Klinik Bulgular:

7 yaşında kız hasta, inek sütü alerjisi nedeniyle 6 aylıkken yapılan tetkikleri esnasında KCFT yüksekliği tespit edilmişti. Hasta o zamandan beri, idiyopatik karaciğer hastalığı olarak takip edilmekteydi. 2 yıl önce yapılan göz muayenesi sonucunda retinal pigmentasyon tespit edilmişti. Gelişim basamakları normal ve okul başarısı iyiydi. Dismorfik bulgusu yoktu.

Tablo 16. Olgu IV'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

<table>
<tr><td>AST: 218 U/L (↑)
ALT: 192 U/L (↑)</td><td>ALP: 214 U/L (N)
GGT: 15 U/L (N)</td><td>AAT: 99 mg/dL (N)</td></tr>
<tr><td>Seruloplazmin: 31 mg/dL (N)
Bakır: 151 µg/dL (N)
İdrar bakır: -</td><td>Otoimmün belirteçler (ANA, ASMA, AMA, Anti LKM):
Negatif IgG4: 0.384 (N)</td><td>Seroloji (HAV, HBV, HCV, EBV, CMV, Toxoplasma, Rubella):
Negatif</td></tr>
<tr><td>Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Yok
Boy: -
Vücut ağırlığı: -</td><td>Lipid paneli:
Total kolesterol: 170 mg/dL (N)
Trigliserid: 43 mg/dL (N)
LDL: 114 mg/dL (N)</td><td>Ferritin: 9,3 ng/mL (N)
Transferrin satürasyonu: -</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Metabolik tetkikler:</u> Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Görüntüleme bulguları:</u>
Batın USG: Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Genetik tetkikler:</u>
GBA, NPC1, NPC2 dizi analizi: Normal
Glikojen depo hastalıkları paneli: Normal
Glikojen depo hastalıkları tip 9: Normal
ATP7B geni dizi analizi: Normal
Yağ asidi oksidasyon paneli: Normal
Kolestaz paneli: Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Ek muayene ve tetkik bulguları:</u> Göz: Retinal pigmentasyon</td></tr>
</table>

Soygeçmişte anne ve babası arasında 1. derece kuzen evliliği bulunmaktaydı. Halasında doğuştan işitme kaybı mevcuttu, diğer halasının 4 yaşındaki kızında böbrek nakli sonrası (sebebi bilinmiyor) ortaya çıkan KCFT yüksekliği mevcuttu (Şekil 2, olgu IV). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu IV), filtrelemeler sonucunda tespit edilen aday varyantlar (Tablo 28) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.5. Olgu V'e Ait Klinik Bulgular:

26 yaşında kadın hasta, 6 yıl önce kriptojenik siroz tanısı konulmuştu. 2 kere varis kanaması geçirdiği öğrenildi. CHILD skoru B, MELD NA 18 olarak belirlenmişti. Hasta transplantasyon sürecinde değerlendirildiği için ayrıntılı öykü alınamadı.

Tablo 17. Olgu V'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

<table>
<tr><td>AST: 231 U/L (↑)
ALT: 155 U/L (↑)</td><td>ALP: 515 U/L (↑)
GGT: 180 U/L (↑)</td><td>AAT: 165 mg/dL (N)</td></tr>
<tr><td>Seruloplazmin: 48 mg/dL (N)
Bakır: 148 µg/dL (N)
İdrar bakır: -</td><td>Otoimmün belirteçler (ENA, ASMA, AMA, Anti CCP Anti LKM): Negatif ANA: Pozitif</td><td>Seroloji (HAV, HBV, HCV, HIV EBV, CMV, Rubella, Toxoplasma): Negatif</td></tr>
<tr><td>Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Yok
Boy: -
Vücut ağırlığı: -</td><td>Lipid paneli:
Total kolesterol: 134 mg/dL (N)
Trigliserid: 103 mg/dL (N)
LDL: 92 mg/dL (N)</td><td>Ferritin: 79 ng/mL (N)
Transferrin satürasyonu: 23 (N)</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Metabolik tetkikler:</u> Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Görüntüleme bulguları:</u>
Batın USG: Karaciğer sirozu, splenomegali ve asit ile uyumlu bulgular
Abdomen Doppler: Hepatik venler ve inferior vena cava normal
Batın MRG: Kronik karaciğer hastalığı, portal hipertansiyon ile uyumlu bulgular, splenomegali</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Genetik tetkikler:</u>
GBA, NPC1, NPC2 dizi analizi: Normal
Herediter karaciğer hastalıkları paneli (AHCY, NPC1, TALDO1, MAT1A, GNMT, GALE, ALDOB, GALT, CBS, FAH, SLC25A13, NPC2, GALK1): Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Ek muayene ve tetkik bulguları:</u>
Nörolojik muayene: Normal
Nefroloji muayenesi: Normal
Kulak burun boğaz muayenesi: Normal
Göz muayenesi: Normal</td></tr>
</table>

Soygeçmişte ablasında genç yaşta karaciğer sirozu ve karaciğer transplantasyonu öyküsü mevcuttu. Sebebinin bilinmediği öğrenildi. Ebeveynleri 200 haneden küçük bir köydendi, ancak akrabalık durumunun bilinmediği belirtildi (Şekil 2, olgu V). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu V), filtrelemeler sonucunda tespit edilen aday varyantlar (Tablo 29) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.6. Olgu VI'ya Ait Klinik Bulgular:

7 yaşında kız hasta, 4 yıl önce kaşıntı nedeniyle tetkik edilirken KCFT yüksekliği saptanmıştı. Dış merkez takipli hastanın epikrizinde geçici kolestaz bulguları yaşadığı belirtilmişti. Sezaryenle 25 gün erken doğum öyküsü gerçekleştiği öğrenildi. Postnatal izlemde emmeme şikâyeti olmuştu. Motor gelişim basamaklarının normal olduğu öğrenildi. Dismorfik bulgusu yoktu. İdiopatik karaciğer hastalığı ön tanısı ile takip edilmekteydi.

Tablo 18. Olgu VI'ya ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

AST: 171 U/L (↑) **ALT:** 185 U/L (↑)	**ALP:** 199 U/L (N) **GGT:** 31 U/L (N)	**AAT:** 151 mg/dL (N)
Seruloplazmin: 0,3 g/L (N) **Bakır:** 105 µg/dL (N) **İdrar bakır: -**	**Otoimmün belirteçler (ANA, ASMA, AMA, Anti LKM):** Negatif	**Seroloji (CMV, Rubella, HAV, HBV, Toxoplasma):** Negatif
Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Yok **Boy:** 128 cm **Vücut ağırlığı:** 23 kg	**Lipid paneli:** Total kolesterol:155 mg/dL (N) Trigliserid: 58 mg/dL (N) LDL: 87 mg/dL (N)	**Ferritin:** 51 ng/mL (N) **Transferrin satürasyonu:** 14 (N)
Metabolik tetkikler: Normal		
Görüntüleme bulguları: Batın USG: Karaciğer ve safra yolları normal. Safra kesesi lümeni içerisinde 7 mm boyutlu kalkül izlendi. Kranial MRG: Normal MRCP: Normal Portal ven renkli Doppler USG: Normal		
Patoloji bulguları: 2020 karaciğer Tru-Cut iğne biyopsi: Fokal fibröz portal genişleme ve hepatositlerde PAS (+) materyal birikimi mevcut. DPAS boyama negatif, demir ve bakır birikimi yok. Hastanın öncelikli glikojen depo hastalıkları yönünden araştırılması önerilir.		

Tablo 18 (Devam). Olgu VI'ya ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Genetik tetkikler: **Glikojen depo hastalıkları paneli:** Normal ***UGT1A1* (Crigler Najjar Sendromu tip 1, 2) dizi analizi:** Normal ***MEFV* (FMF) hotspot mutasyon analizi:** Normal ***ATP8B1* dizi analizi:** Normal ***ATP7B* dizi analizi:** Heterozigot, klinik önemi bilinmeyen, c. 1727C>T (p.A576V) değişimi ***ATP7B* MLPA:** Normal ***LIPA* geni dizi analizi:** Normal **Alagille sendromu FISH delesyon değerlendirmesi:** Normal ***PFIC1***: Normal ***GBA*, *NPC1*, *NPC2* dizi analizi:** Normal **Herediter karaciğer hastalıkları paneli (*AHCY*, *NPC1*, *TALDO1*, *MAT1A*, *GNMT*, *GALE*, *ALDOB*, *GALT*, *CBS*, *FAH*, *SLC25A13*, *NPC2*, *GALK1*):** Normal
Ek muayene ve tetkik bulguları: TSH: 1,94 (N) Çölyak hastalığı antikorları: Negatif EKO: Normal. Göz muayenesi: Miyop görme bozukluğu (-6 diyoptri), metabolik hastalık, Alagille ve Wilson hastalığı açısından değerlendirme normal.

Soygeçmiş sorgulamasında anne ve babası arasında 1. derece kuzen evliliği bulunmaktaydı. 2,5 yaşında erkek kardeşinde de KCFT yüksekliği mevcut olduğu ancak daha sonradan düzeldiği öğrenildi. Babasının babası 55 yaşında karaciğer kanseri nedeniyle ex olmuştu. Hastanın annesinin amcasında karaciğer hastalığı olduğu ve sonrasında kansere dönüştüğü öğrenildi. (Şekil 2, olgu VI). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu VI), filtrelemeler sonucunda tespit edilen varyantlar (Tablo 30) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.7. Olgu VII'ye Ait Klinik Bulgular:

30 yaşında erkek hasta, bilinen psöriazis ve Hashimato tiroiditi nedeniyle 2 yıl önce metotreksat başlanması için romatoloji hastalıklarında karaciğer kontrolü yapılırken, batın USG'de hepatosplenomegali saptanmıştı.

Tablo 19. Olgu VII'ye ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

AST: 15 U/L (N) **ALT:** 13 U/L (N)	**ALP:** 85 U/L (N) **GGT:** 26 U/L (N)	**AAT:** 151 mg/dL (N)
Seruloplazmin: 29 mg/dL (N) **Bakır: -** **İdrar bakır: -**	**Otoimmün belirteçler (ANA, ASMA, AMA, Anti LKM):** Negatif	**Seroloji (EBV, Parvovirüs, HAV, HBV, HCV, HIV):** Negatif
Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Yok **Boy: -** **Vücut ağırlığı: -**	**Lipid paneli:** Total kolesterol: 151 mg/dL (N) Trigliserid: 173 mg/dL (↑) LDL: 75 mg/dL (N)	**Ferritin:** 93 ng/mL (N) **Transferrin satürasyonu:** 29 (N)
Metabolik tetkikler: Normal		
Görüntüleme bulguları: Batın USG: Karaciğer TVU 16,5 cm ile normalden büyüktür, düzgün konturludur. Parankim ekojenitesi ve ekopaterni normaldir. Fokal lezyon saptanmamıştır. Vasküler dağılım normaldir. Portal ven renkli Doppler USG: Portal sistem açıktır. Hepatomegali, hepatosteatoz, hafif splenomegali Abdomen MRG: Hepatosplenomegali		
Patoloji bulguları:		
Genetik tetkikler: ***GBA*, *NPC1*, *NPC2* dizi analizi:** Normal **Herediter karaciğer hastalıkları paneli (*AHCY*, *NPC1*, *TALDO1*, *MAT1A*, *GNMT*, *GALE*, *ALDOB*, *GALT*, *CBS*, *FAH*, *SLC25A13*, *NPC2*, *GALK1*):** Normal		
Ek muayene ve tetkik bulguları: CK: 61 (N) Kulak Burun Boğaz muayenesi: Normal Göz muayenesi: Normal Lizozomal Asit Lipaz: Normal		

Soygeçmiş sorgulaması sonucunda, ebeveynlerin 1. derece kuzen olduğu tespit edilmiş olup, karaciğer hastalığına yönelik başka ek bulgular bulunmamaktaydı (Şekil 2, olgu VII). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu VII), filtrelemeler sonucunda tespit edilen varyantlar (Tablo 31) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.8. Olgu VIII'e Ait Klinik Bulgular:

42 yaşında erkek hasta, 1 yıl önce karın ağrısı şikayetiyle hastaneye başvurduğunda yapılan tetkikler sonucu hepatomegali tespit edilmişti. Ancak herhangi bir etiyolojik neden belirlenememişti. Hasta idiyopatik karaciğer hastalığı olarak takip edilmekteydi.

Tablo 20. Olgu VIII'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

AST: 24 U/L (N) **ALT:** 15 U/L (N)	**ALP:** 79 U/L (N) **GGT:** 67 U/L (↑)	**AAT:** 183 mg/dL (N)
Seruloplazmin: 24 mg/dL (N) **Bakır:** 112 µg/dL (N) **İdrar bakır: -**	**Otoimmün belirteçler (ANA, ASMA, AMA, Anti LKM):** Negatif	**Seroloji (HAV, HBV, HCV, HIV):** Negatif
Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Yok **Boy: -** **Vücut ağırlığı: -**	**Lipid paneli:** Total kolesterol: 221 mg/dL (↑) Trigliserid: 219 mg/dL (↑) LDL: 126 mg/dL (N)	**Ferritin: -** **Transferrin satürasyonu: -**
Metabolik tetkikler: Normal		
Görüntüleme bulguları: Abdomen BT: Hepatomegali, sol inguinal herni Portal ven renkli Doppler USG: Portal sistem açıktır. Hepatomegali, hepatosteatoz		
Patoloji bulguları:		
Genetik tetkikler: ***GBA*, *NPC1*, *NPC2* dizi analizi:** Normal **Herediter karaciğer hastalıkları paneli (*AHCY*, *NPC1*, *TALDO1*, *MAT1A*, *GNMT*, *GALE*, *ALDOB*, *GALT*, *CBS*, *FAH*, *SLC25A13*, *NPC2*, *GALK1*):** Normal		
Ek muayene ve tetkik bulguları: -		

Soygeçmiş sorgulamasında herhangi bir özellik yoktu. (Şekil 2, olgu VIII). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu VIII), filtrelemeler sonucunda tespit edilen varyantlar (Tablo 32) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.9. Olgu IX'a Ait Klinik Bulgular:

36 yaşında erkek hasta, 2010 yılında yaygın değişken immün yetmezlik ('CVID') tanısı almıştı. Düzenli intravenöz immünglobulin kullandığı öğrenildi. Takipleri sırasında

5 yıl önce splenomegali fark edilmişti. 3 yıl önce de karaciğerde problem saptanarak ultrason elastografi yapılmış ve fibrozis tespit edilmişti. Hastanın 10 yıl önce metotreksat kullanımı öyküsü mevcut olsa da, splenomegalinin karaciğer hasarından önce tespit edilmesi nedeniyle bu kullanımın olguda karaciğer hasarını açıklamayabileceği düşünüldüğü için hasta metabolik ve hematolojik hastalıklar yönünden ilgili bölümlerce takip edilmekteydi. İlgili kinik bölümlerce hastanın mevcut tablosunun ön planda hipersplenizm olduğu düşünülmekteydi ancak herhangi bir sebep bulunamamıştı ve karaciğer hastalığına sekonder olabileceği durumu ekarte edilememişti.

Tablo 21. Olgu IX'a ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

AST: 66 U/L (↑) **ALT:** 65 U/L (↑)	**ALP:** 340 U/L (↑) **GGT:** 221 U/L (↑)	**AAT:** 177 mg/dL (N)
Seruloplazmin: 41 mg/dL (N) **Bakır:** 139 µg/dL (N) **İdrar bakır: -**	**Otoimmün belirteçler (ANA, ASMA, AMA, Anti LKM):** Negatif **Ig G4:** 0,167 (N)	**Seroloji (EBV, CMV, HAV, HBV, HCV, HEV, HIV, Brucella):** Negatif
Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: 10 yıl önce Metotreksat **Boy: -** **Vücut ağırlığı: -**	**Lipid paneli:** Total kolesterol: 114 mg/dL (N) Trigliserid: 105 mg/dL (N) LDL: 62 mg/dL (N)	**Ferritin:** 38 ng/mL (N) **Transferrin satürasyonu:** 12 (N)
Metabolik tetkikler: Normal		
Görüntüleme bulguları: Batın USG: Karaciğer parankiminde ve periportal alanda hipoekoik ödemli görünüm izlenmiştir. Hepatit açısından klinik ile beraber değerlendirilmesi önerilir. Abdomen BT: Masif hepatosplenomegali, sağda nefrolitiazis Ultrason Elastografi: F3 fibrozis, siroz ile uyumlu Portal ven renkli Doppler USG: Portal sistem açık, hepatik venler ve inferior vena kava normal EMG: Sağ siyatik sinirin ağır derece aksonal hasarı ile uyumlu bulgular		
Patoloji bulguları: Karaciğer Tru-Cut Biyopsi (2018): Hafif düzeyde portal ve lobüler inflamasyon. Biyopside fibrozis izlenmemiştir.		
Genetik tetkikler: **Lizozomal depo hastalıkları paneli:** Normal ***GBA*, *NPC1*, *NPC2* dizi analizi:** Normal **Serebrotendinöz Ksantomatozis (*CTX*) dizi analizi:** Normal **Fabry (*GLA*) dizi analizi:** Normal **Hiperamonyemi ve yağ asidi oksidasyon paneli:** Normal		

Tablo 21 (Devam). Olgu IX'a ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

Genetik tetkikler(devamı):	
***JAK2* V617F mutasyonu:** Negatif	
Ek muayene ve tetkik bulguları:	
Göz hastalıkları muayenesi: Normal	Trombosit: 129 (10*3/uL) (↓)
Çölyak hastalığı antikorları: Normal	Hemoglobin:9,7 g/dL (↓)
Periferik yayma: Normal	Lökosit: 3,7 (10*3/uL) (↓)
Kemik iliği biyopsisi, kültürü, kromozom analizi, FISH: Normal	
Endoskopi, kolonoskopi: Özefagus varisleri, endoskopik eritematöz pangastrit	

Soygeçmiş sorgulamasına bakıldığında belirgin bir özellik yoktu (Şekil 2, olgu IX). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu IX), birinci basamak filtreleme sonucunda tespit edilen varyant (Tablo 33) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.10. Olgu X'a Ait Klinik Bulgular:

28 yaşında erkek hasta, bir yıl önce karın ağrısı nedeniyle başvurduğunda araştırılırken KCFT yüksekliği ve anemi tespit edilmişti. Takipleri sırasında hepatosplenomegali meydana gelmişti. Toksik madde ve ilaç kullanımı, alkol kullanım öyküsü olmadığı öğrenildi.

Tablo 22. Olgu X'a ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulguları

AST: 55 U/L (↑) **ALT:** 158 U/L (↑)	**ALP:** 53 U/L (N) **GGT:** 23 U/L (N)	**AAT:** 141 mg/dL (N)
Seruloplazmin: 22 mg/dL (N) **Bakır:** 100 µg/dL (N) **İdrar bakır: -**	**Otoimmün belirteçler (ANA, ASMA, AMA, Anti LKM Anti CCP):** Negatif	**Seroloji (EBV, CMV, Toxoplasma, Leishmaniosis, Brucella, HAV, HBV, HCV, HIV):** Negatif

Tablo 22 (Devam). Olgu X'a ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulguları

Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Yok **Boy:** - **Vücut ağırlığı:** -	**Lipid paneli:** Total kolesterol: 134 mg/dL (N) Trigliserid: 74 mg/dL (N) LDL: 78 mg/dL (N)	**Ferritin:** 310 ng/mL (N) **Transferrin satürasyonu:** 14 (N)
Metabolik tetkikler: Normal		
Görüntüleme bulguları: Batın USG: Karaciğer segment 3'te 30x24 mm boyutlarında hipoekoik RDUS bakıda belirgin vaskülarizasyon izlenmeyen nodüller izlenmiştir. Portal ven renkli Doppler USG: Portal sistem açık, hepatik venler ve inferior vena kava normal Abdomen BT: Karaciğerde hemanjiom, hepatosplenomegali, milimetrik nonspesifik pulmoner nodüller, renal kortikal kist		
Genetik tetkikler: ***GBA, NPC1, NPC2* dizi analizi:** Normal		
Ek muayene ve tetkik bulguları: Periferik yayma: Normal Kemik iliği biyopsisi: Normal Kolonoskopi ve endoskopi: Kolonoskopi normal, endoskopi gastrit ve GÖRH EKO: LVEF: %60, hafif triküspit yetmezlik, hafif aortik yetmezlik Kulak burun boğaz muayenesi: Normal TSH: 1,67 m[IU]/L (N)	Trombosit: 143 (10*3/uL) (↓) Hemoglobin:10,1 g/dL (↓)	

Soygeçmiş sorgulamasında anne babanın akraba olduğu ancak yakınlık derecesinin bilinmediği öğrenildi. Ek belirgin bir özellik yoktu (Şekil 2, olgu X). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu X), filtrelemeler sonucunda tespit edilen varyantlar (Tablo 34) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.11. Olgu XI'e Ait Klinik Bulgular:

26 yaşında kadın hasta, 2 yıl önce safra kesesi taşı nedeniyle geçirdiği operasyon sonrası yapılan kontrol BT'sinde hepatomegali saptanmıştı. Aort koarktasyonu ve biküspid aort nedeniyle 2018 yılında dış merkezde operasyon geçirdiği öğrenildi.

Tablo 23. Olgu XI'e ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulgular

<table>
<tr><td>AST: 17 U/L (N)
ALT: 13 U/L (N)</td><td>ALP: 70 U/L (N)
GGT: 15 U/L (N)</td><td>AAT: 163 mg/dL (N)</td></tr>
<tr><td>Seruloplazmin: 26 mg/dL (N)
Bakır: 95 µg/dL (N)
İdrar bakır: -</td><td>Otoimmün belirteçler (ANA, ASMA, AMA, Anti LKM, Anti CCP): Negatif</td><td>Seroloji (EBV, HAV, HBV, HCV, HIV, CMV, Toxoplasma, Brucella): Negatif</td></tr>
<tr><td>Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Yok
Boy: 167 cm
Vücut ağırlığı: 65 kg</td><td>Lipid paneli:
Total kolesterol:144 mg/dL (N)
Trigliserid: 62 mg/dL (N)
LDL: 73 mg/dL (N)</td><td>Ferritin: 6,5 ng/mL (↓)
Transferrin satürasyonu: 10 (N)</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Metabolik tetkikler:</u> Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Görüntüleme bulguları:</u>
Abdomen BT: Karaciğer vertikal uzunluğu 190 mm (hepatomegali)</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Genetik tetkikler:</u>
Fabry (GLA) dizi analizi: Normal
Lizozomal depo hastalıkları paneli: Normal
GBA dizi analizi: GBA geni, heterozigot c.1448T>C (rs421016), patojenik değişimi mevcut. (Dış merkez)
GBA MLPA: Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Ek muayene ve tetkik bulguları:</u>
TSH: 1,8 m[IU]/L (N)
EKO(2022): Hepatik venler olağan. Hafif triküspit yetmezlik
Çölyak hastalığı antikorları: Negatif
Femur grafisi: Normal
Beta glukozidaz (GBA) enzim ve Lyso-GB1: Normal</td></tr>
</table>

Soygeçmiş sorgulamasına bakıldığında babaannesinin karaciğer sirozu nedeniyle ex olduğu öğrenildi. Amcasının oğlunda aort koarktasyonu mevcuttu (Şekil 2, olgu XI). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu XI), filtrelemeler sonucunda tespit edilen varyantlar (Tablo 35) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.

4.2.12. Olgu XII'ye Ait Klinik Bulgular:

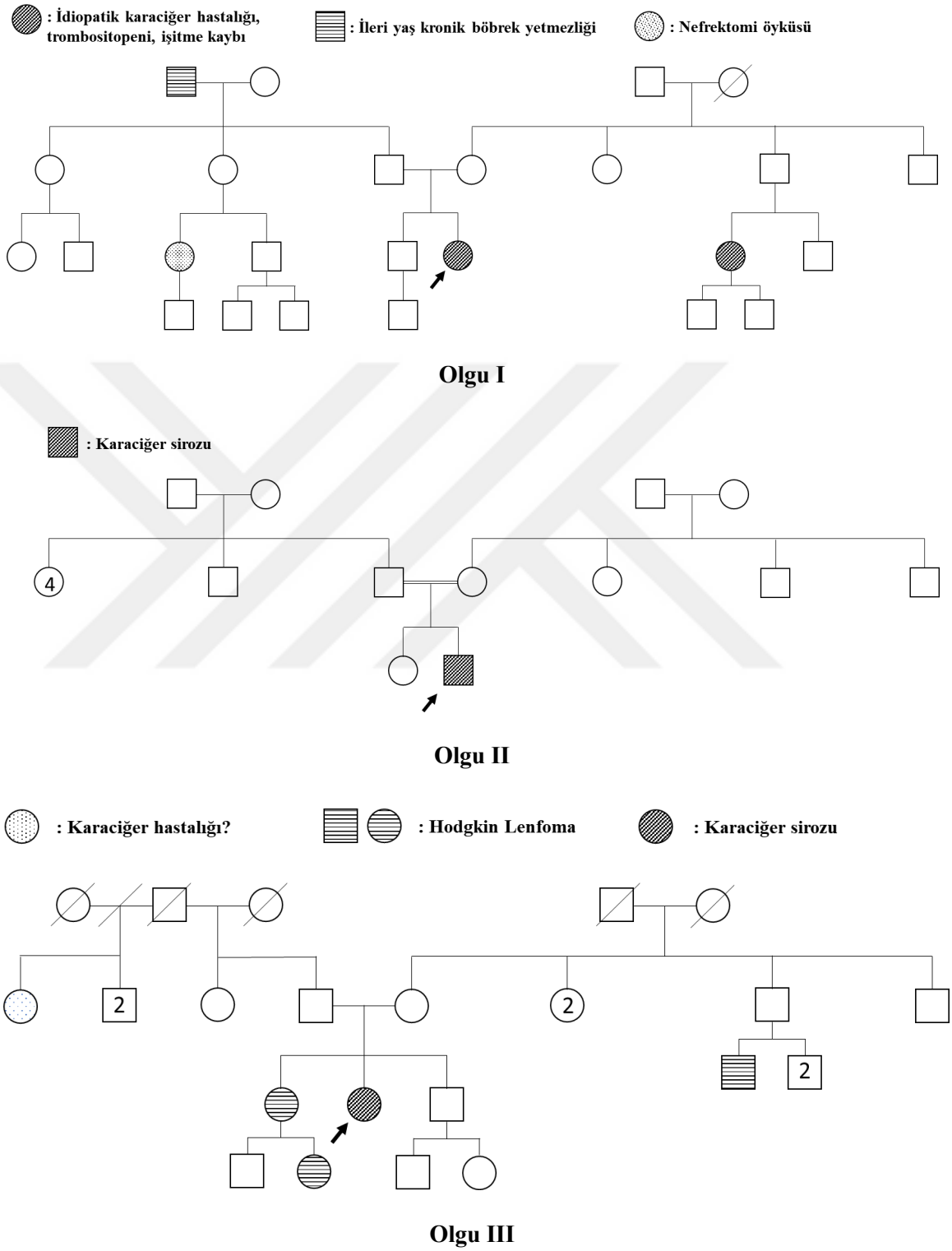
12 yaşındaki kız hastada, 6 aylıkken kilo kaybı şikayetiyle başvurduğunda karaciğer yetmezliği tespit edilmişti. Hastalık sürecinde yapılan değerlendirmeler sonucunda

herhangi bir etiyoloji tespit edilememişti ve idiyopatik karaciğer hastalığı ile takipliydi. Dismorfolojik bulgusu yoktu ve motor gelişim basamakları normaldi.

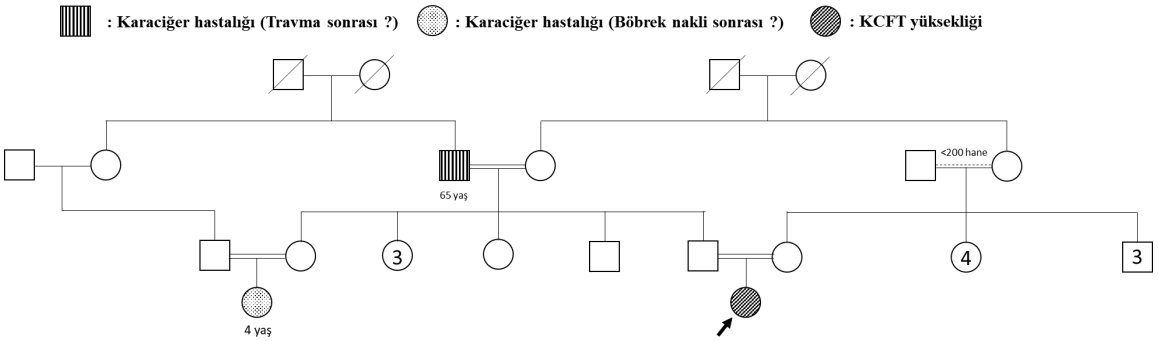
Tablo 24. Olgu XII'ye ilişkin klinik, laboratuvar, görüntüleme ve histopatolojik bulguları

<table>
<tr><td>AST: 36 U/L (↑)
ALT: 36 U/L (N)</td><td>ALP: 248 U/L (N)
GGT: 147 U/L (↑)</td><td>AAT: 155 mg/dL (N)</td></tr>
<tr><td>Seruloplazmin: 37 mg/dL (N)
Bakır: 126 µg/dL (N)
İdrar bakır: 1 µg/dL (N)</td><td>Otoimmün belirteçler (ANA, ASMA, AMA, Anti LKM): Negatif</td><td>Seroloji (HAV, HBV, HCV, HEV, HIV, Toxoplasma, CMV, Rubella): Negatif</td></tr>
<tr><td>Alkol veya toksik ilaç kullanım öyküsü: Yok
Boy: -
Vücut ağırlığı: -</td><td>Lipid paneli:
Total kolesterol:184 mg/dL (N)
Trigliserid: 93 mg/dL (N)
LDL: 87 mg/dL (N)</td><td>Ferritin: 47 ng/mL (N)
Transferrin satürasyonu: 22 (N)</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Metabolik tetkikler:</u> Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Görüntüleme bulguları:</u>
Batın USG: Karaciğer 100 mm boyutlarda, ondulan konturludur. Parankim ekojenitesi granüler ve heterojen olup karaciğer sirozu paterni ile uyumludur. Sağ lobda en büyüğü 12 mm ölçülen multipl hiperekojen nodüler lezyon vardır.
Portal ven renkli Doppler USG: Hepatik venler ve inferior vena cava normal
Abdomen MRG: Karaciğer sirozu bulguları mevcuttur.</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Patoloji bulguları:</u>
Karaciğer biyopsi (2011): Steatotik ve hepatotik patern gösteren metabolik hastalık ile uyumlu bulgular
Karaciğer biyopsi (2019): Portal ve septal fibrozis, nodüler görünüm</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Genetik tetkikler:</u>
Glikojen depo hastalıkları paneli: Normal
İnherited panel: Normal</td></tr>
<tr><td colspan="3"><u>Ek muayene ve tetkik bulguları:</u>
TSH: 2,57 m[IU]/L (N) — Göz muayenesi: Normal
Ter testi: 32 mEq/L (N) — Kulak burun boğaz muayenesi: Normal
EKO: Normal — Çölyak hastalığı antikorları: Negatif</td></tr>
</table>

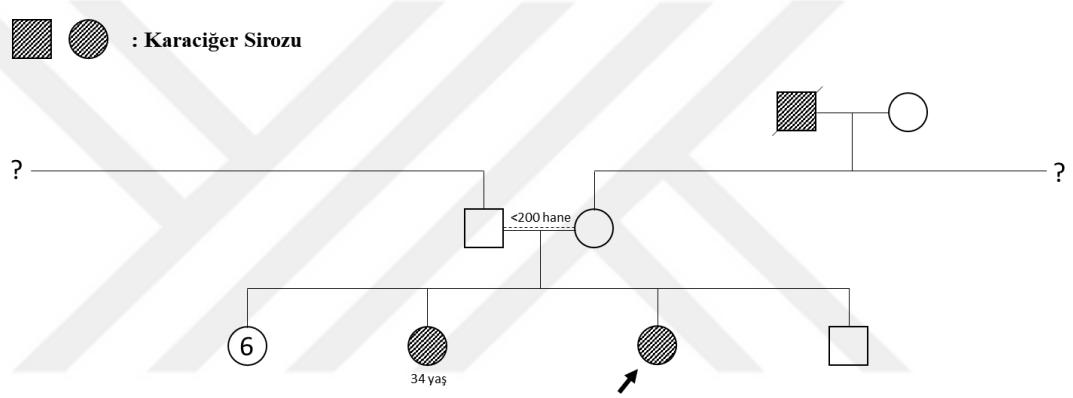
Soygeçmiş sorgulamasına bakıldığında anne baba aynı köydendi, karaciğer hastalığı ile ilgili ek özellik mevcut değildi (Şekil 2, olgu XII). Olguya ilişkin filtrelemelerde tespit edilen varyant sayıları (Şekil 3, olgu XII), filtrelemeler sonucunda tespit edilen varyantlar (Tablo 36) ilgili şekil ve tablolarda belirtilmiştir.



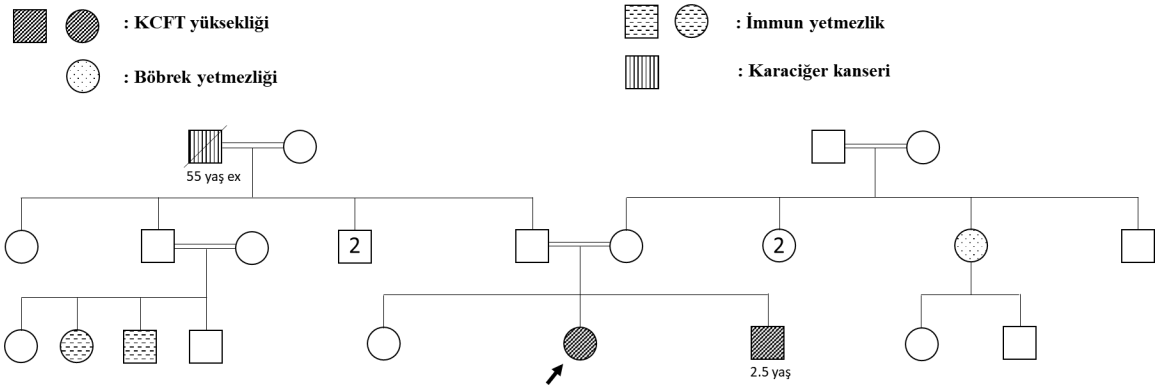
Şekil 2. Çalışmaya katılan indeks vakaları ve akrabalarını gösteren pedigriler



Olgu IV

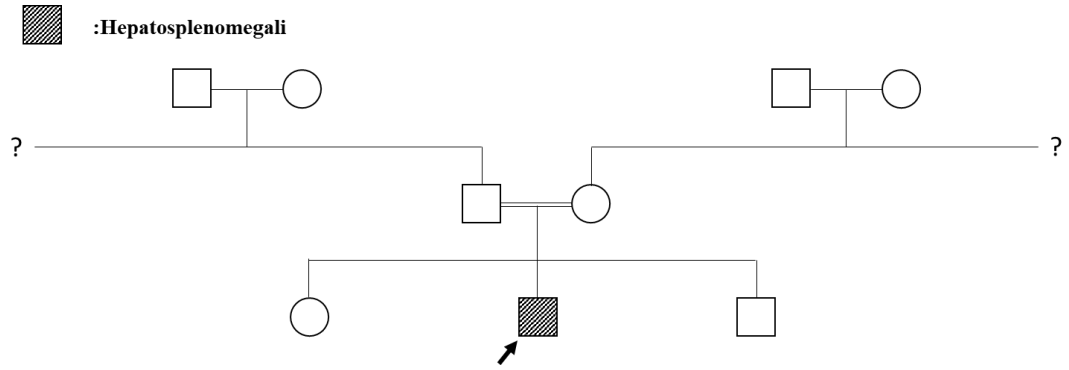


Olgu V

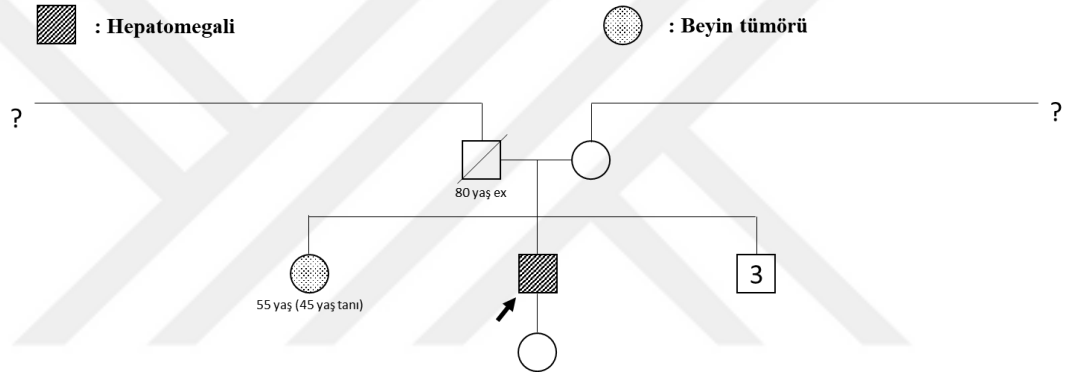


Olgu VI

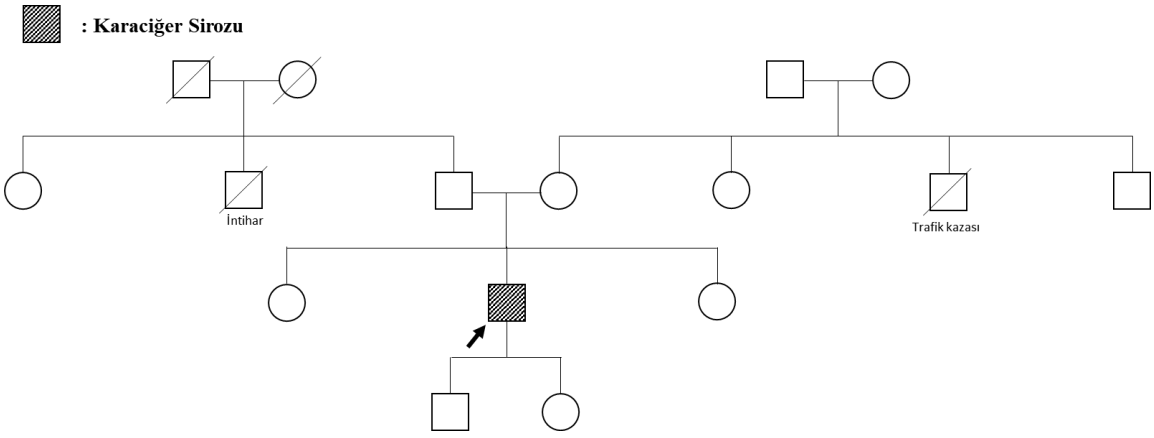
Şekil 2 (Devam). Çalışmaya katılan indeks vakaları ve akrabalarını gösteren pedigriler



Olgu VII

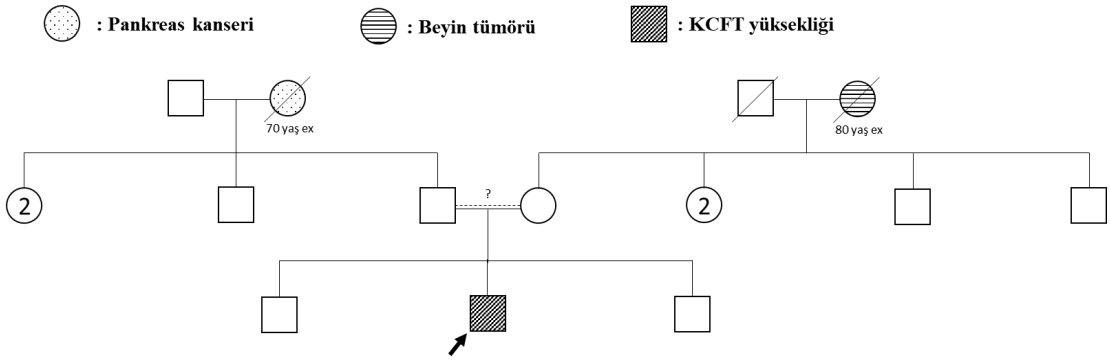


Olgu VIII

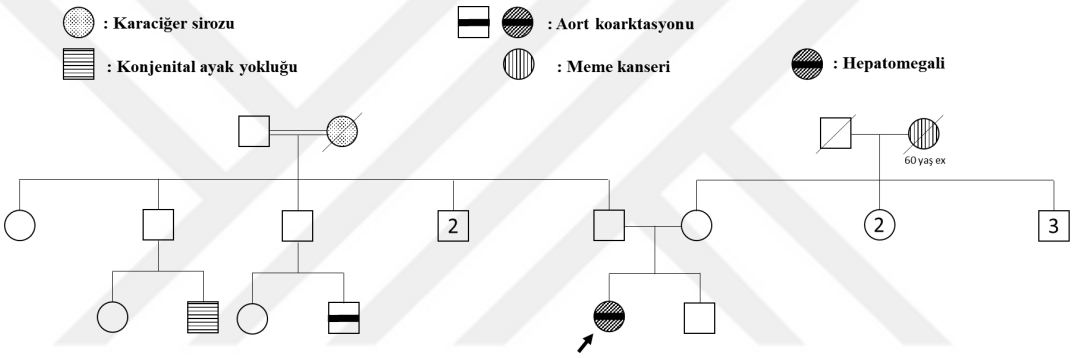


Olgu IX

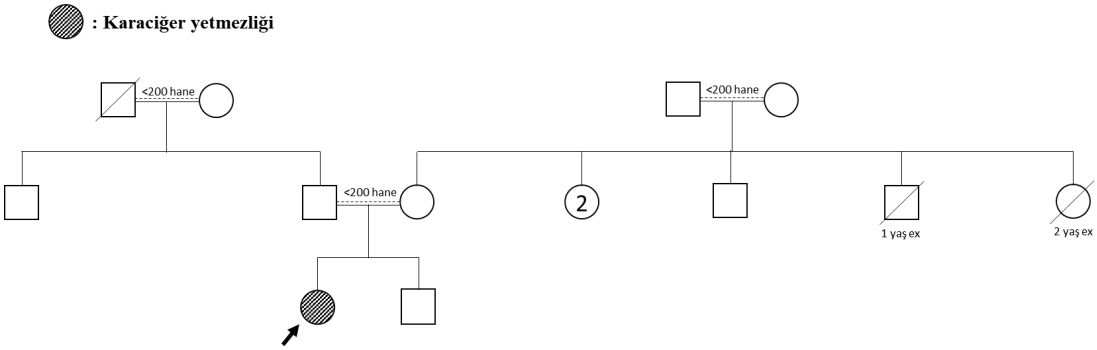
Şekil 2 (Devam). Çalışmaya katılan indeks vakaları ve akrabalarını gösteren pedigriler



Olgu X

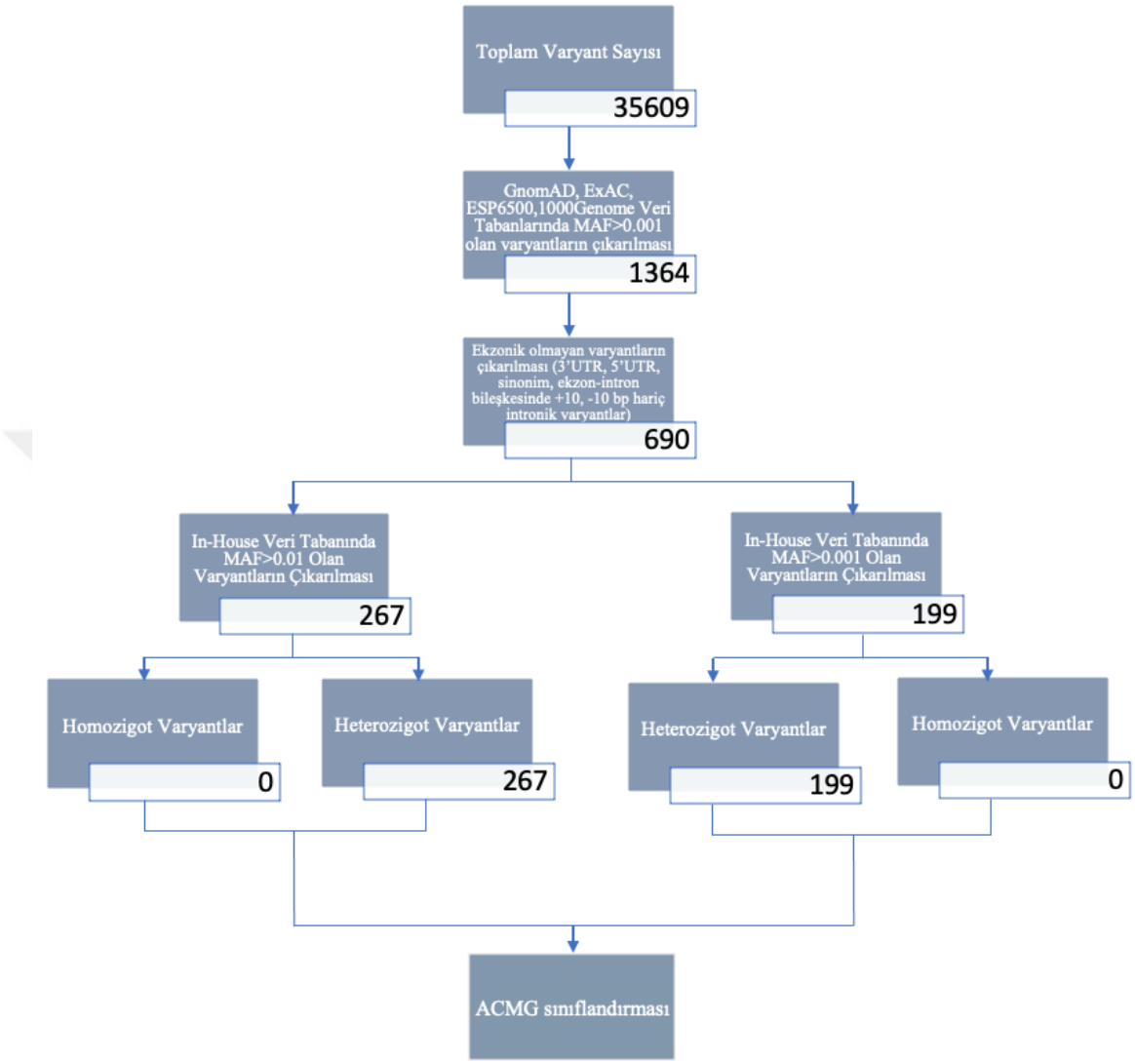


Olgu XI



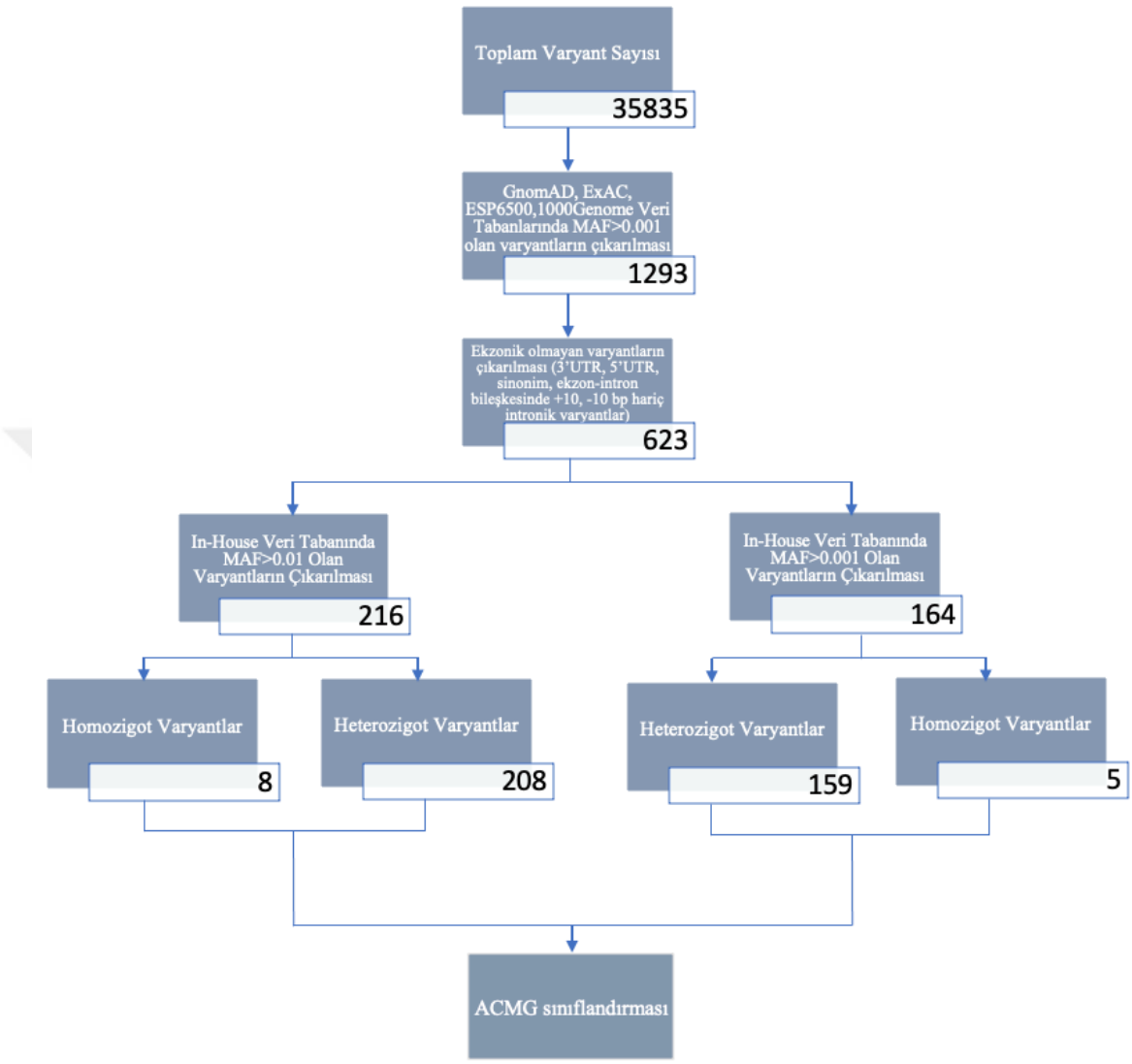
Olgu XII

Şekil 2 (Devam). Çalışmaya katılan indeks vakaları ve akrabalarını gösteren pedigriler



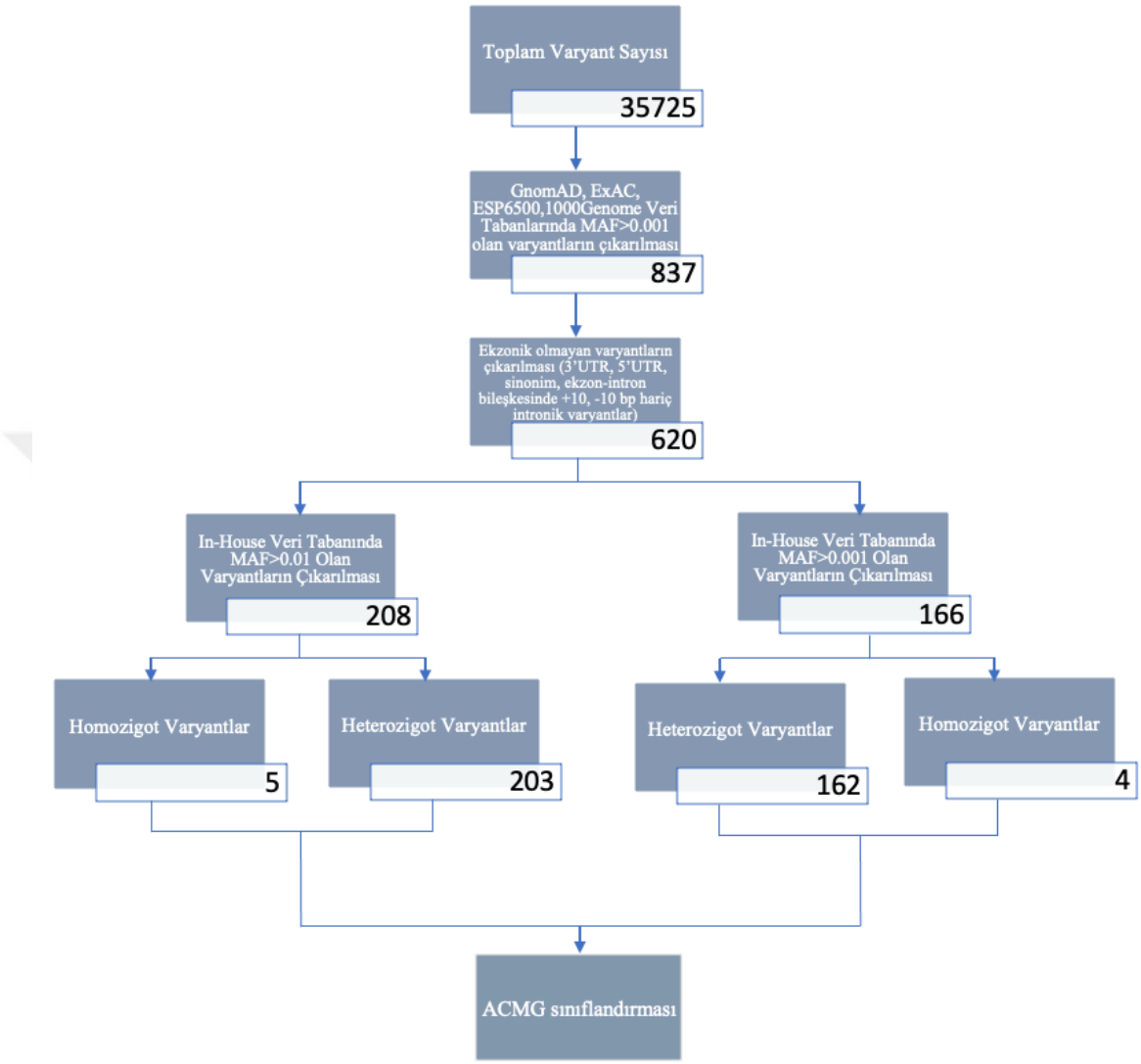
OLGU I

Şekil 3. Tüm ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



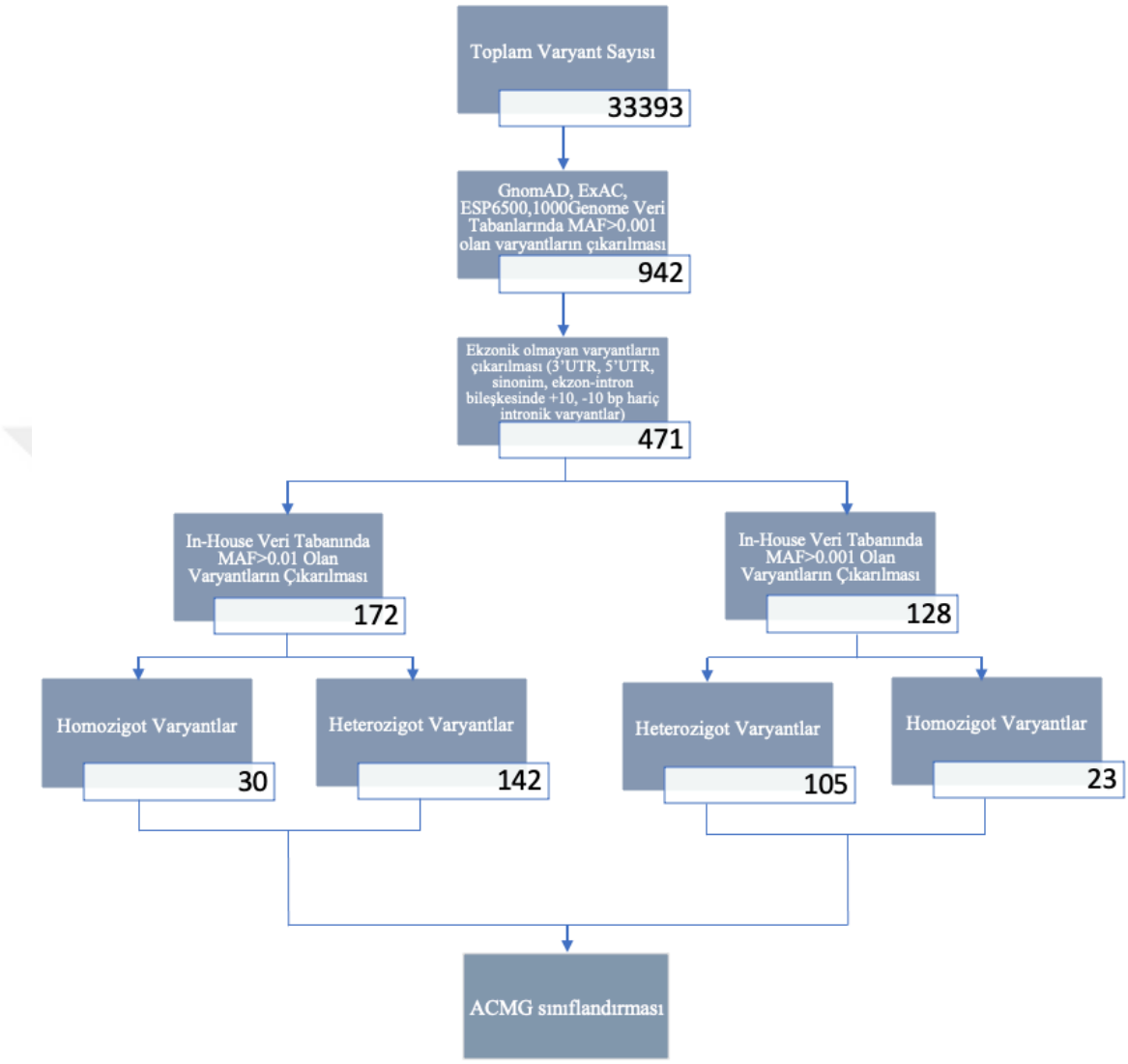
OLGU II

Şekil 3 (Devam). Tüm ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



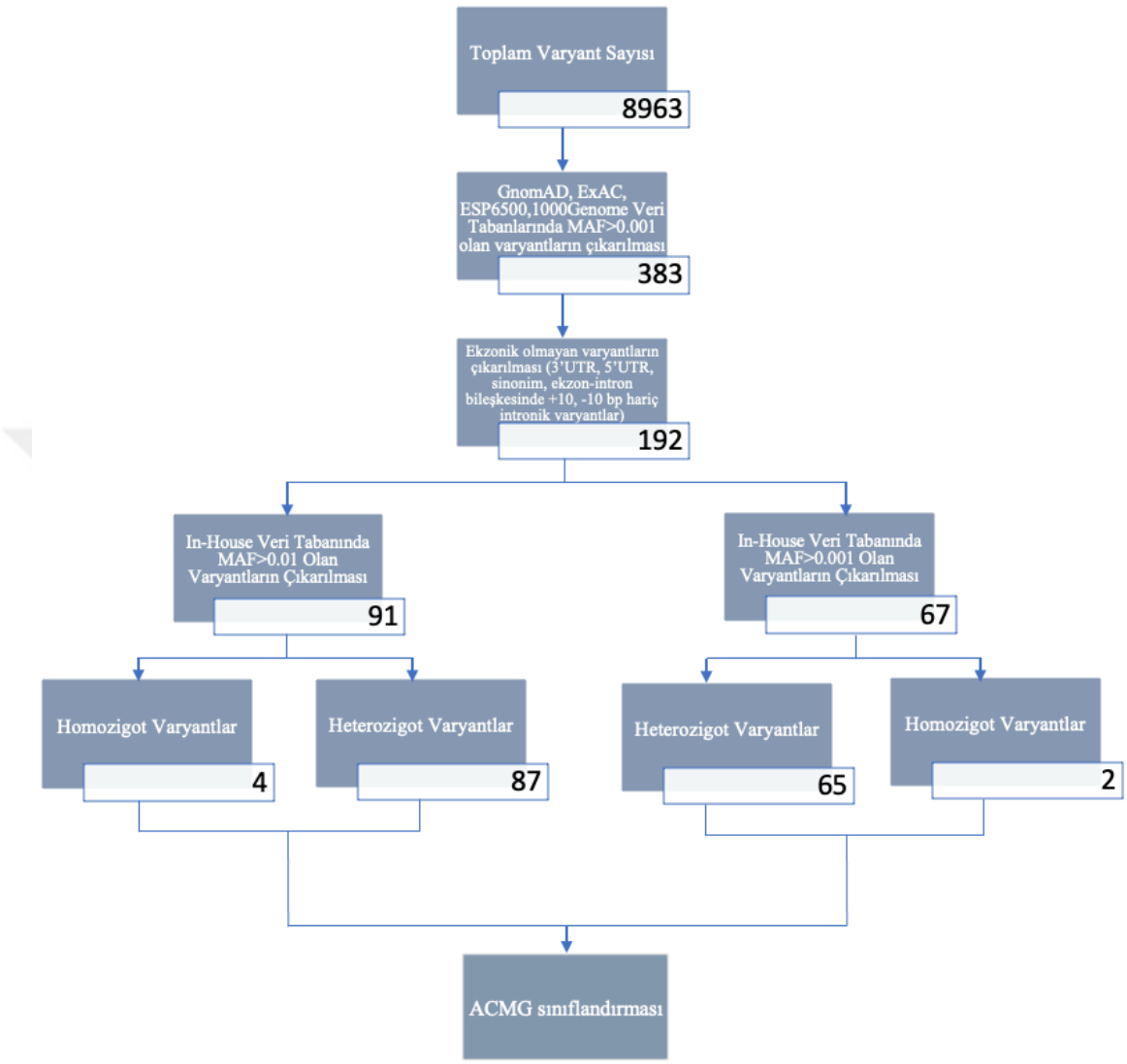
OLGU III

Şekil 3 (Devam). Tüm ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



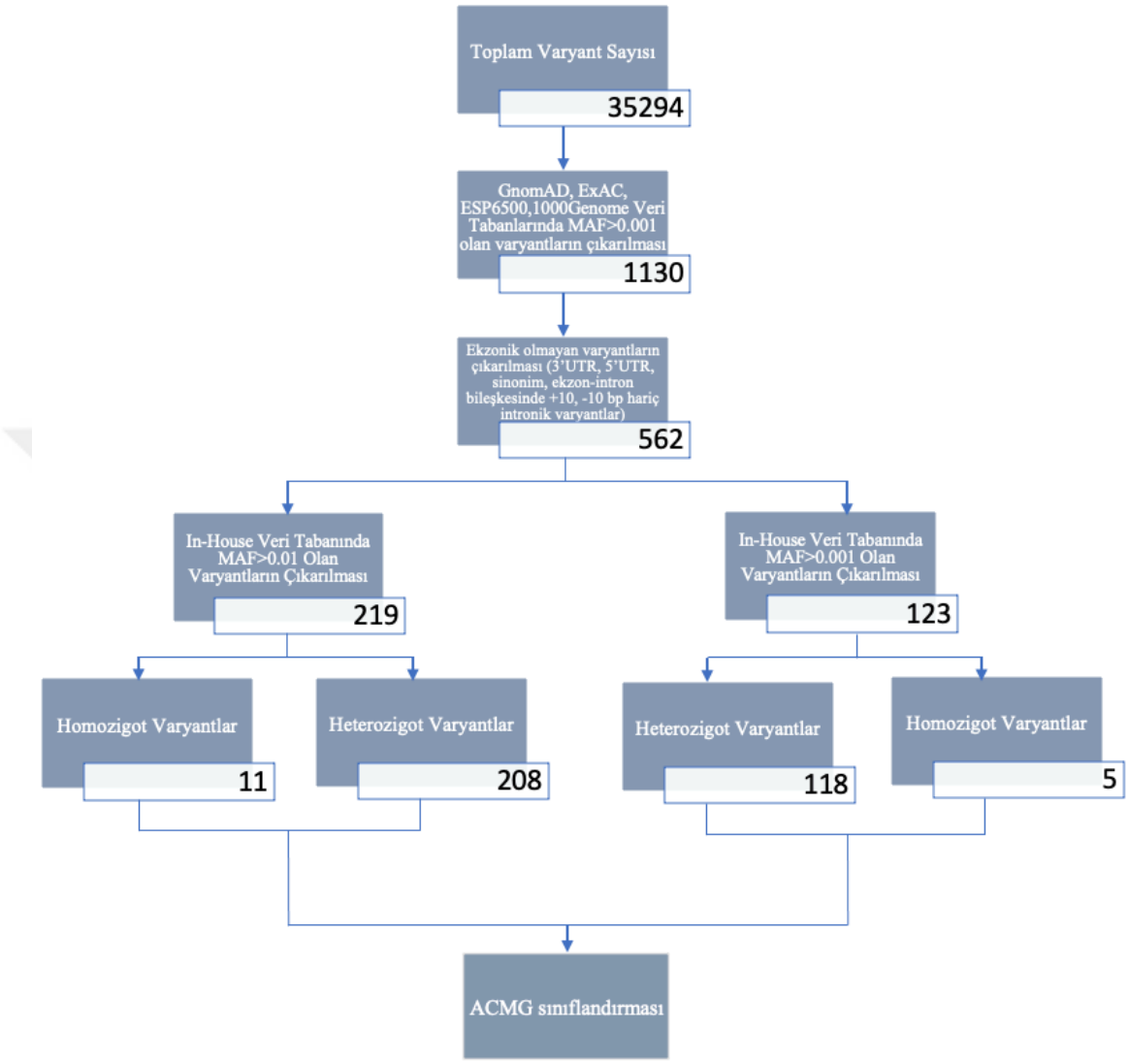
OLGU IV

Şekil 3 (Devam). Tüm ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



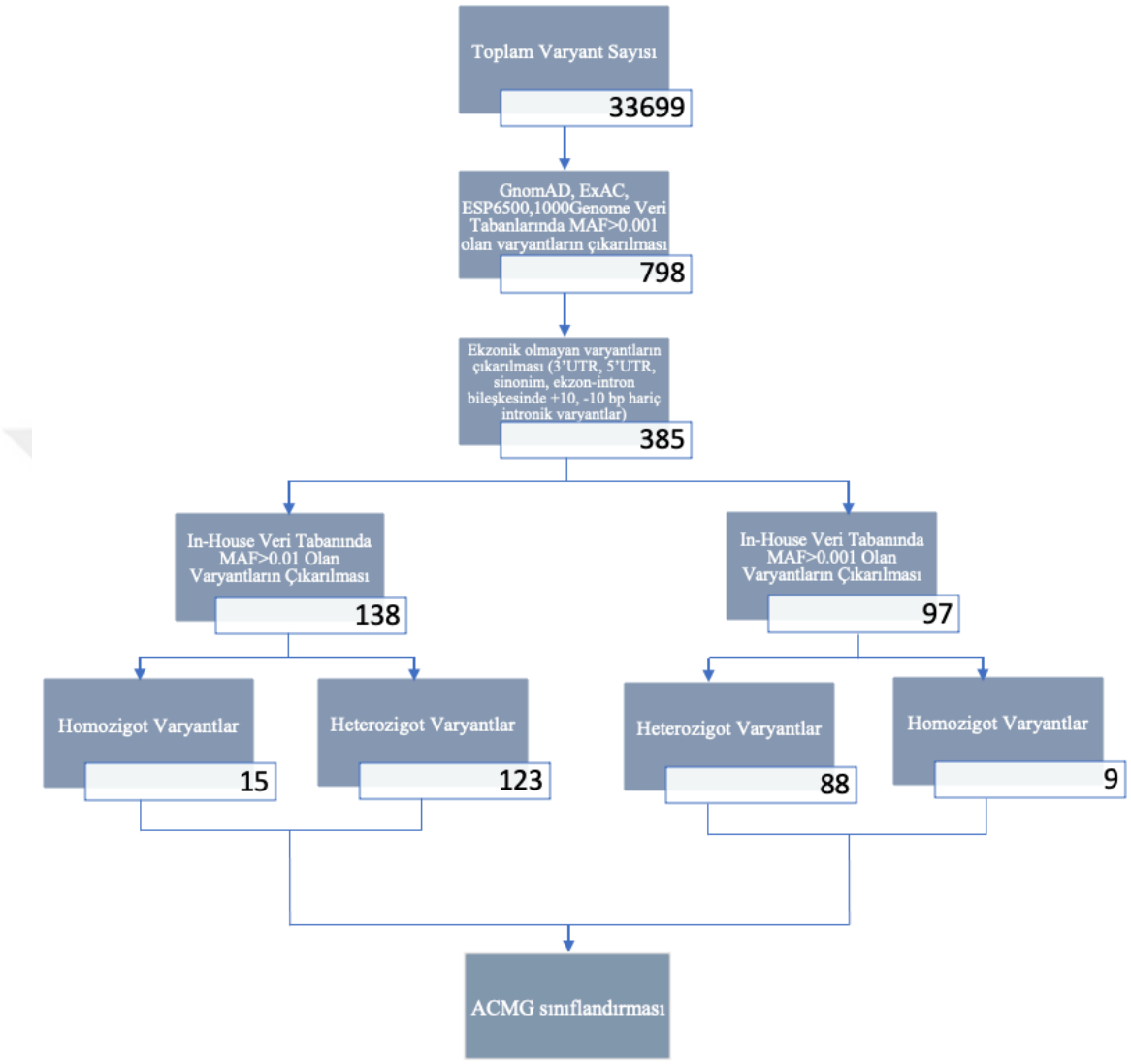
OLGU V

Şekil 3 (Devam). Klinik ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



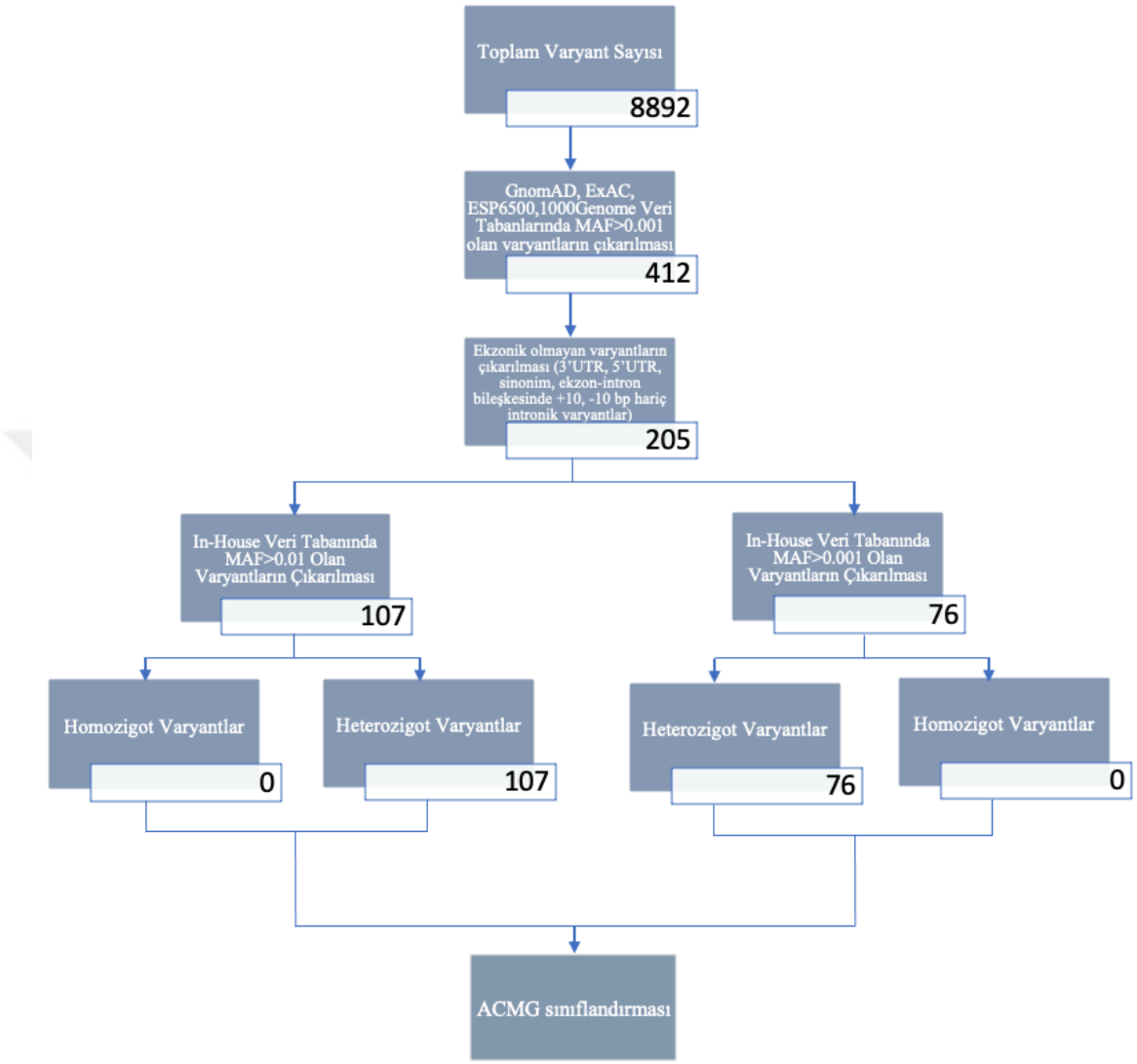
OLGU VI

Şekil 3 (Devam). Tüm ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



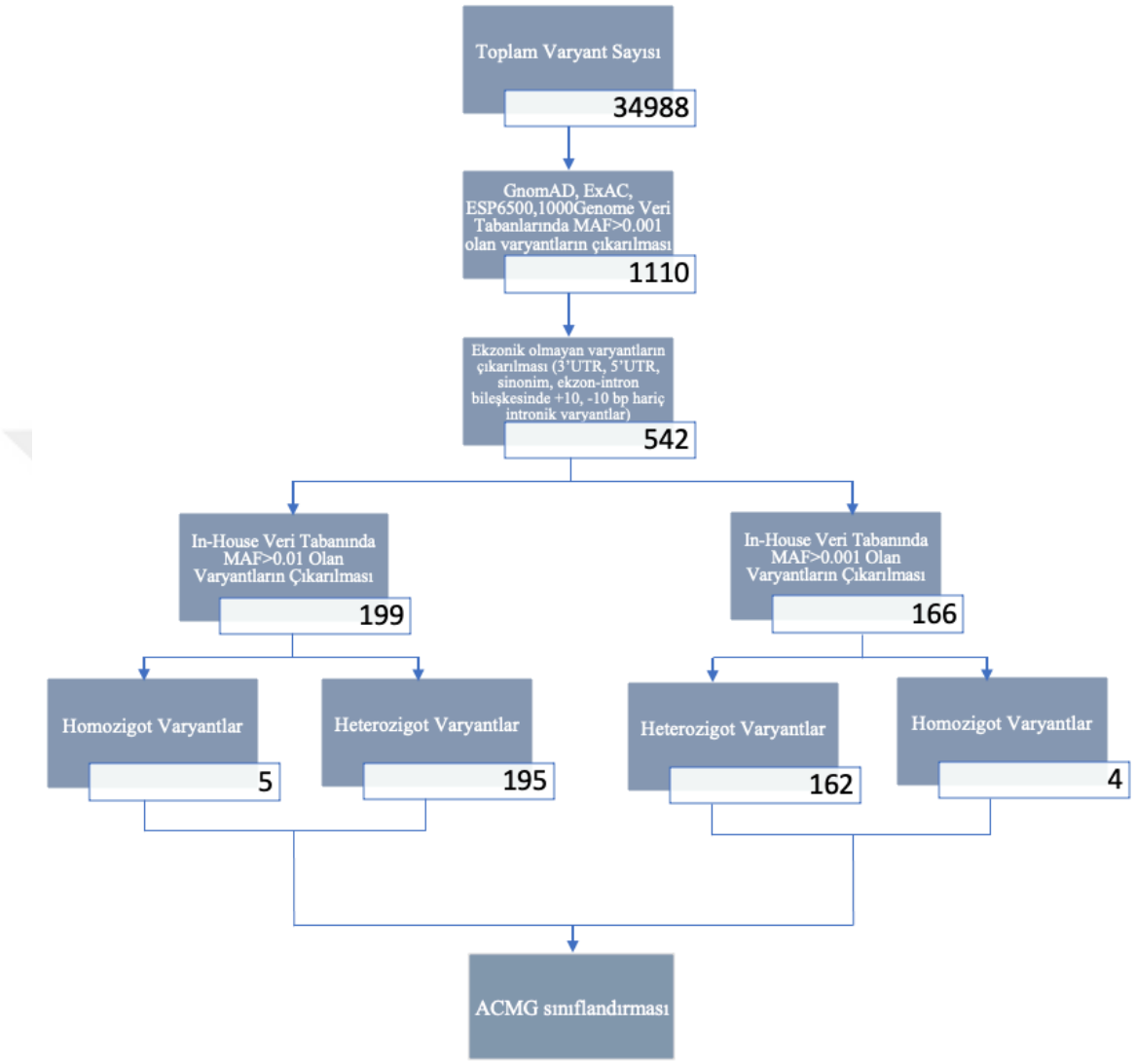
OLGU VII

Şekil 3 (Devam). Tüm ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



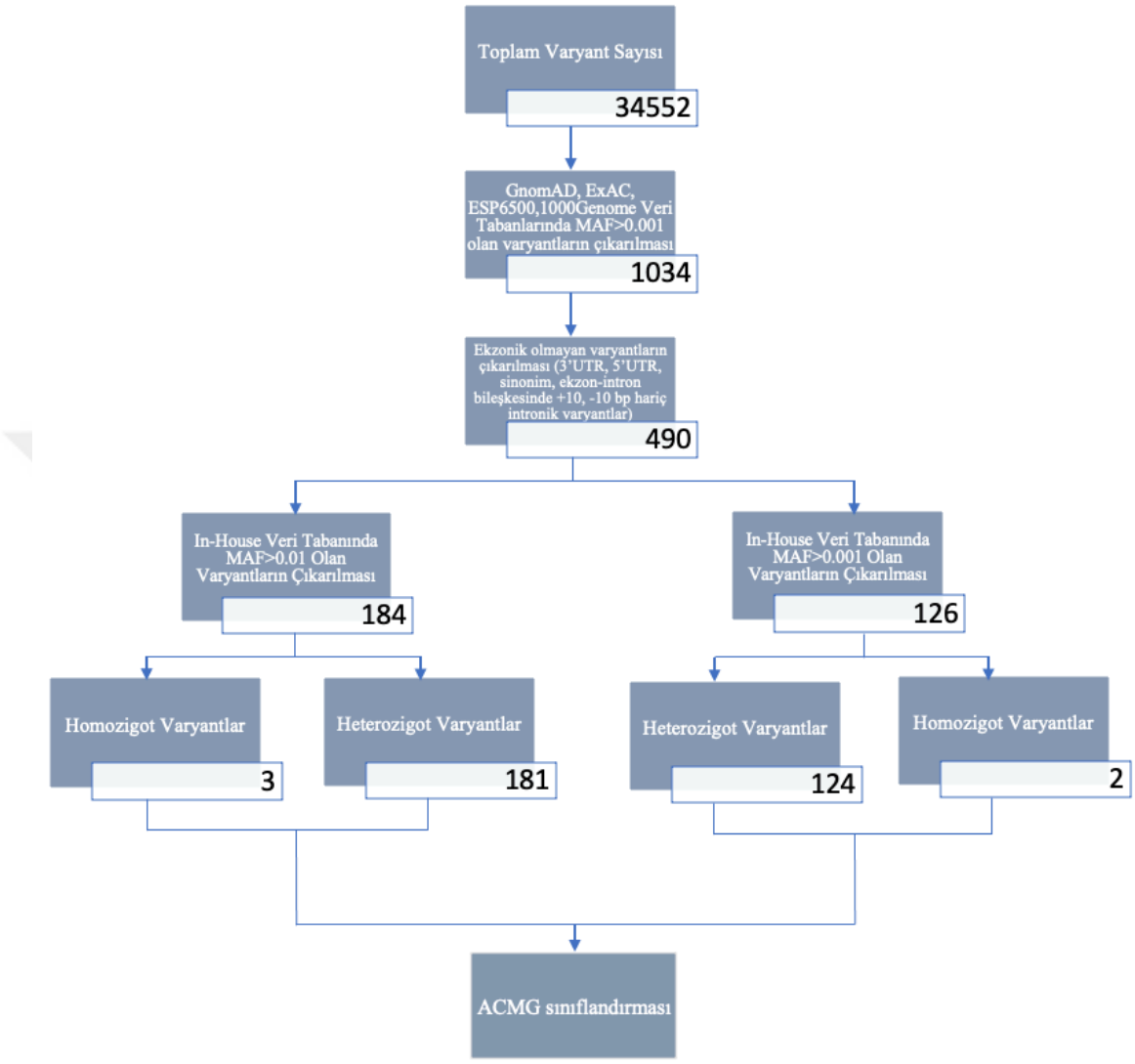
OLGU VIII

Şekil 3 (Devam). Klinik ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



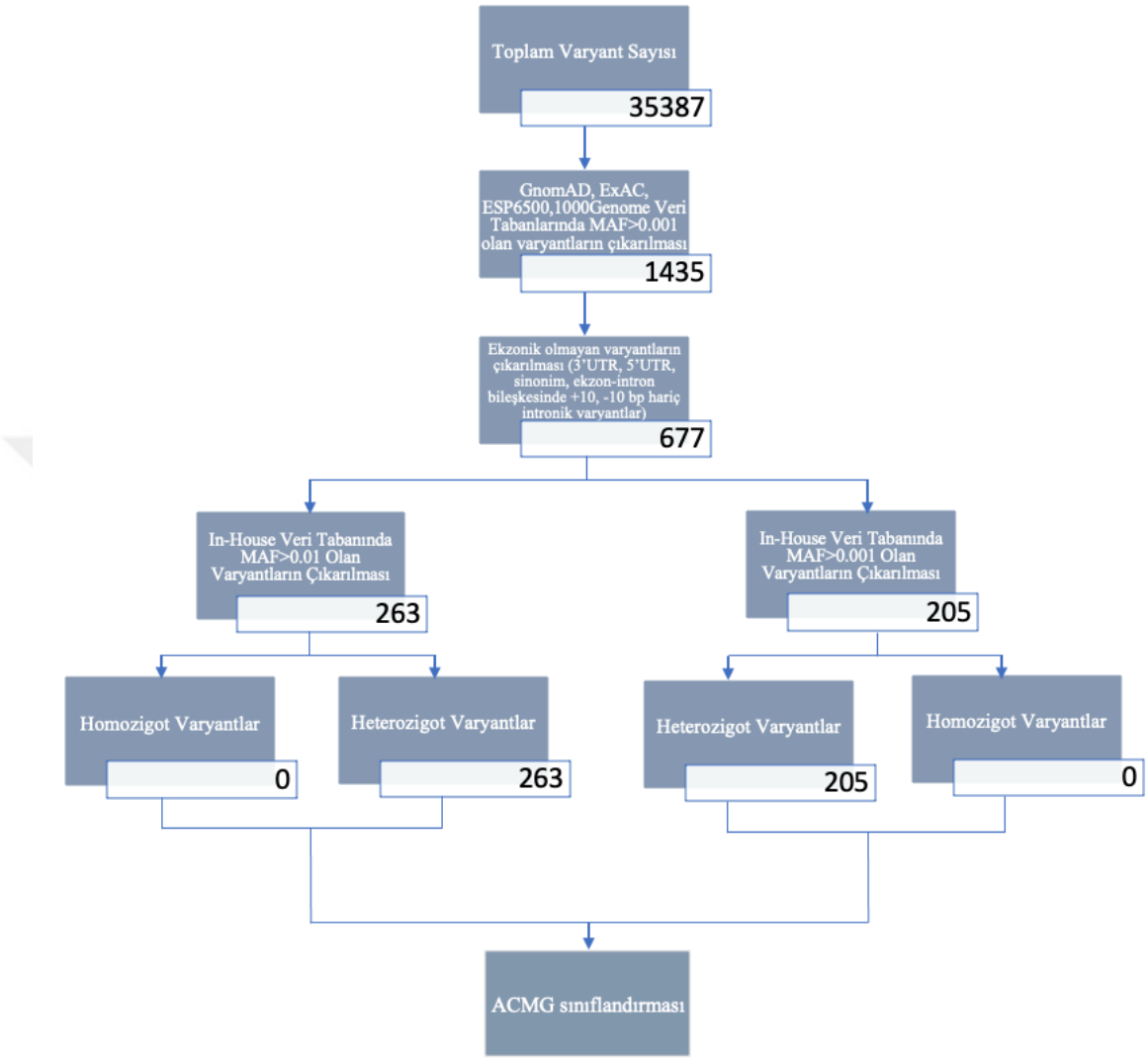
OLGU IX

Şekil 3 (Devam). Tüm ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



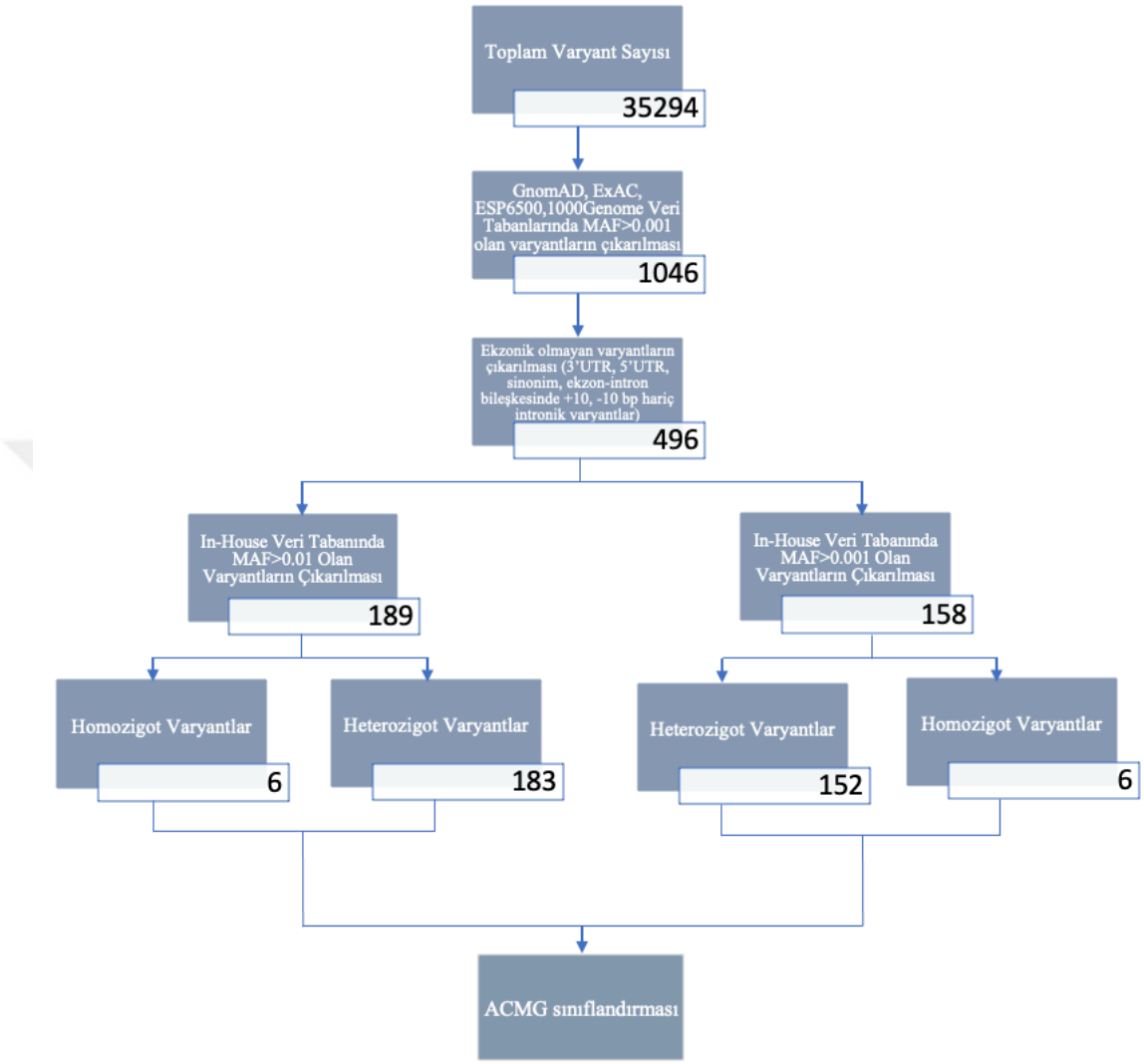
OLGU X

Şekil 3 (Devam). Tüm ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



OLGU XI

Şekil 3 (Devam). Tüm ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.



OLGU XII

Şekil 3 (Devam). Tüm ekzom dizileme verilerinde birinci basamak filtreleme sırasında izlenilen strateji. Sağ alt kutucuklarda belirtilen olguda filtreleme sonrasında saptanan varyant sayıları belirtilmektedir.

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
MYH9	22	36697677	ENST00000216181.5: c.2519_2536del	V840_E845del	Ekzon 21	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0001	VUS	PM2, PM4, PP3	Karaciğer ilişkili gen
MYH9	22	36697677	ENST00000216181.5.:c.2539T>A	M847L	Ekzon 21	HET	(+)	0.65	0.66	N/A	0.0001	VUS	PM2, PP2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
PEX16	11	45931700	ENST00000241041.3:c.980dup	P328Tfs*84	Ekzon 11	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0007	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
SOS1	2	39285926	ENST00000426016.1:c.233T>G	F78C	Ekzon 4	HET	(+)	0.86	0.78	rs201352584	0.0005	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
ALG12	22	50307162	ENST00000330817.6:c.166G>A	D56N	Ekzon 3	HET	(+)	0.66	0.58	rs201033281	0.0001	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
ACACA	17	35454862	ENST00000353139.5:c.6623G>A	R2208Q	Ekzon 53	HET	(-)	0.87	0.97	rs774440712	0.0001	VUS	PM2, PP3, PP2	MLXIPL, CPT1A, BRCA1, ACOX1, ACSF3, ACAT1, SUCLG1 ile etkileşim (STRING) / PMID: 24944901
ITK	5	156670752	ENST00000422843.3:c.1180C>T	R394W	Ekzon 12	HET	(+)	0.48	0.74	rs202119873	0.0004	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
TTN	2	179614223	ENST00000360870.5:c.12904G>T	E4302*	Ekzon 46	HET	(-)	N/A	N/A	rs774615523	0.0001	LP	PVS1, PM2	Çok fazla genle etkileşim (STRING)
TTN	2	179600306	ENST00000589042.1:c.14867G>A	G4956E	Ekzon 50	HET	(-)	0.73	0.81	rs747180511	0.002	VUS	PM2	Çok fazla genle etkileşim (STRING)
PTK2B	8	27278191	ENST00000397501.1:c.401G>A	R134H	Ekzon 9	HET	(+)	0.82	0.64	rs775385734	0.0001	VUS	PM2, PP3	Çok fazla genle etkileşim (STRING)
NOX4	11	89155121	ENST00000263317.4:c.578C>T	T193I	Ekzon 8	HET	(+)	0.84	0.93	rs779643336	0.0003	VUS	PM2, PP3	NCF2, NOS3, CYBB, CYBA, NCF1, NCF4, DUOX2 ile etkileşim (STRING) / PMID: 26222337, PMID: 24509161
FTO	16	53907748	ENST00000471389.1:c.946C>T	R316W	Ekzon 5	HET	(+)	0.71	0.54	rs777196899	0.0004	VUS	PM2, PM5 PP3	SH2B1, RPGRIP1L ile etkileşim (STRING) / PMID: 36717943, PMID: 30388740
PSMF1	20	1143802	ENST00000335877.6:c.580G>A	G194R	Ekzon 5	HET	(+)	0.79	0.77	rs762622706	0.0001	VUS	PM2, PP3	SPRED2, PSMG2, PSMB4, PSMB8, PSMB10, PSMB9, ITCH, PTEN, CFTR, RELA, CCND1, NFKB1 ile etkileşim (STRING)
KCNH6	17	61607839	ENST00000583023.1:c.611T>C	I204T	Ekzon 4	HET	(-)	0.66	0.67	rs370293995	0.0006	VUS	PM2	KCNQ1 ile etkileşim (STRING) / PMID: 32750722, PMID: 36217412
EPPK1	8	144947386	ENST00000525985.1:c.35del	P12Qfs*32	Ekzon 2	HET	(-)	N/A	N/A	N/A	0.0001	VUS	PM2	PMID: 25617501
TCIRG1	11	67810200	ENST00000265686.3:c.287G>A	R96H	Ekzon 4	HET	(+)	0.26	0.37	rs1319738175	0.0001	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen,
PCK2	14	24568324	ENST00000216780.4:c.731G>A	R244Q	Ekzon 5	HET	(+)	0.21	0.05	rs371707131	0.0005	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen,
SPTB	14	65245888	ENST00000389722.3:c.4550T>G	M1517R	Ekzon 21	HET	(+)	0.21	0.07	rs146588994	0.002	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
SPTB	14	65259764	ENST00000389722.3:c.2617G>A	E873K	Ekzon 13	HET	(+)	0.04	0.04	rs752212117	0.0003	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
AGL	1	100368285	ENST00000294724.4:c.3635T>C	M1212T	Ekzon 27	HET	(+)	0.16	0.10	rs779439947	0.0005	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
Filtrelemelere uygun olmasa da ilişkili olabileceği düşünülerek eklenen varyantlar														
ABCB4	7	87056130	ENST00000265723.4:c.2000C>T	T667I	Ekzon 16	HET	(+)	0.49	0.49	rs756777858	0.003	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen

Tablo 25. Olgu I'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
HEATR5A	14	31787488	ENST00000543095.2:c.3980C>T	A1327V	Ekzon 26	HOM	(+)	0.69	0.56	rs373766664	0.0	VUS	PM2, PP3	-
SLC35E2B	1	1597339	ENST00000378662.1:c.1100A>T	Y367F	Ekzon10	HOM	(+)	0.79	0.79	N/A	0.0	VUS	PM2, PP3	-
CASP3	4	185553530	ENST00000308394.4:c.199A>G	T67A	Ekzon 5	HET	(+)	0.4	0.29	N/A	0.0	VUS	PM2	Çok fazla genle etkileşim (STRING)
GC	4	72623868	ENST00000504199.1:c.779A>C	Q260P	Ekzon 8	HET	(+)	0.87	0.67	N/A	0.0	VUS	PM2, PP3	SERPINA1, APOA1, F13B, FGA, DHCR7 ile etkileşim (STRING) / PMID:32375318
IARS2	1	220316445	ENST00000302637.5:c.2720T>C	I907T	Ekzon 21	HET	(+)	0.25	0.02	rs762555823	0.0	VUS	PM2, BP1	PARS2, LARS, MARS, LARS2, EARS2, IARS, YARS2, YARS ile etkileşim (STRING) / PMID: 33327715, PMID: 29052218
RFT1	3	53126485	ENST00000296292.3:c.1358A>G	Y453C	Ekzon 3	HET	(+)	0.72	0.67	rs761109723	0.0002	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
BMP8B	1	40226126	ENST00000372827.3:c.1174C>T	R392C	Ekzon 7	HET	(+)	0.79	0.81	rs537094534	0.0	LB	BS1, BS2	BMPR1A, ACVR2B ile etkileşim (STRING) / PMID: 31096638
SLC4A1	17	42336704	ENST00000262418.6:c.703G>A	D235N	Ekzon 9	HET	(+)	0.15	0.16	rs751211768	0.0	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
COX7A2	6	75947704	ENST00000370081.2:c.290G>T	G97V	Ekzon 5	HET	(+)	0.8	N/A	rs1439137891	0.0	VUS	PM2, PP3	NDUFA11, NDUFB3, NDUFB8, NDUFB9, NDUFS6, NDUFS4, NDUFA1, NDUFA6, UQCRFS1, COX5A, UQCRC2, UQCRB ile etkileşim (STRING)
GFAP	17	42987940	ENST00000586793.1:c.1214C>T	A405V	Ekzon 7	HET	(+)	N/A	N/A	rs1164901673	0.0	VUS	PM1, PM2, PP2	CFTR, SOX10, HBB, ARL13B ile etkileşim (STRING) / PMID: 25225520
ACSS1	20	24989905	ENST00000323482.4:c.1890+1G>T	N/A	İntron 13	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0	LP	PM2, PVS1	ACADS, PCCA, HADHB, PCK2, PC, PCK1, PCK2, EHHADH, ACOX1, SUCLG1 le etkileşim (STRING)
IFT140	16	1576072	ENST00000426508.2:c.2584G>A	A862T	Ekzon 21	HET	(+)	0.74	0.81	rs751629348	0.0	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
CLPB	11	1172028165	ENST00000294053.3:c.1063G>A	A355T	Ekzon 8	HET	(+)	0.02	0.05	rs149408757	0.0003	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
Filtrelemelere uygun olmasa da ilişkili olabileceği düşünülerek eklenen varyantlar														
COL24A1	1	86334472	ENST00000370571.2:c.3185G>T	G1062V	Ekzon 36	HET	(-)	0.83	0.99	rs200013419	0.003	VUS	PM2	P4HA2 ile etkileşim (STRING) / PMID: 32308416
ABCB8	7	150737673	ENST00000297504.6:c.1391C>G	P464R	Ekzon 12	HET	(+)	0.77	0.84	rs200904308	0.004	VUS	PM2, PP3	ABCG5, ABCG8 ile etkileşim (STRING) / PMID: 36304168
PEPD	19	33882259	ENST00000244137.7:c.1094C>T	P365L	Ekzon 13	HET	(+)	0.9	0.69	rs200183031	0.006	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
LBP	20	36989357	ENST00000217407.2:c.589-1G>T	N/A	İntron 5	HET	(+)	N/A	N/A	rs140824493	0.004	VUS	PM2	IL17F, TGFB1, POMC, APOA1, SAA1, IL6 ile etkileşim (STRING) / PMID: 18000721, PMID: 31897126
ANK1	8	41550372	ENST00000265709.8:c.3775C>T	R1259W	Ekzon 32	HET	(-)	0.35	0.23	rs142542271	0.003	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
SMPD1	11	6415259	ENST00000342245.4:c.1474G>A	G492S	Ekzon 5	HET	(+)	0.25	0.28	rs144873307	0.002	VUS	PM1, PM2, PP2	Karaciğer ilişkili gen

Tablo 26. Olgu II'ye ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
CDK11B	1	1571791	ENST00000407249.3:c.1979C>T	A660V	Ekzon 19	HET	(+)	N/A	N/A	rs1059811	0.0	VUS	PM2	MMP23B ile etkileşim (STRING)
CEP290	12	88524101	ENST00000552810.1:c.613C>T	R205*	Ekzon 9	HET	(+)	N/A	N/A	rs137852835	0.0	P	PVS1, PP5, PM2	Karaciğer ilişkili gen
CPE	4	166403458	ENST00000402744.4:c.737A>G	N246S	Ekzon 4	HET	(+)	0.41	0.07	rs200369500	0.0	VUS	PM2, BP1	Karaciğer ilişkili gen
ITGA7	12	56091539	ENST00000553804.1:c.1361A>G	D454G	Ekzon 9	HET	(+)	0.88	0.68	rs1195699608	0.0006	VUS	PP3, PM2, BP1	FLNC ile etkileşim (STRING) / PMID: 31698037
LMNB1	5	126156805	ENST00000261366.5:c.1364G>A	R455H	Ekzon 7	HET	(+)	0.70	0.94	rs773118659	0.00	VUS	PP3, PM2, BP1	KIF20A, LMNB2, LBR, STAT4, LMNA, HIRA, CTNNB1 ile etkileşim (STRING) / PMID:35436411
PDGFB	22	39631803	ENST00000331163.6:c.140T>C	L47P	Ekzon 2	HET	(+)	0.57	0.36	N/A	0.0	VUS	PP3, PM2, BP1	Çok fazla genle etkileşim (STRING) / PMID: 16842882
SLC26A1	4	983667	ENST00000361661.2:c.1060G>A	A354T	Ekzon 4	HET	(+)	0.72	0.84	rs756246013	0.001	VUS	PM2, BP1	CFTR ile etkileşim (STRING)
SUPV3L1	10	70968361	ENST00000359655.4:c.1931G>A	R644Q	Ekzon 15	HET	(+)	0.66	0.49	rs202133775	0.001	VUS	PM2, BP4	LRPPRC, WRN, PNPT1, DIS3L2 ile etkileşim (STRING)
ARNT	1	150818770	ENST00000358595.5:c.193_195del	D65del	Ekzon 4	HET	(+)	N/A	N/A	rs746068568	0.001	VUS	PM2, PM4	LDHA, NOS3, CREBBP, EP300, VHL, SMAD4 ile etkileşim (STRING) / PMID: 29190746, PMID: 25812120
COL2A1	12	48367961	ENST00000380518.3:c.4228G>T	A1410S	Ekzon 53	HET	(-)	0.65	0.58	N/A	0.0006	LP	PP3, PM1, PM2, PM5	P4HA2, SOX10, CASP8, BMP2 ile etkileşim (STRING) / PMID:26998606
IARS1	9	95025330	ENST00000375643.3: c.1701-5_1707del	N/A	Ekzon 17	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0	LP	PVS1, PM2	Karaciğer ilişkili gen
BBS1	11	66297328	ENST00000318312.7:c.1378C>T	R460C	Ekzon 14	HET	(+)	0.90	0.96	rs745460551	0.0002	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen / PMID: 34262361
PIEZO1	16	88786487	ENST00000301015.9:c.6154G>A	V2052I	Ekzon 42	HET	(+)	0.44	0.59	rs564395221	0.0001	VUS	PM2	PMID:31737919
ZRANB3	2	136026542	ENST00000264159.6:c.1376T>G	L459W	Ekzon 11	HET	(+)	0.92	0.90	rs745663718	0.0005	VUS	PM2, PP3	FANCM, WRN ile etkileşim (STRING)
MYO1C	17	1387495	ENST00000359786.5:c.178G>A	E60K	Ekzon 2	HET	(+)	0.91	0.89	rs1211643098	0.0001	VUS	PM2, PP3	MYH9, JAM3, FCGR2A, CD247, SF3B1, BAZ1B ile etkileşim (STRING) / PMID: 33908271
EPPK1	8	144944903	ENST00000525985.1:c.2517_2518del	E849Vfs*59	Ekzon 2	HET	(-)	N/A	N/A	N/A	0.0	VUS	PM2	PMID: 25617501
ABTB2	11	34181796	ENST00000435224.2:c.2502A>G	L834=	Ekzon 12	HET	(+)	N/A	N/A	rs752037682	0.0	VUS	PM2, PP3	PMID: 33102228
Filtrelemelere uygun olmasa da ilişkili olabileceği düşünülerek eklenen varyantlar														
HES1	3	193855910	ENST00000232424.3:c.731T>A	V244D	Ekzon 4	HET	(+)	0.41	0.30	rs1400869887	0.002	VUS	PM2	Çok fazla genle etkileşim (STRING) / PMID: 25624721, PMID: 33067264

Tablo 27. Olgu III'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
GALK1	17	73759154	ENST00000588479.1:c.552C>G	I184M	Ekzon 4	HOM	(+)	0.72	0.83	rs773416476	0.0	VUS	PM2, PP2, PP3	Karaciğer ilişkili gen / PMID:36376950
MAP3K4	6	161413035	ENST00000392142.4:c.81_89del	P34_P36del	Ekzon 1	HET	(+)	N/A	N/A	rs1367546687	0.0001	VUS	PM2, BP4	PMID: 36376950
PTPN2	18	12814249	ENST00000309660.5:c.811G>T	A271S	Ekzon 7	HET	(+)	0.71	0.73	N/A	0.0	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen / PMID: 30955247
PCK2	14	24567800	ENST00000216780.4:c.577C>T	R193*	Ekzon 4	HET	(+)	N/A	N/A	rs753706965	0.001	VUS	PVS1, PM2, PP5	Karaciğer ilişkili gen
SHBG	17	7534020	ENST00000380450.4:c.226C>T	R76*	Ekzon 3	HET	(+)	N/A	N/A	rs745807575	0.0003	LP	PVS1, PM2	INS, CYP19A1 ile etkileşim (STRING) / PMID: 30455723, PMID: 35738176
BBS12	4	123664308	ENST00000542236.1:c.1261C>T	R421C	Ekzon 3	HET	(+)	0.14	0.20	rs199596849	0.0002	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
KRT18	12	53343163	ENST00000388835.3:c.206G>C	G69A	Ekzon 1	HET	(+)	0.37	0.39	rs532875586	0.001	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
IL7R	5	35871211	ENST00000303115.3:c.433G>A	D145N	Ekzon 4	HET	(+)	0.29	0.28	N/A	0.0005	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
PIEZO1	16	88799688	ENST00000301015.9:c.2662G>A	E888K	Ekzon 19	HET	(+)	0.08	0.16	rs931729619	0.0006	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
MTRR	5	7873565	ENST00000264668.2:c.290G>A	R97H	Ekzon 3	HET	(+)	0.37	0.39	rs777202031	0.001	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
SNF8	17	47009055	ENST00000502492.1:c.585_588del	S196Rfs*21	Ekzon 7	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0001	VUS	PM2	VPS4A, VPS37D ile etkileşim (STRING)
AMY2A	1	104162233	ENST00000414303.2:c.571C>T	R191C	Ekzon 4	HET	(-)	0.83	0.98	rs763068700	0.0003	VUS	PM2, PP3	PYGL, GAA, NRAS, GBE1, AGL ile etkileşim (STRING)
SPART	13	36878680	ENST00000451493.1:c.1823G>A	G608D	Ekzon 9	HOM	(+)	0.79	0.85	rs757476233	0.0	VUS	PM2, PP3	ITCH, BSCL2, PNPLA6 ile etkileşim (STRING)
ACAD10	12	112194207	ENST00000455480.2:c.3203G>T	R1068L	Ekzon 22	HET	(+)	0.85	0.93	rs202009645	0.0001	VUS	PM2, PP3	PMID: 2812016510
COL4A6	X	107421922	ENST00000372216.4:c.2510G>A	G837D	Ekzon 27	HET	(-)	0.93	0.99	N/A	0.0001	VUS	PM2, PP3	P4HA2, CASP8, ENPP1 ile etkileşim (STRING)
CDK5RAP3	17	46052548	ENST00000536708.2:c.433C>T	R145W	Ekzon 6	HET	(+)	0.74	0.43	rs748985064	0.0007	VUS	PM2, PP3	RELA, CDKN2A, FKBP6, DDRGK1 ile etkileşim (STRING) / PMID: 35509151
HEXD	17	80377730	ENST00000337014.6:c.55G>A	A19T	Ekzon 2	HET	(+)	0.76	0.85	rs1268863008	0.0001	VUS	PM2, PP3	HEXB ile etkileşim (STRING) / PMID: 15063170
ALOX5	10	45938496	ENST00000374391.2: c.1284_1285del	G430Rfs*156	Ekzon 10	HET	(+)	N/A	N/A	rs1419683034	0.0001	LP	PVS1, PM2	PMID: 31287882, PMID: 20227514
ADAM8	10	135086068	ENST00000445355.3:c.727C>T	R243C	Ekzon 9	HET	(+)	N/A	N/A	rs139260006	0.0001	VUS	PM2	CP ile etkileşim (STRING) / PMID: 33814981
SYTL5	X	37935897	ENST00000456733.2:c.632G>T	S211I	Ekzon 5	HOM	(+)	0.14	0.12	rs1335542753	0.0004	VUS	PM2,BP4	RAB27A ile etkileşim (STRING) / PMID: 25434494

Tablo 28. Olgu IV'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
AOC3	17	41008451	ENST00000308423.2:c.2176C>T	R726*	Ekzon 4	HET	(+)	N/A	N/A	rs376183501	0.0001	VUS	PM2	FCGR2A, CD19, CTLA4, CD28, FOXP3, CD3E, COMT ile etkileşim (STRING) / PMID: 33312420
EEF2K	16	22262527	ENST00000263026.5:c.502G>A	V168M	Ekzon 6	HOM	(+)	0.59	0.31	rs759223201	0.0	VUS	PM2	PMID: 28060762
PLAUR	19	44160772	ENST00000340093.3:c.331C>T	R111*	Ekzon 4	HET	(+)	N/A	N/A	rs992988583	0.0001	LP	PVS1, PM2	JAK1, PDGFRB, MET, CAV1, IGF2R, PIGS, FGA, CTRC, IGF2 ile etkileşim (STRING) / PMID: 10551395
MANBA	4	103560963	ENST00000226578.4:c.1921C>T	R641C	Ekzon 14	HET	(+)	0.63	0.68	rs140692906	0.001	VUS	PM2, PM5	MAN2B1, SGSH ile etkileşim (STRING) / PMID: 30528300
TG	8	133912484	ENST00000220616.4:c.3333A>G	T1111=	Ekzon 15	HOM	(-)	N/A	N/A	rs926482373	0.0001	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
SLC22A18	11	2930883	ENST00000380574.1:c.480del	F160Lfs*69	Ekzon 5	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0001	VUS	PM2	KCNQ1, CDKN1C IGF2 ile etkileşim (STRING)
RAB3GAP2	1	220338141	ENST00000358951.2:c.3088G>A	E1030K	Ekzon 27	HET	(+)	0.1	0.1	rs770740537	0.0007	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
LYST	1	235940460	ENST00000389794.3:c.5363A>G	H1788R	Ekzon 17	HET	(+)	0.03	0.14	rs763749796	0.0001	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
Filtrelemelere uygun olmasa da ilişkili olabileceği düşünülerek eklenen varyantlar														
GPI	19	34890493	ENST00000415930.3:c.1464T>G	I488M	Ekzon 16	HET	(+)	0.76	0.84	rs543065808	0.003	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen / PMID: 32819571
ABCB6	2	220078186	ENST00000265316.3:c.1694T>C	F565S	Ekzon 11	HET	(+)	0.97	0.88	rs201713868	0.004	VUS	PM2, PP3	ABCG5, ABCG8, FECH, UROS, PPOX, CPOX, UROD ile etkileşim (STRING)

Tablo 28 (Devam). Olgu IV'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
ABCB4	7	87031503	ENST00000440025.1:c.181_182del	R61Sfs*37	Ekzon 2	HOM	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0	P	PVS1, PM2, PP4	Karaciğer ilişkili gen
SERPINA1	14	94849388	ENST00000448921.1:c.187C>T	R63C	Ekzon 4	HET	(+)	0.69	0.81	rs28931570	0.004	P	PM2, PP3, PP5	Karaciğer ilişkili gen

Tablo 29. Olgu V'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
SLC10A1	14	70246078	ENST00000216540.4:c.568-1G>A	N/A	İntron 2	HOM	(+)	N/A	N/A	rs777701095	0.0	LP	PVS1, PM2	Karaciğer ilişkili gen
B4GALT2	1	44447507	ENST00000309519.7:c.547C>T	R163W	Ekzon 3	HET	(-)	0.64	0.36	N/A	0.0003	VUS	PM2	GALE, GLB1, GALT, B4GALT1 ile etkileşim (STRING)
COQ5	12	120947905	ENST00000288532.6:c.596A>T	D199V	Ekzon 4	HET	(+)	0.89	0.70	rs778420997	0.001	VUS	PM2, PP3	COQ2, ETFDH ile etkileşim (STRING)
FOXK2	17	80525965	ENST00000335255.5:c.650C>T	A217V	Ekzon 3	HET	(+)	0.63	0.82	rs139282639	0.0	VUS	PM2	ASXL1, BAP1 ile etkileşim (STRING)
FURIN	15	91424623	ENST00000268171.3:c.1900G>A	E634K	Ekzon 16	HET	(+)	0.42	0.53	N/A	0.00	VUS	PM2, BP4	ANTXR1, PROP1, SCNN1G, FBN1, GPC3, PDGFB, GPC3, TGFB1, GPIHBP1, SERPINA1, LPL, NOTCH2, NOTCH1 ile etkileşim (STRING) / PMID: 26167473
INPP5E	9	139324194	ENST00000371712.3:c.1868C>T	S623L	Ekzon 10	HET	(+)	0.53	0.82	rs754887212	0.0	VUS	PM2, PP2	Karaciğer ilişkili gen
ITIH4	3	52857978	ENST00000266041.4:c.1214C>T	A405V	Ekzon 10	HET	(+)	0.69	0.65	rs1202469181	0.0	VUS	PM2, BP1	SLCO2A1 ile etkileşim (STRING) / PMID: 31238892, PMID: 24836184
NHLRC2	10	115663419	ENST00000369301.3:c.1628G>T	G543V	Ekzon 9	HET	(+)	0.83	0.94	N/A	0.0	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
PFKFB1	X	54978373	ENST00000375006.3:c.811G>A	G271R	Ekzon 8	HET	(+)	0.83	0.59	rs143311323	0.0005	VUS	PM2, PP3, BS2	PRKACA, MPI, HK1, PFKM, FBP1ile etkileşim (STRING)
PIK3C3	18	39584450	ENST00000262039.4:c.1115C>G	T372S	Ekzon 10	HET	(+)	0.14	0.17	N/A	0.001	VUS	PM2, BP4	VPS33A, VPS11, MTM1, MYH9, PI4KA, PIK3C2A, PIK3CG, VPS45, PIK3CA, PTEN, TSC2 ile etkileşim (STRING) / PMID: 35629298, PMID: 23551104
PLEC	8	145001037	ENST00000322810.4:c.4370G>A	R1457H	Ekzon 30	HET	(+)	0.56	0.36	rs782791508	0.0005	VUS	PM2	CASP8, BRCA2, RPS20, MRPS7 ile etkileşim (STRING) / PMID: 31269534
SRXN1	20	629470	ENST00000381962.3:c.302G>A	R101H	Ekzon 2	HET	(+)	0.62	0.59	rs757818892	0.001	VUS	PM2, PP3	GCLC ile etkileşim (STRING) / PMID: 32746503
MEF2D	1	156437870	ENST00000348159.4: c.1460_1468dup	D489_F490ins WGD	Ekzon 11	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0	VUS	PM2, PM4	CTNNB1, FOS, EP300, CREBBP ile etkileşim (STRING) / PMID: 24390737
ATP7B	13	52539150	ENST00000242839.4:c.1727C>T	A576V	Ekzon 5	HET	(+)	0.82	0.83	rs778293661	0.0009	VUS	PM2, PP3, PP2	Karaciğer ilişkili gen
SCYL1	11	65302853	ENST00000270176.5:c.1386C>T	S462=	Ekzon 10	HET	(+)	N/A	N/A	rs781625659	0.001	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
BEST3	12	70087583	ENST00000330891.5:c.352G>A	D118N	Ekzon 4	HET	(+)	0.73	0.98	rs143236582	0.001	VUS	PM2	CFTR ile etkileşim (STRING)
KCNQ5	6	73904791	ENST00000342056.2:c.2510T>C	V837A	Ekzon 15	HET	(+)	0.54	0.92	rs751284362	0.001	VUS	PM2	KCNH1, KCNAB2, KCNQ1, AP1S1 ile etkileşim (STRING)
Filtrelemelere uygun olmasa da ilişkili olabileceği düşünülerek eklenen varyantlar														
RSPO4	20	947888	ENST00000217260.4:c.338T>C	L113S	Ekzon 3	HET	(-)	0.73	0.64	rs574845619	0.003	VUS	PM2	HGPD, RNP43 ile etkileşim (STRING) / PMID: 33603089
CLCN7	16	1497569	ENST00000382745.4:c.2074G>A	V692M	Ekzon 23	HET	(+)	0.59	0.54	rs781763863	0.002	VUS	PM2, PP3	TCIRG1, SNX10, OSTM1 ile etkileşim (STRING)
EGFR	7	55269026	ENST00000275493.2:c.3092G>A	R1031Q	Ekzon 25	HET	(+)	0.30	0.59	rs570295933	0.003	VUS	PM2	Çok fazla genle etkileşim (STRING) / PMID: 26729094, PMID: 32283070

Tablo 30. Olgu VI'ya ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
PKD1L1	7	47913500	ENST00000289672.2:c.3893A>G	D1298G	Ekzon 24	HOM	(+)	0.33	0.39	N/A	0.0	VUS	PM2	PMID: 30664273
SLC25A20	3	48916790	ENST00000319017.4:c.417+1G>A	N/A	İntron 4	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0002	LP	PVS1, PM2	Karaciğer ilişkili gen
SH2B2	7	101943879	ENST00000536178.1: c.188_193dup	V63_P64dup	Ekzon 2	HET	(+)	N/A	N/A	rs1401756594	0.001	VUS	PM2, PM4	SOS1, CBL, INS, INSR, JAK2, KIT ile etkileşim (STRING) / PMID: 24358267
CEP162	6	84834791	ENST00000403245.3:c.4210T>G	*1404Eext*1	Ekzon 27	HET	(+)	N/A	N/A	rs540026799	0.0007	VUS	PM2, PM4	CEP290 ile etkileşim (STRING)
CHD3	17	7812061	ENST00000380358.4:c.5485G>C	A1829P	Ekzon 36	HET	(+)	0.91	0.83	N/A	0.0003	VUS	PM2, PP2, PP3	NAB2, IKZF1, MECOM, EP300, TRIM28, TP53, HIST1H4F, SMARCD1 ile etkileşim (STRING)
ERCC8	5	60200681	ENST00000265038.5:c.419T>G	F140C	Ekzon 5	HET	(+)	0.76	0.62	rs373783755	0.001	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
SUCLG1	2	84652676	ENST00000393868.2:c.877C>A	P293T	Ekzon 8	HET	(+)	0.65	0.75	rs767897478	0.0001	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
ALG11	13	52598807	ENST00000521508.1:c.941A>G	N314S	Ekzon 3	HET	(+)	0.60	0.61	N/A	0.0002	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
EPPK1	8	144942512	ENST00000525985.1:c.4910A>G	E1637G	Ekzon 2	HET	(-)	0.44	0.53	N/A	0.0001	VUS	PM2	PMID: 25617501
CYC1	8	145150908	ENST00000318911.4:c.302T>G	L101R	Ekzon 2	HET	(+)	0.15	0.13	rs1329523374	0.0001	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
ETFB	19	51857627	ENST00000354232.4:c.266C>T	A89V	Ekzon 1	HOM	(+)	0.14	0.25	rs143544475	0.0	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
LAMC2	1	183200176	ENST00000264144.4:c.1795G>A	G599S	Ekzon12	HET	(+)	0.95	0.81	N/A	0.0001	VUS	PM2, PP3	TMPRSS6, DMD, ERBB3, PIK3CA, MET, PIK3R1 ile etkileşim (STRING)
TCF19	6	31130453	ENST00000376257.3:c.997G>A	D333N	Ekzon 4	HOM	(+)	0.56	0.72	rs780773179	0.0004	VUS	PM2, BP4	KIF20A ile etkileşim (STRING) / PMID: 30509085
TGIF1	18	3456469	ENST00000330513.5:c.521A>G	E174G	Ekzon 2	HET	(+)	0.79	0.71	N/A	0.0001	VUS	PM2, PP3	CTBP1, SMAD4 ile etkileşim (STRING) / PMID: 20506222
SPTBN5	15	42180220	ENST00000320955.6:c.565C>T	R189W	Ekzon 5	HET	(+)	0.56	0.92	rs202240185	0.0005	VUS	PM2	SPTBN1, NRAS, KRAS, ANK1, SPTA1, SPTB ile etkileşim (STRING)
HPX	11	6452870	ENST00000265983.3: c.1129+1G>A	N/A	İntron 9	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0001	VUS	PM2	FGA, TF, CP, SERPINA1, HBB ile etkileşim (STRING)
ABCA6	17	67080572	ENST00000284425.2: c.4260+1G>T	N/A	İntron 33	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0001	LP	PVS1, PM2	PMID: 11478798
Filtrelemelere uygun olmasa da ilişkili olabileceği düşünülerek eklenen varyantlar														
CFTR	7	117171007	ENST00000003084.6:c.328G>C	D110H	Ekzon 4	HET	(+)	0.93	0.99	rs113993958	0.002	P	PP3, PP5, PM1, PM2, PM5	Karaciğer ilişkili gen
JAK1	1	65307203	ENST00000342505.4:c.2485A>G	N829D	Ekzon 18	HET	(+)	0.31	0.24	N/A	0.002	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
IL10RA	11	117866396	ENST00000227752.3:c.781C>T	R261W	Ekzon 6	HOM	(+)	0.21	0.10	rs201396764	0.003	VUS	PM2	PTPRC, JAK2, IL6, STAT3, JAK1, STAT1, IFNG, JAK3 ile etkileşim (STRING) / PMID: 16586534
GCK	7	44185707	ENST00000336642.4:c.37G>T	G13*	Ekzon 1	HET	(+)	N/A	N/A	rs570992081	0.006	LP	PVS1, PM2	Karaciğer ilişkili gen

Tablo 31. Olgu VII'ye ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
ATP7B	13	52513198	ENST00000242839.4:c.3688A>G	I1230V	Ekzon 17	Het	(+)	0.80	0.87	rs200911496	0.005	P	PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5	Karaciğer ilişkili gen
ATP7B	13	52532664	ENST00000242839.4:c.2138A>G	Y713C	Ekzon 8	Het	(+)	0.96	0.90	rs756883878	0.0002	LP	PM1, PM2, PP2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
TTC8	14	89291059	ENST00000380656.2:c.9_10dup	E4Gfs*51	Ekzon 1	Het	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0	LP	PVS1, PM2	Karaciğer ilişkili gen
ERCC6	10	50701221	ENST00000355832.5:c.1763G>C	W588S	Ekzon 8	Het	(+)	0.91	0.94	rs373522295	0.0006	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
GAA	17	78083834	ENST00000302262.3:c.1417G>A	G473S	Ekzon 9	Het	(+)	0.69	0.91	rs201409613	0.0005	VUS	PM2, PP3, PP2	Karaciğer ilişkili gen
EP300	22	41513656	ENST00000263253.7:c.560T>C	M187T	Ekzon 2	Het	(+)	0.40	0.57	N/A	0.0001	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
BCS1L	2	219526620	ENST00000431802.1:c.599G>A	R200Q	Ekzon 4	Het	(+)	0.23	0.79	rs1004879625	0.0	VUS	PM2, PP2	Karaciğer ilişkili gen

Tablo 32. Olgu VIII'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
HHEX	10	94449898	ENST00000282728.5:c.155C>G	P52R	Ekzon 1	HOM	(+)	0.60	0.83	rs201677862	0.0001	VUS	PM2	KCNJ11 ile etkileşim (STRING) / PMID: 35248949
ALG8	11	77835233	ENST00000530454.1:c.205C>G	P69A	Ekzon 3	HET	(-)	0.90	0.93	N/A	0.001	VUS	PP3, PM2, BP1	Karaciğer ilişkili gen
ANO1	11	69970493	ENST00000355303.5:c.935A>G	Y312C	Ekzon 9	HET	(+)	0.66	0.48	rs774149536	0.0003	VUS	PM2, BP1	KIT, CFTR, BRIP1, RTEL1 ile etkileşim (STRING)
ATP6V0A1	17	40652861	ENST00000264649.6:c.1837C>G	P613A	Ekzon 16	HET	(+)	0.79	0.83	N/A	0.0	VUS	PM2, PP2, PP3	TCIRG1, ATP6V1B2, TMEM199, TP6AP2, ATP6AP1 ile etkileşim (STRING)
BCHE	3	165548394	ENST00000264381.3:c.428G>A	G143D	Ekzon 2	HET	(+)	0.98	0.99	rs201820739	0.0008	P	PP5, PS3, PP3, PM2	Karaciğer ilişkili gen / PMID: 27300766
COL6A3	2	238253214	ENST00000295550.4:c.7447A>G	K2483E	Ekzon 36	HET	(+)	0.83	0.58	rs139260335	0.0003	LP	PM2, PP3, PP5	P4HA2, CASP8 ile etkileşim (STRING) / PMID: 33110211
GIPR	19	46180272	ENST00000590918.1:c.699G>A	W233*	Ekzon 8	HET	(+)	N/A	N/A	rs771830344	0.00	VUS	PM2	POMC, GNAS ile etkileşim (STRING) / PMID: 36140702, PMID: 31874232
IVD	15	40702929	ENST00000487418.2:c.398C>G	S133C	Ekzon 4	HET	(+)	0.96	0.99	rs752715934	0.0	VUS	PM2, PP3	EHHADH, DLD, PCCA, PCCB, AUH, ETFDH, ETFB, ETFA ile etkileşim (STRING)
KLHL8	4	88091630	ENST00000273963.5:c.1346C>G	P449R	Ekzon 7	HET	(+)	0.54	0.41	N/A	0.0003	VUS	PM2, BP4	LZTR1, SPOP ile etkileşim (STRING) / PMID: 33860118
LOXL4	10	100016701	ENST00000260702.3:c.1264C>T	R422C	Ekzon 9	HET	(+)	0.57	0.52	rs750542694	0.0	VUS	PM2, BP4	PMID: 26097573, PMID: 30728460
NBR1	17	41329965	ENST00000422280.1:c.115T>C	F39L	Ekzon 3	HET	(+)	0.20	0.11	rs199583278	0.001	VUS	PM2, BP4	SPRED2, PEX5 ile etkileşim (STRING) / PMID: 19250911
POLG	15	89868886	ENST00000268124.5:c.1744G>A	D582N	Ekzon 10	HET	(+)	0.44	0.77	rs746560565	0.0001	VUS	PM1, PM2, PP2	Karaciğer ilişkili gen / PMID: 19195941, PMID: 31799506
SMC2	9	106880598	ENST00000286398.7:c.1938G>A	M646I	Ekzon 15	HET	(+)	0.52	0.57	N/A	0.0	VUS	PM2, BP4	RACGAP1, MSH6, MSH2, MCM4, POLD1, KIF20A, SRP54, TYMS, PRIM1, ESCO2, KIF23 ile etkileşim (STRING) / PMID: 34572426
SPG7	16	89598369	ENST00000268704.2:c.1045G>A	G349S	Ekzon 8	HET	(+)	0.95	0.99	rs141659620	0.0002	P	PM2, PP3, PP5	MICU1, LONP1 ile etkileşim (STRING)
ITPR3	6	33631599	ENST00000374316.5:c.1090G>A	A364T	Ekzon 12	HET	(+)	0.76	0.78	rs749099428	0.0	VUS	PM2, PP3, PP2	ANK1, BLNK, RASGRP1, SYK, PRKAR1A, PRKACA, CAV1, INS, BTK ile etkileşim (STRING)
ITPR3	6	33631599	ENST00000374316.5:c.6242A>C	E2081A	Ekzon 47	HET	(+)	0.33	0.48	rs140217812	0.0001	VUS	PM2, PP2	ANK1, BLNK, RASGRP1, SYK, PRKAR1A, PRKACA, CAV1, INS, BTK ile etkileşim (STRING)

Tablo 33. Olgu IX'a ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
UNC5B	10	73047403	ENST00000335350.6:c.782G>A	R261H	Ekzon 6	HET	(+)	0.21	0.28	rs892820846	0.0003	VUS	PM2, BS4	APPL1, PIK3R1, PIK3CA, PTPN11 ile etkileşim (STRING) / PMID: 20092749
PAX4	7	127255465	ENST00000341640.2:c.110G>A	R37Q	Ekzon 1	HET	(-)	0.91	0.99	rs147279315	0.0007	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
LHX3	9	139092464	ENST00000371746.3:c.230G>A	R77Q	Ekzon 2	HET	(-)	0.82	0.80	rs769081925	0.0003	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
KCNN3	1	154680711	ENST00000271915.4:c.1937A>G	N646S	Ekzon 8	HET	(+)	0.36	0.73	rs927916560	0.0005	VUS	PM2, PP2	Karaciğer ilişkili gen
SPTB	14	65260265	ENST00000389722.3:c.2116C>T	R706C	Ekzon13	HET	(-)	0.20	0.14	rs184962510	0.001	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
BMP10	2	69098229	ENST00000295379.1:c.262C>G	R264Afs*59	Ekzon 1	HET	(+)	0.72	0.61	N/A	0.0001	VUS	PM2, PP3	BMPR1A, BMP2, ACVRL1, NKX2-5 ile etkileşim (STRING) / PMID: 32454407, PMID: 34240497
HKDC1	10	71010319	ENST00000354624.5:c.1747G>A	D583N	Ekzon 12	HET	(-)	0.69	0.96	rs373673344	0.001	VUS	PM2	Çok fazla genle etkileşim (STRING) / PMID: 30517626
KLHL40	3	42727898	ENST00000287777.4:c.790del	R264Afs*59	Ekzon 1	HET	(-)	N/A	N/A	N/A	0.0	LP	PVS1, PM2	LZTR1, SPOP ile etkileşim (STRING)
TMEM67	8	94768037	ENST00000453321.3:c.256del	M86*	Ekzon 2	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0	LP	PVS1, PM2	Çok fazla genle etkileşim (STRING) / PMID: 29891882, PMID: 28680603
CSF3R	1	36932052	ENST00000373103.1:c.2498G>C	S833T	Ekzon 17	HET	(+)	0.05	0.12	rs927190839	0.0001	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
Filtrelemelere uygun olmasa da ilişkili olabileceği düşünülerek eklenen varyantlar														
NUCB2	11	17337005	ENST00000529010.1:c.985G>C	E329Q	Ekzon 11	HET	(+)	0.18	0.30	rs200987538	0.002	VUS	PM2, BP4	PMID: 30680332

Tablo 33 (Devam). Olgu IX'a ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
USB1	16	58052959	ENST00000219281.3:c.693G>A	Q231=	Ekzon 6	HET	(+)	N/A	N/A	rs770883144	0.0	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
USB1	16	58054087	ENST00000219281.3:c.736G>A	V246M	Ekzon 7	HET	(+)	0.04	0.12	rs751177454	0.0001	VUS	PM2, BP4	Karaciğer ilişkili gen
D2HGDH	2	242683166	ENST00000321264.4:c.620A>G	N207S	Ekzon 5	HET	(-)	0.84	0.95	rs1263847622	0.0	VUS	PM2, PP3	ETFDH ile etkileşim (STRING)
MGAM	7	141756713	ENST00000549489.2:c.3664C>A	P1222T	Ekzon 30	HET	(+)	0.91	0.94	rs768217462	0.0003	VUS	PM2, PP3	GLB1, INS, PYGL, GAA, GBE1, MOGS, AGL ile etkileşim (STRING)
MTHFR	1	11862971	ENST00000418034.1:c.203G>A	R68Q	Ekzon 2	HET	(+)	0.69	0.85	rs2066472	0.0003	VUS	PM3, PP5	DHFR, TYMS, MTRR, AHCY, CBSL, F5, NOS3, COMT ile etkileşim (STRING) / PMID: 26031974
MTHFR	1	11862971	ENST00000376592.1:c.665C>T	A222V	Ekzon 4	HET	(+)	0.84	0.00	rs1801133	0.04	B	PP3, BA1, BS2, BP6	DHFR, TYMS, MTRR, AHCY, CBSL, F5, NOS3, COMT ile etkileşim (STRING) / PMID: 26031974
MYO7A	11	76867797	ENST00000409709.3:c.562C>G	Q188E	Ekzon 6	HET	(+)	0.84	0.80	rs572959359	0.0005	VUS	PM1, PM2, PP3	SLC26A4, RAB27A ile etkileşim (STRING)
NOP14	4	2964862	ENST00000416614.2:c.185C>A	A62D	Ekzon 1	HET	(+)	0.49	0.26	rs376998267	0.0003	VUS	PM2, BP4	CIRH1A, PUS7, DKC1, MRPS7, WBSCR22, NHP2 ile etkileşim (STRING)
PPM1K	4	89189434	ENST00000608933.1:c.760G>A	V254I	Ekzon 5	HET	(+)	0.22	0.10	rs149542046	0.0007	VUS	PM2	DLD ile etkileşim (STRING) / PMID: 34382495
RETSAT	2	85576627	ENST00000295802.4:c.877C>T	R293*	Ekzon 5	HET	(+)	N/A	N/A	rs143670128	0.0008	VUS	PM2	PMID: 32345479
ENG	9	130579458	ENST00000373203.4:c.1711C>T	R571c	Ekzon 13	HET	(+)	0.31	0.15	rs764262721	0.0	VUS	PM2, BP6	Karaciğer ilişkili gen
RTEL1	20	62322288	ENST00000360203.5: c.2544_2546delinsCGA	G849D	Ekzon 27	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.01	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
CERS4	19	8326631	ENST00000251363.5:c.913_915del	F305del	Ekzon 11	HET	(+)	N/A	N/A	rs774352431	0.0006	VUS	PM4, PM2	ASAH1, GBA, SMPD1 ile etkileşim (STRING) / PMID: 28789368
LMF2	22	50941822	ENST00000474879.2: c.2119_2121del	K707del	Ekzon 14	HET	(+)	N/A	N/A	rs1569517791	0.001	VUS	PM2, PM4	PMID: 36513072
MST1	3	49722731	ENST00000449682.2:c.1508C>T	P503L	Ekzon 13	HET	(+)	0.75	0.70	rs761826355	0.0	VUS	PM2, PP3	PMID: 30708325, PMID: 26903296

Tablo 34. Olgu X'a ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
Filtrelemelere uygun olmasa da ilişkili olabileceği düşünülerek eklenen varyantlar														
MVK	12	110034320	ENST00000228510.3:c.1129G>A	V377I	Ekzon 11	HET	(+)	0.55	0.58	rs28934897	0.005	P	PM2, PP2, PP5	Karaciğer ilişkili gen / PMID: 18008182
HFE	6	26091179	ENST00000357618.5:c.187C>G	H63D	Ekzon 2	HET	(+)	0.31	0.63	rs1799945	0.02	P	PS1, PS3, PP5, PM1	Karaciğer ilişkili gen
CISH	3	50645153	ENST00000443053.2:c.713G>A	R238H	Ekzon 4	HET	(+)	0.19	0.19	rs139699451	0.004	VUS	PM2	IL7R, STAT4, GH1, STAT6, JAK2, STAT1, STAT2, IL2RB, IL2RA, IL2RG, JAK3, IL7R ile etkileşim (STRING) / PMID: 24964072
PLCD1	3	38050025	ENST00000463876.1:c.1889G>A	R630Q	Ekzon 12	HET	(+)	0.61	0.58	rs146357368	0.004	VUS	PM1, PM2	INPP5E, OCRL, PIK3C2A, PI4KA, PIK3CA ile etkileşim (STRING)
YTHDC2	5	112888875	ENST00000161863.4: c.1689-3_1693delinsTTAGTGCTT	N/A	Ekzon 13	HOM	(+)	N/A	N/A	N/A	0.003	LP	PVS1	hnRNPA2B1 ile etkileşim (STRING) / PMID: 32150756
GBE1	3	81627202	ENST00000429644.2:c.1492G>A	E498K	Ekzon 12	HET	(+)	0.85	0.86	rs201758548	0.008	VUS	PP5, PM2	Karaciğer ilişkili gen
SOAT2	12	53499701	ENST00000301466.3:c.346G>A	E116K	Ekzon 5	HET	(+)	0.49	0.17	rs147720890	0.002	VUS	PM2, BP4	CYP27A1, CYP7A1, DHCR7, LCAT ile etkileşim (STRING) / PMID: 30630736, PMID: 34982494

Tablo 34 (Devam). Olgu X'a ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
IFIH1	2	163133981	ENST00000263642.2:c.1988T>A	L663*	Ekzon 10	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0007	LP	PVS1, PM2	Karaciğer ilişkili gen
TRPV3	17	3427536	ENST00000301365.4:c.1699C>T	R567W	Ekzon 13	HET	(+)	0.76	0.78	rs755624893	0.0005	VUS	PM1, PM2, PP3	PMID: 33906111
SRSF5	14	70238004	ENST00000553521.1:c.648_653del	R224_S225del	Ekzon 9	HET	(+)	N/A	N/A	rs775320407	0.0	VUS	PM2, PM4	GLB1, MPC1, TNPO3, RBM8A, LRPPRC, HNRNPA2B1, HNRNPA1 ile etkileşim (STRING) / PMID: 27022105, PMID: 36759613
POLRMT	19	621392	ENST00000588649.2: c.2303_2305del	V768del	Ekzon 10	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0	VUS	PM2, PM4	LRPPRC, TFAM, POLG, POLG2, C10orf2 ile etkileşim (STRING)
TPR	1	186283116	ENST00000367478.4: c.7077_7078del	G2360Kfs*3	Ekzon 51	HET	(+)	N/A	N/A	rs1192429196	0.0	VUS	PM2	WDR60, DYNC2H1, WDR34, DYNC2LI1, ATRX, NPM1, GCK ile etkileşim (STRING)
CARS2	13	111294805	ENST00000257347.4:c.1480C>T	R494W	Ekzon 14	HET	(+)	0.74	0.48	rs200697273	0.0	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
CLCN7	16	1510505	ENST00000382745.4:c.508G>T	G170C	Ekzon 6	HET	(+)	0.70	0.57	N/A	0.0	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
PGM1	1	64089252	ENST00000371083.4:c.121C>T	R41W	Ekzon 1	HET	(+)	0.69	0.76	rs373963576	0.0	VUS	PM2, PP3	Karaciğer ilişkili gen
NFKB2	10	104155724	ENST00000369966.3:c.8G>T	S3I	Ekzon 2	HET	(+)	0.07	0.06	rs778625681	0.0	VUS	PM2, PP2	Karaciğer ilişkili gen
ABCC2	10	101610499	ENST00000370449.4:c.4454A>G	H1485R	Ekzon 31	HET	(+)	0.36	0.24	rs780026074	0.0008	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
NLRP1	17	5462841	ENST00000572272.1:c.1175C>T	P392L	Ekzon 4	HET	(+)	0.23	0.20	rs200691997	0.0001	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
LIG3	17	33329034	ENST00000378526.4:c.2585G>A	G862E	Ekzon 18	HET	(+)	0.11	0.17	N/A	0.0	VUS	PM2	Karaciğer ilişkili gen
ROR2	9	94487202	ENST00000375708.3:c.1574C>G	A525G	Ekzon 9	HET	(+)	0.81	0.82	rs34584753	0.0007	VUS	PM2, PP3	LRP5, CTNNB1 ile etkileşim (STRING)
ANGPTL2	9	129851243	ENST00000373425.3:c.1457G>A	R486Q	Ekzon 5	HET	(+)	0.85	0.74	rs553905166	0.0001	VUS	PM2, PP3, BS2	PMID: 28962551
PLEC	8	144993544	ENST00000322810.4:c.10856G>A	R3619H	Ekzon 32	HET	(+)	0.64	0.69	rs548876454	0.0009	VUS	PM2	CASP8, RPS20, MRPS7 ile etkileşim (STRING) / PMID: 31269534
MICU3	8	16942748	ENST00000318063.5:c.698C>T	P233L	Ekzon 6	HET	(+)	0.85	0.77	N/A	0.0	VUS	PM2, PP3	MICU1ile etkileşim (STRING)
TPST1	7	65705656	ENST00000304842.5:c.244A>G	T82A	Ekzon 2	HET	(+)	0.83	0.65	N/A	0.0001	VUS	PM2, PP3	SBDS ile etkileşim (STRING)
ZNF467	7	149462105	ENST00000302017.3:c.1486T>C	F496L	Ekzon 5	HET	(+)	0.82	0.53	rs772209814	0.0001	VUS	PM2, PP3	PPARG ile etkileşim (STRING)
DDC	7	50607690	ENST00000444124.2:c.238T>C	F80L	Ekzon 3	HET	(+)	0.70	0.28	N/A	0.0001	VUS	PM1, PM2, PP2, PP3	TPO, COMT ile etkileşim (STRING) / PMID: 31387309
ITPR3	6	33653962	ENST00000374316.5:c.5800G>A	V1934M	Ekzon 43	HET	(+)	0.74	0.91	rs778613128	0.0001	VUS	PM2, PP3	ANK1, BLNK, RASGRP1, SYK, BTK, INS, CAV1, PRKAR1A, PRKACA, RINT1 ile etkileşim (STRING)

Tablo 35. Olgu XI'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
SEC24D	4	119689414	ENST00000280551.6:c.1094G>C	R365T	Ekzon 19	HET	(+)	0.80	0.72	rs1331296275	0.0009	VUS	PM2, PP3	PCCA, DDOST, SAR1B, SEC24C, SEC63, SEC23B ile etkileşim (STRING) / PMID: 31530870
SULF2	20	46294031	ENST00000359930.4:c.1909A>G	T637A	Ekzon 14	HET	(+)	0.54	0.93	rs1376884572	0.0001	VUS	PM2, PP3	GPC3 ile etkileşim (STRING) / PMID: 34771445
ZDHHC13	11	19164627	ENST00000446113.2:c.132dup	I45Yfs*5	Ekzon 2	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0001	VUS	PM2	PMID: 28526873
PHTF1	1	114254626	ENST00000369604.1:c.893C>A	S298*	Ekzon 9	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0008	VUS	PM2	HNF1A ile etkileşim (STRING)
VIPR1	3	42573803	ENST00000325123.4:c.991_992del	S331*	Ekzon 10	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0004	VUS	PM2	GNAS ile etkileşim (STRING)
CEP97	3	101474338	ENST00000341893.3:c.793C>T	Q265*	Ekzon 7	HET	(+)	N/A	N/A	N/A	0.0001	VUS	PM2	CEP164, CEP290 ile etkileşim (STRING)
OVGP1	1	111959052	ENST00000369732.3:c.1049G>T	G350V	Ekzon 10	HET	(+)	0.56	0.41	rs200976846	0.0001	VUS	PM2	MYH9 ile etkileşim (STRING)
NUP88	17	5314081	ENST00000573584.1:c.622C>G	P208A	Ekzon 4	HET	(+)	0.60	0.46	rs756510982	0.0001	VUS	PM2, PP3	GCK ile etkileşim (STRING)
Filtrelemelere uygun olmasa da ilişkili olabileceği düşünülerek eklenen varyantlar														
SPTA1	1	158612645	ENST00000368147.4:c.4564A>G	T1522A	Ekzon 32	HET	(-)	0.06	0.06	rs201910178	0.002	VUS	BP4	Karaciğer ilişkili gen

Tablo 35 (Devam). Olgu XI'e ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

Gen	Kromozom	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Varied karaciğer ekspresyonu	Revel Skoru	MetaLR Skoru	rsID Numarası	Minör Allel Frekansı (SEQ Platformu)	Patojenik Sınıflandırma *	Patojenisite Kriterleri*	Patojenik Prediksiyon / Literatür Taraması
FOCAD	9	20720433	ENST00000380249.1: c.187C>T	R63*	Ekzon 6	HOM	(+)	N/A	N/A	rs781347830	0.0	LP	PVS1, PM2,	Karaciğer ilişkili gen

Tablo 36. Olgu XII'ye ait karaciğer hastalığı ilişkili olabilecek varyantlar. PMID: 'PubMed Unique Identifier', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, P: Patojenik, LP: 'likely' patojenik, VUS: 'variant of uncertain significance'. * Patojenisite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır.[143]

5. TARTIŞMA

Kalıtsal karaciğer hastalıkları, çeşitli klinik semptomlar ve laboratuvar anormallikleri ile ortaya çıkabilen heterojen bir hastalık grubudur. Tüm ekzom dizileme, açıklanamayan karaciğer hastalığı olan olgularda aday genleri ve nedensel mutasyonları tanımlamak için güçlü bir araçtır. Bu çalışmada kalıtsal karaciğer hastalıklarına neden olan gen mutasyonlarını TED yöntemi ile araştırmayı ve aday genleri belirlemeyi amaçladık. Bu amaçla Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Çocuk Genetik Bilim Dalı polikliniğine başvuran, idiyopatik karaciğer hastalığı olarak takip edilmeye devam eden 10 hastaya tüm ekzom dizileme analizi çalışılmış, 2 hastanın klinik ekzom dizileme verisi incelenmiştir. Dört olguda kliniği açıklayabilecek tanısal genetik varyant saptanmış, dört olguda ise klinik ile ilişkili potansiyel tanısal genetik varyant tespit edilmiştir. Kalan dört olguda yeni mutasyonlar ve aday genler öne sürülmüştür fakat fizyopatolojik ilişkinin kesinleştirilebilmesi için ek çalışmalar gerekmektedir.

Literatürde kalıtsal karaciğer hastalıklarında TED ile tanı oranı %6 ile %25 arasında değişmektedir. Çalışmamızdaki tanı oranı %33 olup diğer çalışmalara göre tanı oranındaki yüksekliğin sebebinin, örneklemin çoğunluğunu aile öyküsü ve akraba evliliği bulunan olguların oluşturması olabileceği düşünülmektedir.[11,138,139]

Çalışmamızda değerlendirilen 5 olgunun ebeveynleri arasında akrabalık mevcuttu, 2 olgunun ise anne babası aynı köyden evlenmişti. Kliniği açıklayabilecek tanısal genetik varyant saptanan 4 olgunun 3'ünde otozomal resesif kalıtımlı hastalık ilişkili gende homozigot değişim saptanması nedeniyle, çalışmamızda homozigot değişimin literatüre göre daha yüksek saptanabileceği düşünüldü. Literatüre bakıldığında tanı konulan hastalar arasında otozomal resesif kalıtımlı hastalık saptanma oranı %0 ile %31 arasında değişmektedir. Akraba evliliğinin yüksek olduğu toplumlarda şu ana kadar bildirilmiş benzer bir çalışma mevcut olmadığından kıyaslama yapılamamış olup, çalışmamızda saptanan %75 oranının desteklenebilmesi için akraba evliliği yüksek olan toplumlarda daha geniş olgu serilerinde yapılan çalışmalarla değerlendirilmelidir.

Yapılan çalışma sonucunda tanısal patojen ve etiyolojiyi açıklayabilecek varyantlar dışında, 211 aday varyant tespit edilmiştir. Bu varyantlar ilişkili tablolarda belirtilmiştir. Olgularda saptanan tanısal varyantlar ve önceliklendirilen varyantlar aşağıda tartışılmıştır.

Olgu I'de *MYH9* geninin 21. ekzonunda c.2519_2536del heterozigot değişimi ve *MYH9* geninin 21. ekzonunda c.2539T>A heterozigot değişimi saptanmıştır. *MYH9* geni 22q12.3'te yer alır ve 41 ekzondan oluşmaktadır. Selüler adezyon, göç ve kontraktilitede önemli bir rol oynayan bir hücre iskeleti proteini olan "non-muscle myosin heavy chain IIA" (NMMHC-IIA)'yı kodlar.[158] *MYH9*'daki varyantlar, geçmişte May-Hegglin anomalisi, Sebastian sendromu, Fechtner sendromu ve Epstein sendromunu içeren otozomal dominant kalıtımlı *MYH9* ilişkili bozukluklar olarak bilinen bir grup hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Bu hastalıklar, trombositopeni, işitme kaybı ve bazı vakalarda görülen böbrek, karaciğer fonksiyon bozukluğu ile karakterizedir. *MYH9* geninde patojenik değişime sahip hastaların fenotipik özellikleri genellikle zaman içinde ortaya çıktığından ve bu fenotipik özellikler tüm olası belirtileri tanımlayamadığından bu hastalıklara '*MYH9*-Related Diseases' şeklinde yeni bir adlandırma önerilmiştir. '*MYH9*-Related Diseases' (*MYH9*-RD) terimi, tipik konjenital hematolojik bulguları (makrotrombositopeni ve nötrofillerde *MYH9* protein agregatları) sergileyen ve yaşamları boyunca hastalığın bir veya daha fazla ekstra hematolojik belirtilerini geliştiren *MYH9* geninde patojenik varyanta sahip tüm bireyleri kapsar.[159]

Olgu I'de saptanan *MYH9* varyantı, *MYH9* geninin 21. ekzonunda Valin 840 ile Glutamik asit 845 (p.Val840_Glu845del) arasındaki amino asitlerin heterozigot olarak silinmesine neden olmaktadır. Bu değişim, daha önce literatürde bildirilmemiştir ve bu nedenle klinik önemi bilinmeyen (VUS) varyant olarak sınıflandırılmıştır. Ancak fenotip ile uyumlu kabul edilerek değerlendirildiğinde ACMG kriterlerince muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmaktadır. Bu varyant protein-protein etkileşimlerinden sorumlu olan ve NMMHC-IIA filamentlerinin bileşimi ve stabilitesinde önemli rol oynayan NMMHC-IIA proteininin "coiled coil" domaini etkilemektedir.[160] Literatür taramasında aynı domainde 21 bp'lik in frame delesyona neden olan patojenik bir varyantın ClinVar veri tabanında

bildirildiği görülmüştür.[161] Bu bildiri, olgumuzdaki 18 baz çiftini etkileyen çerçeve içi delesyonun patojenikliğini desteklemektedir.

Olgu I'deki spesifik varyant hakkındaki bilgi eksikliğine rağmen, *MYH9* genindeki patojenik varyantlar ile karaciğer hastalıkları arasındaki ilişki bilinmektedir. Örneğin, Kunishima ve ark. yapılan çalışmalarda, kronik karaciğer hastalığı ve trombositopenisi olan vakalarda *MYH9* varyantları tanımlamışlardır. Bu çalışmalarda ayrıca önemli olabilecek ekzon 1'de mutasyonu olan *MYH9* bozukluklarında inklüzyon cisimciklerinin genellikle soluk olduğunu belirtmişlerdir. Bu bildiri olgumuzda tespit edilen varyant ekzon 1'de yer almamasına rağmen, nötrofillerdeki sitoplazmik inklüzyonların az sayıda görülmesi durumunu desteklemesiyle uyumludur.[162,163] Ayrıca Pecci ve ark. karaciğer testlerindeki değişikliğin MYH9-RD'nin bir özelliği olup olmadığını değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada sonuçlarına ulaşabildikleri 75 *MYH9*-RD hastasının 38'inde (%50,7) ALT ve/veya AST artışı ve 63 hastanın 17'sinde (%27,0) GGT artışı görüldüğünü bildirmişlerdir. Klinik takip ve ayrıntılı karaciğer çalışmaları sonucu, herhangi bir önemli yapısal hasar veya karaciğer yetmezliğine doğru değişim tespit etmediklerini bildirmişlerdir.[164]

Olgumuzda bulunan yüksek aminotransferaz seviyeleri, trombositopeni, işitme kaybı ve kuzeninde tüm bu bulgulara ek olarak nefropati bulunması *MYH9* ile ilişkili bozukluklarla arasında potansiyel bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, olgumuzda tespit edilen spesifik varyant hakkında bilgi eksikliği, bunun patojenitesi hakkında kesin sonuçlar çıkarmanın zor olduğu anlamına gelir. Varyantın NMMHC-IIA proteininin işlevi üzerindeki etkisini belirlemeye yönelik fonksiyonel analizler veya etkilenen popülasyonlarda varyantın sıklığını belirlemeye yönelik popülasyon çalışmaları gibi daha ileri araştırmalar, bu varyantın klinik önemine ışık tutmaya yardımcı olabilir.

Sonuç olarak olgu I'de tespit edilen *MYH9* genindeki c.2519_2536del varyantı kalıtsal karaciğer hastalarında etiyolojik nedenlerin araştırılması için yapılacak ileri çalışmalar için iyi bir potansiyel hedeftir. Varyantın ACMG kriterlerince patojenitesi belirsiz kalsa da, *MYH9*-RD ilişkili semptomların hastada varlığı varyant ile hastalık arasında potansiyel

bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir. Yapılacak segregasyon analizi, fonksiyonel analizler ve linkaj analizleri ile varyantın patojenitesinin belirlenmesi mümkün olabilecektir.

Olgu IV'te *GALK1* geninde homozigot c.552C>G varyantı saptanmıştır. Bu olguda tespit edilen homozigot varyant, ClinVar'da klinik önemi bilinmeyen varyant (VUS) olarak bildirilen *GALK1* geninin yanlış anlamlı (missens) bir varyantıdır. [165] *GALK1* geni kromozom 17q24.2'de yer alır ve 8 ekzondan oluşur. Süt ve süt ürünlerinde bulunan bir şeker olan galaktoz metabolizmasında gerekli olan, galaktozun glikoza dönüştürülmesindeki ilk adımı katalize eden galaktokinaz 1 enzimini kodlar. *GALK1* genindeki mutasyonlar, galaktokinaz aktivitesi eksikliği nedeniyle kanda ve dokularda galaktoz birikmesi ile karakterize otozomal resesif kalıtılan bir hastalık olan galaktozemi tip 2 (galaktokinaz eksikliği) ile ilişkilendirilmiştir.[166]

Olgu inek sütü alerjisi nedeniyle 6 aylıkken araştırılırken KCFT yüksekliği saptanmıştır. *GALK1* geninde tespit edilen homozigot c.552C>G varyantı potansiyel olarak hastanın yüksek aminotransferaz seviyelerine katkıda bulunabilir, çünkü bu gendeki mutasyonlar daha önce kan ve idrarda yüksek galaktoz seviyelerinin yanı sıra karaciğer fonksiyon bozukluğu ile seyredebilen, göz bulgusu olarak da kataraktın görüldüğü galaktokinaz eksikliği ile ilişkilendirilmiştir. Aralık 2014'ten Nisan 2020'ye kadar 11 ülkedeki 17 merkezden daha önce bildirilmemiş 53 galaktokinaz eksikliği hastasının tıbbi verilerini toplayan bir çalışmada bu hastaların %25.5'inde yüksek transaminaz seviyeleri görüldüğü bildirilmiştir.[167] Bununla birlikte, bu şüpheyi doğrulamak ve hasta için kesin bir tanı koymak için daha ileri klinik ve biyokimyasal değerlendirmeler gereklidir.

Olgu IV'te saptanan *GALK1* genindeki homozigot varyant SIFT, PolyPhen-2 ve CADD in silico analizlerinde zarar verici 'damaging' olarak tahmin edilmektedir. Bu durum varyantın patojenitesini ve bunun galaktozemi tip 2 ile ilişkisini desteklemektedir. Varyant, *GALK1* geninin 4. ekzonundadır ve 184. pozisyondaki nötr, non-polar izolösin aminoasitinden nötr, non-polar metiyonin değişimine neden olur. Bu değişimin, proteinin

GHMP kinaz N-terminal domain'inde korunmuş bir bölgeyi etkilediği için protein işlevine zarar verdiği tahmin edilmektedir.[165]

Yapılan araştırmalarda, *GALK1* geninde klasik galaktozemiye neden olan, missense, nonsense, frameshift ve splice bölgesi mutasyonları da dahil olmak üzere farklı patojenik varyantlar bildirilmiştir. Galaktokinaz eksikliği dünya genelinde yaygın bir hastalıktır ancak Romanlar arasında yüksek bir prevalansa sahiptir. Bu popülasyonda çoğunlukla Romani mutasyonu olarak bilinen özel bir mutasyon tespit edilmektedir. Bu mutasyon P28T missens mutasyonudur. Kurucu 'founder' etkisi nedeniyle Roman popülasyonunda yüksek tespit oranına sahiptir. *GALK1* geninin başka bir mutasyonu A198V varyantıdır. Bu varyant, Osaka varyantı olarak bilinmektedir. Japon ve Kore popülasyonları arasında önemli bir sıklıktadır. Osaka varyantının, yaşlı erişkinlerde galaktokinaz eksikliğine yol açarak katarakta neden olduğu düşünülmektedir.[168]

Olgumuzda bulunan retina pigmentasyonu ile ilgili olarak, bu semptomun varlığının galaktozemi tip 2 ile uyumlu olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Galaktozemi tip 2 hastalarında retina anormalliklerinin görüldüğü daha önce literatürde bildirilmiştir.[169,170] Olguda galaktozeminin bir diğer yaygın semptomu olan kataraktın gelişmemesi, inek sütü alerjisi nedeniyle galaktoz tüketimin azaltılmasına bağlı olması muhtemeldir. Galaktoz birikimi galaktokinaz eksikliğinin bir sonucu olduğundan, süt gibi galaktoz içeren gıdalardan kaçınmak semptomların ve bulguların gelişimini önlemeye yardımcı olabilir.

Sonuç olarak, bu hastada tespit edilen *GALK1*'deki homozigot varyant, belirsiz öneme sahip bir varyanttır. In silico analizler, varyantın muhtemelen zarar verici olduğunu öngörürken, patojenitesini ve galaktokinaz eksikliğine potansiyel katkısını doğrulamak için daha ileri fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Olgu V'te *ABCB4* geninde çerçeve kaymasına neden olan c.181_182del varyantı saptanmıştır. Bu varyant daha önce literatürde bildirilmemiştir. ACMG kılavuzlarına göre değerlendirildiğinde muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmaktadır. Varyantın neden

olduğu çerçeve kayması mutasyonu, erken stop kodonu oluşturarak, kesik 'truncated' MDR3 proteini üretimine neden olmaktadır.

ABCB4 geni 7q21.1 bölgesinde bulunur ve 28 ekzondan oluşmaktadır. *ABCB4* geni sınıf III çoklu ilaç direnci (MDR3) P-glikoproteini kodlamaktadır. Bu gen progresif intrahepatik kolestaz tip 3 (PFIC3) olarak bilinen nadir bir genetik karaciğer hastalığı ile ilişkilidir. Bu hastalık, yetişkinlik döneminden önce siroz ve karaciğer yetmezliğine ilerleyen, serum γ-glutamiltranspeptidaz yüksekliği ile erken başlangıçlı kolestaza yol açabilen, safra asidi salgılanması ve taşınmasında yer alan genlerdeki mutasyonlar nedeniyle safra akışının bozulması ile karakterizedir.[171] Safraya fosfolipid sekresyonundan sorumlu MDR3 proteinini kodlayan *ABCB4* genindeki mutasyonlar, PFIC3, intrahepatik gebelik kolestazı (ICP) ve düşük fosfolipid ile ilişkili kolelitiazis sendromu (LPAC) gibi bir dizi karaciğer hastalığına neden olabilir.

Daha önce yapılan çalışmalar da *ABCB4* geninin karaciğer hastalıkları ile ilişkisini bildirmiştir. Örneğin, Jacquemin ve ark. PFIC3'lü hastalarda *ABCB4* genindeki mutasyonları tanımlamış ve bu mutasyonların çoğunun MDR3 proteininin kesik veya eksik olmasına yol açan çerçeve kayması veya nonsense mutasyonlar olduğunu bildirmiştir.[172] Degiorgio ve ark. PFIC3'lü 18 probandda 25 yeni mutasyon dahil olmak üzere *ABCB4* geninde 29 farklı mutasyon tanımlamıştır.[171]

Sonuç olarak, yaptığımız çalışmada tespit ettiğimiz homozigot muhtemel patojenik *ABCB4*, ekzon 2, (ENST00000440025.1) c.181_182del, p.Arg61SerfsTer37 varyantı, PFIC3 tanısı ile uyumludur ve daha önce bildirilmemiş bir varyant olduğu için *ABCB4* genindeki mutasyonların PFIC3 ile ilişkisini açıklayan literatüre katkı sağlar. Bu durum, genetik testlerin idiyopatik karaciğer hastalıklarının tanısındaki önemini vurgulamaktadır.

Olgu VI'da *SLC10A1* geninde homozigot muhtemel patojenik c.568-1G>A varyantı saptanmıştır. *SLC10A1* geni 14q24.1'de yer alır ve 5 ekzondan oluşur. Bu gen konjuge safra tuzlarının plazmadan hepatosit içine bir taşıyıcısını ('transporter') kodlar. Sodyum/safra asidi kotransporterleri, safra asitlerinin enterohepatik dolaşımına katılan integral membran glikoproteinleridir. Biri apikal lokalizasyonla (*SLC10A2*) bağırsak

lümeninden, safra kanalından ve böbrekten emilen, diğeri hepatositlerin bazolateral zarlarında (*SLC10A1*) bulunan iki homolog taşıyıcı safra asitlerinin yeniden emiliminde rol oynar.

SLC10A1 genindeki mutasyonlar, OMIM veri bankasında 'sodium taurocholate cotransporting polypeptide' (NTCP) eksikliği olarak da bilinen "ailesel hiperkolanemi-2 (FHCA2)" ile ilişkilendirilmiştir. NTCP eksikliği olan ilk hasta literatürde 2015 yılında tanımlanmıştır. Literatürde bildirilen hasta sayısı sınırlıdır ve bu hastalardaki genotipik ve fenotipik özelliklerin tanımlanması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.[173]

Ailesel hiperkolanemi-2, doğumdan itibaren belirgin, konjuge safra tuzlarının artan plazma seviyeleri ile karakterize, otozomal resesif kalıtımlı, konjenital bir metabolik hastalıktır. Safra asidi bozuklukları, D ve K gibi yağda çözünen vitaminlerin emiliminin bozulmasına neden olarak kemik mineral yoğunluğunun azalmasına ve protrombin süresinin uzamasına neden olabilir. Bazı yenidoğanlarda geçici sarılık veya geçici karaciğer enzimleri yüksekliği görülebilmesine rağmen, çoğu hastada herhangi bir semptom görülmez ve karaciğer fonksiyonları normaldir.[174,175]

Qiu ve arkadaşları, doğumdan hemen sonra herhangi bir sistemik anormalliğe sahip olmayan, ancak ikteri ile başvuran iki akraba olmayan FHCA2'li bebeği bildirdiler. Hiperbilirubinemi ve yüksek plazma toplam safra asitleri mevcuttu. Ek olarak her iki hastada da sarılık ve yüksek bilirubin seviyelerinin fototerapi ile düzeldiğini, ancak artmış safra asidi seviyelerinin devam ettiğini bildirmişlerdir.[176]

Li ve ark., sarılık ve hepatomegali ile başvuran 34 aylık FHCA2'li bir çocuğun bulgularının, D vitamini düzeylerinin düşmesi ve dolaylı olarak bilirubinle toplam safra asitlerinin artması ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Karaciğer biyopsisinde hepatosit balonlaşması, kolestatik dev hücreler ve bozulmuş yapı görüldüğünü, tedaviye yanıt olarak, bilirubin, transaminaz seviyeleri ve hepatik boyutun belirgin bir şekilde iyileşirken, hiperkoleneminin devam ettiğini bildirmişlerdir.[177]

Deng ve ark., FHCA2'li 30 aylık bir erkek çocuğu bildirmiştir. 2 aylıkken sarılık nedeniyle yapılan tetkikleri sırasında serum total safra asidi düzeyleri ve direkt bilirubin

yüksekliği ayrıca yüksek karaciğer enzimleri ve kolestaz bulguları tespit edilmişti. 6 aylıkken sarılık ve yüksek bilirubin, karaciğer enzimleri düzeldi, ancak toplam safra asidi seviyeleri yüksek kaldı. Serum D vitamini seviyeleri düşüktü, ancak malabsorpsiyonun belirgin belirtileri yoktu. Nörolojik gelişimi normaldi.[175]

Bildirilen olgularda semptomatik veya destekleyici tedavi sonucunda olumlu sonuçlar alındığı belirtilmektedir. Bu nedenle, FHCA2'nin genetik teşhisi, invaziv yaklaşımlar ve gereksiz tedavi verilmesinin önlenmesi açısından önemlidir.

Yapılan in silico analizler, olgu VI'da tespit edilen varyantın kırpılmayı etkileyebileceğini, 'nonsense mediated mRNA decay', ekzon atlaması, intron retansiyonu ve erken stop kodonu oluşumuna bağlı güdük proteine sebep olabileceğini öngörmektedir. ADA skoru 1, rf skoru 0,94 olan bu varyant, ekzon 3'ün 5' bölgesinde kırpılma bozukluğuna neden olmaktadır. Ekzon 3, final proteinde proteinin membrana entegrasyonunda rol oynayan proteinin transmembran bölümünü kodlamaktadır. Bu bölgedeki kırpılma bozukluğu sonucunda, final proteinde alfa heliks formasyonundaki bozukluğa bağlı olarak proteinin membrana entegre olamayacağı düşünülmektedir.

Çalışmamız kalıtsal karaciğer hastalıkları ile ilişkili potansiyel yeni bir varyantı vurgulamaktadır. Bununla birlikte, varyant daha önce bildirilmediği için patojenitesini ve karaciğer hastalığına katkısını doğrulamak için daha ileri çalışmalar gereklidir.

Olgu VII'de *SLC25A20* geninde heterozigot, muhtemel patojenik c.417+1G>A değişimi saptanmıştır. *SLC25A20* geni 3p21.31'de yer alır ve 9 ekzondan oluşmaktadır. Karnitin döngüsünün bileşenlerinden biri olan karnitin-açilkarnitin translokazı kodlar. Karnitin döngüsü, uzun zincirli yağ asitlerini sitozolden, beta oksidasyonunun gerçekleştiği intramitokondriyal boşluğa taşımak için gereklidir.[178] Bu gen OMIM veri bankasında "Karnitin-açilkarnitin translokaz eksikliği" ile ilişkilendirilmiştir.

Karnitin-açilkarnitin translokaz eksikliği, uzun zincirli yağ asidi oksidasyonunu etkileyen, nadir görülen, otozomal resesif bir metabolik hastalıktır. Bu hastalığın metabolik sonuçları arasında hipoketotik hipoglisemi, hiperamonyemi, yüksek kreatin kinaz ve transaminaz düzeyleri, dikarboksilik asidüri, düşük serbest karnitin seviyeleri ve

uzun zincirli yağ asitleri içeren açilkarnitinlerde belirgin bir artış ve anormal açilkarnitin profili yer alır. Bu metabolik sonuçlar, hastalığın neden olduğu bozulmuş yağ asidi metabolizması sonucunda ortaya çıkar ve açlık durumlarında özellikle belirgin hale gelir. Bu hastalığın klinik özellikleri arasında, nörolojik anormallikler, kardiyomiyopati ve aritmiler, iskelet kası hasarı ve karaciğer fonksiyon bozukluğu gibi çeşitli belirtiler yer almaktadır. Hastaların çoğu, hızlı progresif kötüleşme ve yüksek ölüm oranı ile yenidoğan döneminde semptomatik hale gelir. Bununla birlikte, daha hafif bir fenotip ile daha sonraki yaşlarda bildirimler de yapılmıştır.[178]

Olgumuzda saptanan varyant heterozigot olup, bu durum hastanın taşıyıcı olabileceğini ve hastalıktan etkilenmeme olasılığının olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte bu genle ilişkili heterozigot olgularda çevrenin ve diğer genlerin etkisiyle kliniğin açıklanması ihtimali araştırılmalıdır. Ayrıca, hastalığın ileri yaşta daha hafif bir fenotiple ilişkilendirilmiş bildirimleri olduğu için, olgunun *SLC25A20* geninin diğer allelinde TED yöntemiyle saptanamayacak ikinci bir patojenik veya muhtemel patojenik varyantı taşıyor olma ihtimali bulunmaktadır. Ek olarak karnitin-açilkarnitin translokaz eksikliği hastalarının %7 ile %10'nunda delesyon/duplikasyon tespit edildiği bildirilmiştir.[179] Hastanın ikinci bir varyantı taşıma ihtimaline karşın karşı alleldeki delesyon/duplikasyon, derin intronik varyantlar için Sanger dizileme ve MLPA analizi gibi ileri inceleme yapılması gereklidir. Ayrıca digenik/oligogenik kalıtım gibi durumlarla ilişkili olabileceğinden, çevresel ve regülatuvar bölgelerin etkisiyle hastalığın kliniği değişebileceğinden varyantın etkisinin değerlendirilebilmesi için ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Olgu VIII'de *ATP7B* geninde c.3688A>G (p.Ile1230Val) ve c.2138A>G (p.Tyr713Cys) değişimleri saptanmıştır. *ATP7B* geni, 13q14.3'te yer alır ve 21 ekzondan oluşmaktadır. Fazla bakırın safraya atılmasında kritik rol oynayan bakır taşıyan ATPaz'ı kodlar.[180] *ATP7B*'deki varyantlar, karaciğer de dahil olmak üzere çeşitli organlarda bakır birikimi ile karakterize otozomal resesif bir hastalık olan Wilson hastalığı ile ilişkilidir.[181] Wilson hastalığı karaciğer, beyin ve gözler dahil olmak üzere çeşitli organlarda bakır birikimi ile karakterizedir. Hastalık tipik olarak çocukluk veya ergenlik döneminde ortaya

çıkar, ancak yetişkinlerde de ortaya çıkabilir. Wilson hastalığı olan hastalar, karaciğer hastalığı, nörolojik semptomlar, psikiyatrik semptomlar ve oftalmolojik anormallikler gibi farklı organların tutulumuna bağlı anomaliler ve semptomlara sahip olabilir.

Genetik analiz sonucunda, olgu VIII'de *ATP7B* geninde p.Ile1230Val ve p.Tyr713Cys aminoasit değişikliklerine neden olan varyantlar tespit edildi. p.Ile1230Val varyantı, çeşitli popülasyonlarda Wilson hastalığı olan hastalarda patojenik bir mutasyon olarak rapor edilmiştir.[182,183] Bu değişimin protein modellemelerinde *ATP7B* proteininin işlevini bozmasını beklenmemesine rağmen, aynı lokasyonda bu aminoasit değişimine yol açan diğer varyantların patojenik olduğu ve bu varyanta sahip Wilson hastalığı olan kişilerde, trans poziyonunda farklı bir patojenik varyantla birlikte bulunduğu gösterilmesi varyantın patojenik olduğunu desteklemektedir. Bu nedenle varyant ACMG sınıflandırmasına göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır.[184] Olguda bulunan, p.Tyr713Cys varyantı, belirsiz öneme sahip nadir bir varyanttır. Bu varyant transmembran helical domaininde yer almaktadır. Wilson hastalığı olan bazı hastalarda tespit edildiği literatürde bildirilmiştir. Ek olarak yapılan protein modellemelerinde bu değişimin *ATP7B* protein işlevini bozmasının beklendiği gösterilmiştir.[185,186] Patojenitesi kesin olarak belirlenmemiş olmasına rağmen ACMG kriterlerince değerlendirildiğinde muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmaktadır. Varyantın klinik önemini belirlemek için ve diğer *ATP7B* c.3688A>G varyantı ile cis veya trans pozisyonda olduğunu belirlemek için aile üyelerinde segregasyon analizi ve ek fonksiyonel çalışmalar yapılması gereklidir.

Olgu X'da *MVK* geninde heterozigot, patojenik c.1129G>A değişimi saptanmıştır. *MVK* geni, 12q24.11'de yer alır ve 11 ekzondan oluşmaktadır. Kolesterol ve nonsterol izoprenoidlerin biyosentezinde önemli bir rol oynayan mevalonat kinaz enzimini kodlar. Bu gendeki mutasyonlar, otozomal resesif kalıtımlı "Hiper IgD sendromu (HIDS)" ve "mevalonat kinaz eksikliği" hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir.[187,188] Olgu X'da görülen anemi, trombositopeni, yükselmiş aminotransferaz seviyesi ve hepatosplenomegali bulguları mevalonat kinaz eksikliği kliniği ile uyumludur. Bu nedenle bu gendeki varyantla ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Olgu X'da saptanan c.1129G>A değişimi şimdiye kadar sıklıkla HIDS'de bildirilmiştir ve en sık görülen mutasyondur.[189] Ancak mevalonat kinaz eksikliği hastalarında da tespit edildiğini bildiren yayınlar mevcuttur. Yekedüz ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada mevalonat kinaz eksikliği olan 8 aylık bir olguda *MVK* geninde heterozigot c.925G>C varyantı ve heterozigot c.1129G>A varyantı tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yine bu çalışmada olgunun klinik bulguları mevalonat kinaz eksikliği ile uyumlu olsa da, idrarda yüksek mevalonik asit seviyeleri saptanmadığından, olgunun daha hafif seyreden, atipik bir formla karakterize olduğu düşünülmüştür. [190]

Hiper IgD sendromuna sahip bazı hastalarda da hepatosplenomegali bildirilmiştir.[191] Çalışmamızdaki hasta, patojenik varyant için heterozigot olmasına rağmen, bu varyantın hastanın klinik fenotipine katkıda bulunması yine de mümkündür. *MVK*'daki heterozigot varyantların, hafif bir mevalonat kinaz eksikliği formuna neden olduğu daha önceki yayınlarda bildirilmiştir. Bu varyanta sahip bireylerde daha önce *TNFRSF1A* genindeki heterozigot mutasyonlarla birlikte heterozigot durumdayken HIDS sendromunun oluşumuna yol açtığı bilinen olgular bildirilmiştir.[192,193]

Olgu X'da heterozigot MVK varyantı p.Val377Ile'nin tanımlanması, bu varyantın hastanın klinik fenotipine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Varyantın *TNFRS1A* ile birlikte HIDS sendromuna yol açması gibi, başka bir gendeki varyantlarla birlikte heterozigot formda kliniğe etkisinin olup olmadığının değerlendirilmesi için fonksiyonel analizler gibi daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca TED ile tespit edilemeyen genin diğer kopyasındaki bir mutasyon nedeniyle MVK eksikliği hastalığına sahip olabileceği için karşı allelde delesyon/duplikasyon, derin intronik varyantlar için Sanger dizileme ve MLPA gibi yöntemlerle ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bulgular, idiyopatik karaciğer hastalıklarının tanısında TED'in önemini ve heterozigot MVK varyantlarının klinik fenotipe katkıda bulunmadaki potansiyel rolünü vurgulamaktadır.

Olgu XII'de *FOCAD* geninde homozigot c.187C>T değişimi saptanmıştır. *FOCAD* geni 9p21.3'te yer alır ve 46 ekzondan oluşmaktadır.[194] Hücre adhezyonu ve göçünde önemli bir rol oynayan focadhesin proteinini kodlar. Focadhesin, karaciğer dahil olmak

üzere birçok dokuda eksprese edilmektedir ve karaciğer fonksiyonunda yer alan diğer proteinlerle de etkileşime girdiği gösterilmiştir.[195]

FOCAD geni 2022 yılında yayımlanan bir çalışma sonucunda OMIM veri bankasında yer alan "Konjenital, şiddetli karaciğer hastalığı" ile ilişkilendirilmiştir. Konjenital, şiddetli karaciğer hastalığı, genellikle yaşamın ilk yıllarında başlayan progresif karaciğer fonksiyon bozukluğu ile karakterize otozomal resesif bir hastalıktır. Etkilenen hastalar, büyüme geriliğine neden olan beslenme zorlukları, sarılık, hepatomegali ve abdominal distansiyon gibi bulgulara sahiptir. Laboratuvar bulguları karaciğer yetmezliği ile uyumludur. Hastalarda KCFT yüksekliği, hiperbilirubinemi, koagülasyon bozuklukları, hiperamonyemi, hipoalbuminemi, alfa-fetoprotein (AFP) yüksekliği, anemi, trombositopeni, artmış ferritin bulgularına ek olarak hipoglisemi, metabolik asidoz gibi metabolik anomalilerin de dahil olduğu üzere çeşitli bulgular görülebilir. Karaciğer biyopsisinde siroz ve hipernodülarite sıklıkla görülür. Hastalarda ayrıca solunum sistemi yetmezliği, konjenital kalp defektleri (genellikle patent foramen ovale veya patent duktus arteriozus) ve hidronefroz gibi değişken genitoüriner anormallikler, kasık veya göbek fıtığı görülebilmektedir. Hastaların çoğunluğu erken çocukluk döneminde karaciğer yetmezliği sebebiyle ex olmaktadır.

Moreno ve ark. şiddetli konjenital karaciğer hastalığı olan çeşitli etnik kökenlerden 14 hastada *FOCAD* geninde biallelik mutasyonları tanımlamıştır. Saptanan mutasyonların çoğunun nonsens ve fonksiyon kaybına yol açan splice bölgesi mutasyonları olduğunu bildirmişlerdir.[196] Korunmuşluğu yüksek olan bölgelerde 3 adet missens varyant da tanımlamışlardır. CRISPR-Cas9 teknolojisini kullanarak, bu yenidoğan karaciğer hastalığının hücresel ve moleküler temelini tanımlamaya yardımcı olacak in vitro ve in vivo fonksiyonel çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, *FOCAD* kaybının karaciğer sirozu fenotipinden sorumlu orijin hücresi olduğunu öne sürdükleri hepatosit hücrelerinin homeostazını bozduğunu ileri sürmüşlerdir.

Olgu XII 6 aylıkken kilo kaybı nedeniyle hastaneye başvurduğunda karaciğer yetmezliği tespit edilmiştir. O zamandan beri idiyopatik karaciğer hastalığı ile takiplidir. Yapılan abdomen MRG ve batın USG sonuçları karaciğer sirozu ile uyumludur. Bu

bulgular “Konjenital, şiddetli karaciğer hastalığı” na ilişkin fenotipik uyumluluğu göstermektedir.

Olgu XII’de 46 ekzonlu bir genin 6. ekzonunda trunke bir protein oluşumuna neden olan nonsens bir varyant saptanmıştır. Bu varyant literatürde daha önce bildirilmemiş olup, gnomAD ve ExAC gibi popülasyon veri tabanlarında bulunmaması, bunun nadir bir varyant olduğunu göstermektedir. Varyant ACMG kalsifikasyonuna göre değerlendirildiğinde muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmaktadır. Hastamızda tespit edilen stop kodonunun “downstream”inde bildirilmiş kesin patojenik varyantlar olması varyantımızın patojenite ihtimalini kuvvetlendirmektedir.

Sonuç olarak, bu hastada homozigot muhtemel patojenik *FOCAD* varyantının tanımlanması, olgumuzdaki idiyopatik karaciğer hastalığı için potansiyel bir genetik açıklama sağlamaktadır ve karaciğer hastalıklarıyla ilişkili *FOCAD* imutasyonlarına ilişkin önceki çalışmalarla tutarlıdır. Bu varyantın patojenitesini ve karaciğer hastalıklarının gelişimindeki potansiyel rolünü doğrulamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda Mendeliyen bozukluklara ilişkin çeşitli çıkarımlar sağladık. Öncelikle idiyopatik olarak takip edilen önemli sayıda olgu için tanı koyarak hastalık patofizyolojisine katkı sağlayabilecek bulgular elde ettik. Ayrıca genetik tanısını kesinleştirdiğimiz hastalar için yeni tedavi yöntemlerinin belirlenmesine ve ailelere sağlanan genetik danışmanlıklar sayesinde önleyici tıbbi müdahalenin gerçekleştirilmesine olanak sağladık. Sonuçlarımız idiyopatik olarak takip edilen karaciğer hastalığına sahip olgularda TED analizinin kullanımının önemini göstermektedir.

Yapılan çalışmanın sınırlamalarına baktığımızda bunlardan biri, küçük bir örneklem boyutunda gerçekleştirilmesidir. Bu bulguların daha geniş bir karaciğer hastalığı popülasyonunda genelleştirilebildiğini değerlendirmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Ek olarak, TED ile genomik yapısal değişimlerin, genomdaki kopya sayısı değişimlerinin, delesyon/duplikasyonların ve ekzon-intron bileşkesinde 10 bç dışındaki

intronik değişimlerin tespiti mümkün olmamaktadır. Bu genomik değişimlerin farklı genetik testler ile araştırılması sonucu ileride yapılacak çalışmalar ile literatüre kazandırılması, kronik karaciğer hastalığı etiyolojisinin açıklanması için önemli bir adımı oluşturacaktır. Ayrıca TED yönteminin bahsedilen değişimleri tespit edememesi haricinde tüm ekzom bölgelerinin eşit şekilde okunmaması, olgular ve çalışmalar arasında okuma farklarının bulunması da çalışmanın başka bir sınırlamasıdır. Bu bölgelerde bulunan tanısal bir değişimin tespit edilemeyecek kadar az okumaya sahip olmasının, olguların tanı alamamasında rol oynaması muhtemeldir.

Ek olarak henüz bir insan hastalığı ile ilişkili olduğu bilinmeyen bir gendeki varyantlar kullanılan metodoloji tarafından tespit edilmeyen bir patojenik varyanta sahip olabilir. Digenik/oligogenik kalıtıma sahip genlerdeki varyantlar TED yöntemiyle tespit edilememiş olabilir. Bu nedenle bu hastaların TED verilerinin düzenli olarak yeniden analiz edilmeye devam edilmesi gerekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Yapılan çalışma ile idiyopatik karaciğer hastalığı olgularında monogenik hastalıkların rolü toplam on iki olguda araştırılmış ve dört olguda tanı konulabilmesini sağlayan muhtemel patojenik ve patojenik genetik varyantlar tespit edilmiştir. Bunlar *ABCB4* geninde homozigot c.181_182del, *ATP7B* geninde heterozigot c.3688A>G ve c.2138A>G, *SLC10A1* geninde homozigot c.568-1G>A ve *FOCAD* geninde homozigot c.187C>T değişimleridir.
2. Tanısal varyant tespit edilemeyen 4 olguda potansiyel klinik önemi olan değişimler saptanmıştır. Bunlar *MYH9* geninde heterozigot c.2519_2536del, *GALK1* geninde homozigot c.552C>G, *SLC25A20* geninde heterozigot c.417+1G>A, *MVK* geninde heterozigot c.1129G>A değişimleridir. Bu değişimlerin klinik etkisinin kanıtlanabilmesi için daha geniş hasta serilerinde araştırılması ve fonksiyonel analizler yapılması gerekmektedir.
3. Tanı konulamayan olgularda tespit edilen varyantlar in silico analizler ve literatür taramaları ile önceliklendirilmiş, ileri çalışmalar için toplam 211 aday varyant ve nadir varyant yükünün artmış olduğu iki hücresel yolak literatüre kazandırılmıştır.
4. Tespit edilen aday varyantların ve aday genlerin daha geniş seriler ile yapılan çalışmalar ve fonksiyonel araştırmalar ile kalıtsal karaciğer hastalığı etiyolojisindeki rollerinin kesinleştirilmesi gerekmektedir.
5. Yapılan çalışma tetkik seçimi sebebiyle epigenetik etkenler, digenik / oligogenetik kalıtım, intronik ve gen dışı DNA dizileri, tüm ekzom dizileme tarafından tespit edilemeyen büyük delesyon/duplikasyonlar, genomik yapısal değişimler ve çevresel etkilerin araştırılmaması kısıtlılıklarına sahiptir. Bu ögelerin kalıtsal karaciğer hastalığı etiyolojisindeki rolünün aydınlatılması için konu hakkında daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir.
6. Yapılan çalışma ‘trio’ analiz şeklinde gerçekleştirilmediği için ‘de novo’ varyantlar önceliklendirilememiştir. Aday varyantların etkisinin kesinleştirilebilmesi için aile çalışmaları yapılması gerekmektedir.

7. Sonuç olarak, önemli bir sağlık yükü oluşturan kalıtsal karaciğer hastalığı olgularında tek gen hastalıklarının rolü gözlemlenmiş ve sonraki araştırmalar için aday gen ve varyantlar bildirilmiştir. Tüm veriler göz önünde bulundurulduğunda yapılan klinik araştırmalar ve hedefli gen panelleri sonucunda tanı konulamayan kalıtsal karaciğer hastalığı vakalarında tüm ekzom dizileme yönteminin faydalı olabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Sharma A, Nagalli S. Chronic Liver Disease. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2022. Accessed October 11, 2022. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554597/

2. Heron M. Deaths: Leading Causes for 2016. *Natl Vital Stat Rep Cent Dis Control Prev Natl Cent Health Stat Natl Vital Stat Syst*. 2018;67(6):1-77.

3. Heron M. Deaths: Leading Causes for 2019. *Natl Vital Stat Rep Cent Dis Control Prev Natl Cent Health Stat Natl Vital Stat Syst*. 2021;70(9):1-114.

4. Murphy SL, Xu J, Kochanek KD, Curtin SC, Arias E. Deaths: Final Data for 2015. *Natl Vital Stat Rep Cent Dis Control Prev Natl Cent Health Stat Natl Vital Stat Syst*. 2017;66(6):1-75.

5. Czaja AJ. Cryptogenic chronic hepatitis and its changing guise in adults. *Dig Dis Sci*. 2011;56(12):3421-3438. doi:10.1007/s10620-011-1769-9

6. Clinical features and natural history of cryptogenic cirrhosis compared to hepatitis C virus-related cirrhosis - PubMed. Accessed October 30, 2022. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28293093/

7. Karlsen TH, Lammert F, Thompson RJ. Genetics of liver disease: From pathophysiology to clinical practice. *J Hepatol*. 2015;62(1, Supplement):S6-S14. doi:10.1016/j.jhep.2015.02.025

8. Stranneheim H, Wedell A. Exome and genome sequencing: a revolution for the discovery and diagnosis of monogenic disorders. *J Intern Med*. 2016;279(1):3-15. doi:10.1111/joim.12399

9. Ng SB, Turner EH, Robertson PD, et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature*. 2009;461(7261):272-276. doi:10.1038/nature08250

10. Choi M, Scholl UI, Ji W, et al. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(45):19096-19101. doi:10.1073/pnas.0910672106

11. Hakim A, Zhang X, DeLisle A, et al. Clinical utility of genomic analysis in adults with idiopathic liver disease. *J Hepatol*. 2019;70(6):1214-1221. doi:10.1016/j.jhep.2019.01.036

12. Wang DW, Yin YM, Yao YM. Advances in the management of acute liver failure. *World J Gastroenterol WJG*. 2013;19(41):7069-7077. doi:10.3748/wjg.v19.i41.7069

13. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Robbins SL (Stanley L, Cotran RS. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia : Elsevier Saunders; 2005. Accessed November 6, 2022. http://archive.org/details/robbinscotranpat00kuma

14. Sutherland F, Harris J. Claude Couinaud: A Passion for the Liver. *Arch Surg*. 2002;137(11). doi:10.1001/archsurg.137.11.1305

15. Botero AC, Strasberg SM. Division of the left hemiliver in man-segments, sectors, or

sections. *Liver Transpl Surg*. 1998;4(3):226-231. doi:10.1002/lt.500040307

16. Liver Anatomy: Overview, Gross Anatomy, Microscopic Anatomy. Published online May 24, 2022. Accessed November 6, 2022. https://emedicine.medscape.com/article/1900159-overview

17. Trefts E, Gannon M, Wasserman DH. The liver. *Curr Biol*. 2017;27(21):R1147-R1151. doi:10.1016/j.cub.2017.09.019

18. Tapper EB, Lok ASF. Use of Liver Imaging and Biopsy in Clinical Practice. Longo DL, ed. *N Engl J Med*. 2017;377(8):756-768. doi:10.1056/NEJMra1610570

19. Sherlock's Diseases of the Liver and Biliary System, 13th Edition | Wiley. Wiley.com. Accessed November 7, 2022. https://www.wiley.com/en-us/Sherlock%27s+Diseases+of+the+Liver+and+Biliary+System%2C+13th+Edition-p-9781119237648

20. Chayanupatkul M, Liangpunsakul S. Alcoholic hepatitis: a comprehensive review of pathogenesis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2014;20(20):6279-6286. doi:10.3748/wjg.v20.i20.6279

21. Mehta P, Reddivari AKR. Hepatitis. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2022. Accessed October 19, 2022. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554549/

22. WHO global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021 | www.emcdda.europa.eu. Accessed October 20, 2022. https://www.emcdda.europa.eu/drugs-library/who-global-health-sector-strategy-viral-hepatitis-2016-2021_en

23. Kumari N, Kathuria R, Srivastav A, Krishnani N, Poddar U, Yachha SK. Significance of histopathological features in differentiating autoimmune liver disease from nonautoimmune chronic liver disease in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2013;25(3):333-337. doi:10.1097/MEG.0b013e32835a68a1

24. RESERVED IUAR. Orphanet: Alpha 1 antitrypsin deficiency. Accessed October 29, 2022. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=194&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=SERPINA1&Disease_Disease_Search_diseaseType=Gen&Disease(s)/group%20of%20diseases=Alpha-1-antitrypsin-deficiency&title=Alpha-1-antitrypsin%20deficiency&search=Disease_Search_Simple

25. Stoller JK, Hupertz V, Aboussouan LS. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., eds. *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed April 1, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1519/

26. SERPINA1 | Gene. Accessed October 29, 2022. https://varsome.com/gene/hg38/SERPINA1

27. Hakim A, Moll M, Qiao D, et al. Heterozygosity of the Alpha 1-Antitrypsin Pi*Z Allele and Risk of Liver Disease. *Hepatol Commun*. 2021;5(8):1348-1361. doi:10.1002/hep4.1718

28. Schneider CV, Hamesch K, Gross A, et al. Liver Phenotypes of European Adults

Heterozygous or Homozygous for Pi∗Z Variant of AAT (Pi∗MZ vs Pi∗ZZ genotype) and Noncarriers. *Gastroenterology*. 2020;159(2):534-548.e11. doi:10.1053/j.gastro.2020.04.058

29. Fromme M, Schneider CV, Trautwein C, Brunetti-Pierri N, Strnad P. Alpha-1 antitrypsin deficiency: A re-surfacing adult liver disorder. *J Hepatol*. 2022;76(4):946-958. doi:10.1016/j.jhep.2021.11.022

30. Stoller JK, Hupertz V, Aboussouan LS. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, et al., eds. *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed October 29, 2022. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1519/

31. Torres-Durán M, Lopez-Campos JL, Barrecheguren M, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency: outstanding questions and future directions. *Orphanet J Rare Dis*. 2018;13(1):114. doi:10.1186/s13023-018-0856-9

32. RESERVED IUAR. Orphanet: Wilson disease. Accessed October 30, 2022. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=134&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Wilson-disease&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Wilson-disease&title=Wilson%20disease&search=Disease_Search_Simple

33. ATP7B | Gene. Accessed October 30, 2022. https://varsome.com/gene/hg38/ATP7B

34. Weiss KH, Schilsky M. Wilson Disease. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., eds. *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed March 31, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1512/

35. Ferenci P, Caca K, Loudianos G, et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 2003;23(3):139-142. doi:10.1034/j.1600-0676.2003.00824.x

36. Barton JC, Edwards CQ, Acton RT. HFE gene: Structure, function, mutations, and associated iron abnormalities. *Gene*. 2015;574(2):179-192. doi:10.1016/j.gene.2015.10.009

37. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet*. 1996;13(4):399-408. doi:10.1038/ng0896-399

38. Powell LW, Seckington RC, Deugnier Y. Haemochromatosis. *Lancet Lond Engl*. 2016;388(10045):706-716. doi:10.1016/S0140-6736(15)01315-X

39. Barton JC, Edwards CQ. HFE Hemochromatosis. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, et al., eds. *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed November 1, 2022. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1440/

40. Carella M, D'Ambrosio L, Totaro A, et al. Mutation analysis of the HLA-H gene in Italian hemochromatosis patients. *Am J Hum Genet*. 1997;60(4):828-832.

41. Cotter TG, Rinella M. Nonalcoholic Fatty Liver Disease 2020: The State of the Disease.

Gastroenterology. 2020;158(7):1851-1864. doi:10.1053/j.gastro.2020.01.052

42. Vajro P, Lenta S, Socha P, et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54(5):700-713. doi:10.1097/MPG.0b013e318252a13f

43. Epidemiology, clinical features, and diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in adults. Accessed November 5, 2022. https://www.medilib.ir/uptodate/show/3625

44. Crosignani A, Battezzati PM, Invernizzi P, Selmi C, Prina E, Podda M. Clinical features and management of primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol WJG*. 2008;14(21):3313-3327. doi:10.3748/wjg.14.3313

45. Yokoda RT, Carey EJ. Primary Biliary Cholangitis and Primary Sclerosing Cholangitis. *Off J Am Coll Gastroenterol ACG*. 2019;114(10):1593-1605. doi:10.14309/ajg.0000000000000268

46. Ravikumar R, Tsochatzis E, Jose S, et al. Risk factors for recurrent primary sclerosing cholangitis after liver transplantation. *J Hepatol*. 2015;63(5):1139-1146. doi:10.1016/j.jhep.2015.07.005

47. Evaluation of the Patient With a Liver Disorder - Hepatic and Biliary Disorders. MSD Manual Professional Edition. Accessed November 7, 2022. https://www.msdmanuals.com/professional/hepatic-and-biliary-disorders/approach-to-the-patient-with-liver-disease/evaluation-of-the-patient-with-a-liver-disorder

48. Yumpu.com. Karaciğer Fonksiyon Bozukluklarına Klinik Yaklaşım. yumpu.com. Accessed November 9, 2022. https://www.yumpu.com/tr/document/read/7458740/karaciger-fonksiyon-bozukluklarna-klinik-yaklasm

49. Iorio R, Sepe A, Giannattasio A, Cirillo F, Vegnente A. Hypertransaminasemia in childhood as a marker of genetic liver disorders. *J Gastroenterol*. 2005;40(8):820-826. doi:10.1007/s00535-005-1635-7

50. Anania C, De Luca E, De Castro G, Chiesa C, Pacifico L. Liver involvement in pediatric celiac disease. *World J Gastroenterol WJG*. 2015;21(19):5813-5822. doi:10.3748/wjg.v21.i19.5813

51. Vajro P, Maddaluno S, Veropalumbo C. Persistent hypertransaminasemia in asymptomatic children: A stepwise approach. *World J Gastroenterol*. 2013;19(18):2740-2751. doi:10.3748/wjg.v19.i18.2740

52. Lamireau T, McLin V, Nobili V, Vajro P. A practical approach to the child with abnormal liver tests. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2014;38(3):259-262. doi:10.1016/j.clinre.2014.02.010

53. Finn JP, Kane RA, Edelman RR, et al. Imaging of the portal venous system in patients with cirrhosis: MR angiography vs duplex Doppler sonography. *AJR Am J Roentgenol*. 1993;161(5):989-994. doi:10.2214/ajr.161.5.8273643

54. Heidelbaugh JJ, Bruderly M. Cirrhosis and chronic liver failure: part I. Diagnosis and

evaluation. *Am Fam Physician*. 2006;74(5):756-762.

55. Gurses B, Secil M. Diffüz Karaciğer Hastalıkları. *Türk Radyoloji Semin*. 2016;3(3):349-365. doi:10.5152/trs.2015.286

56. Sade R, Kantarci M. Hepatobiliyer İleri Görüntüleme. *Türk Radyoloji Semin*. 2016;3(3):472-482. doi:10.5152/trs.2015.298

57. Pinto RB, Schneider ACR, da Silveira TR. Cirrhosis in children and adolescents: An overview. *World J Hepatol*. 2015;7(3):392-405. doi:10.4254/wjh.v7.i3.392

58. Pietrobattista A, Alterio A, Natali G, et al. *Needle Biopsy in Children With Liver Diseases*. IntechOpen; 2011. doi:10.5772/19383

59. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet Lond Engl*. 2008;371(9615):838-851. doi:10.1016/S0140-6736(08)60383-9

60. Popper H. Pathologic aspects of cirrhosis. A review. *Am J Pathol*. 1977;87(1):228-264.

61. Anderson RN, Smith BL. Deaths: leading causes for 2001. *Natl Vital Stat Rep Cent Dis Control Prev Natl Cent Health Stat Natl Vital Stat Syst*. 2003;52(9):1-85.

62. T.C. Sağlık Bakanlığı | E-Kütüphane - Türkiye Hastalık Yükü Çalışması 2004. Accessed November 15, 2022. https://ekutuphane.saglik.gov.tr/Yayin/166

63. Cirrhosis in Adults: Overview of Complications, General Management, and Prognosis - UpToDate | PDF | Cirrhosis | Hepatitis. Scribd. Accessed November 15, 2022. https://www.scribd.com/document/387084597/Cirrhosis-in-Adults-Overview-of-Complications-General-Management-And-Prognosis-UpToDate

64. Wiesner R, Edwards E, Freeman R, et al. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology*. 2003;124(1):91-96. doi:10.1053/gast.2003.50016

65. de Lédinghen V, Ratziu V, Causse X, et al. Diagnostic and predictive factors of significant liver fibrosis and minimal lesions in patients with persistent unexplained elevated transaminases. A prospective multicenter study. *J Hepatol*. 2006;45(4):592-599. doi:10.1016/j.jhep.2006.05.008

66. Skelly MM, James PD, Ryder SD. Findings on liver biopsy to investigate abnormal liver function tests in the absence of diagnostic serology. *J Hepatol*. 2001;35(2):195-199. doi:10.1016/s0168-8278(01)00094-0

67. Álamo JM, Bernal C, Barrera L, et al. Liver transplantation in patients with cryptogenic cirrhosis: long-term follow-up. *Transplant Proc*. 2011;43(6):2230-2232. doi:10.1016/j.transproceed.2011.05.017

68. Mercado-Irizarry A, Torres EA. Cryptogenic cirrhosis: Current knowledge and future directions. *Clin Liver Dis*. 2016;7(4):69-72. doi:10.1002/cld.539

69. Thuluvath PJ, Kantsevoy S, Thuluvath AJ, Savva Y. Is cryptogenic cirrhosis different from NASH cirrhosis? *J Hepatol*. 2018;68(3):519-525. doi:10.1016/j.jhep.2017.11.018

70. Gao E, Hercun J, Heller T, Vilarinho S. Undiagnosed liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2021;6:28. doi:10.21037/tgh.2020.04.04

71. Schreiner AD, Bian J, Zhang J, et al. The Association of Abnormal Liver Tests with Hepatitis C Testing in Primary Care. *Am J Med*. 2020;133(2):214-221.e1. doi:10.1016/j.amjmed.2019.07.016

72. Davern TJ, Chalasani N, Fontana RJ, et al. Acute hepatitis E infection accounts for some cases of suspected drug-induced liver injury. *Gastroenterology*. 2011;141(5):1665-1672.e1-9. doi:10.1053/j.gastro.2011.07.051

73. Dalton HR, Fellows HJ, Stableforth W, et al. The role of hepatitis E virus testing in drug-induced liver injury. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;26(10):1429-1435. doi:10.1111/j.1365-2036.2007.03504.x

74. Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, et al. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology*. 2011;140(5):1481-1489. doi:10.1053/j.gastro.2011.02.050

75. Chauhan A, Webb G, Ferguson J. Clinical presentations of Hepatitis E: A clinical review with representative case histories. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2019;43(6):649-657. doi:10.1016/j.clinre.2019.01.005

76. Gallian P, Pouchol E, Djoudi R, et al. Transfusion-Transmitted Hepatitis E Virus Infection in France. *Transfus Med Rev*. 2019;33(3):146-153. doi:10.1016/j.tmrv.2019.06.001

77. Gunay-Aygun M, Font-Montgomery E, Lukose L, et al. Characteristics of congenital hepatic fibrosis in a large cohort of patients with autosomal recessive polycystic kidney disease. *Gastroenterology*. 2013;144(1):112-121.e2. doi:10.1053/j.gastro.2012.09.056

78. Azzu V, Fonseca M, Duckworth A, et al. Liver disease is common in patients with common variable immunodeficiency and predicts mortality in the presence of cirrhosis or portal hypertension. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(7):2484-2486.e3. doi:10.1016/j.jaip.2019.04.016

79. Resnick ES, Moshier EL, Godbold JH, Cunningham-Rundles C. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood*. 2012;119(7):1650-1657. doi:10.1182/blood-2011-09-377945

80. Ben-Yakov G, Kapuria D, Marko J, et al. Liver disturbances in activated phosphoinositide 3-kinase δ syndrome. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6(5):1763-1765. doi:10.1016/j.jaip.2018.01.005

81. Zhou Q, Yang D, Ombrello AK, et al. Early-onset stroke and vasculopathy associated with mutations in ADA2. *N Engl J Med*. 2014;370(10):911-920. doi:10.1056/NEJMoa1307361

82. 10th Congress of International Society of Systemic Auto-Inflammatory Diseases (ISSAID). *Pediatr Rheumatol*. 2019;17(1):18. doi:10.1186/s12969-019-0313-x

83. Kapuria D, Ben-Yakov G, Ortolano R, et al. The Spectrum of Hepatic Involvement in Patients With Telomere Disease. *Hepatol Baltim Md*. 2019;69(6):2579-2585.

doi:10.1002/hep.30578

84. Calado RT, Regal JA, Kleiner DE, et al. A spectrum of severe familial liver disorders associate with telomerase mutations. *PloS One*. 2009;4(11):e7926. doi:10.1371/journal.pone.0007926

85. Vilarinho S, Mistry PK. Exome Sequencing in Clinical Hepatology. *Hepatology*. 2019;70(6):2185-2192. doi:10.1002/hep.30826

86. Bosch AM. Classical galactosaemia revisited. *J Inherit Metab Dis*. 2006;29(4):516-525. doi:10.1007/s10545-006-0382-0

87. Transcript: ENST00000378842.8 (GALT-201) - Summary - Homo_sapiens - Ensembl genome browser 108. Accessed November 28, 2022. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000213930;r=9:34638133-34651035;t=ENST00000378842

88. Baerlocher K, Gitzelmann R, Steinmann B, Gitzelmann-Cumarasamy N. Hereditary fructose intolerance in early childhood: a major diagnostic challenge. Survey of 20 symptomatic cases. *Helv Paediatr Acta*. 1979;33:465-487.

89. Transcript: ENST00000647789.2 (ALDOB-202) - Protein summary - Homo_sapiens - Ensembl genome browser 108. Accessed November 28, 2022. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/ProteinSummary?db=core;g=ENSG00000136872;r=9:101420560-101449664;t=ENST00000647789

90. Hereditary fructose intolerance: MedlinePlus Genetics. Accessed November 28, 2022. https://medlineplus.gov/genetics/condition/hereditary-fructose-intolerance/

91. Douillard C, Mention K, Dobbelaere D, Wemeau JL, Saudubray JM, Vantyghem MC. Hypoglycaemia related to inherited metabolic diseases in adults. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7:26. doi:10.1186/1750-1172-7-26

92. Kim MS, Moon JS, Kim MJ, Seong MW, Park SS, Ko JS. Hereditary Fructose Intolerance Diagnosed in Adulthood. *Gut Liver*. 2021;15(1):142-145. doi:10.5009/gnl20189

93. Transcript: ENST00000415431.5 (FBP1-203) - Protein summary - Homo_sapiens - Ensembl genome browser 108. Accessed November 29, 2022. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/ProteinSummary?db=core;g=ENSG00000165140;r=9:94603133-94640249;t=ENST00000415431

94. Emery JL, Howat AJ, Variend S, Vawter GF. Investigation of inborn errors of metabolism in unexpected infant deaths. *Lancet Lond Engl*. 1988;2(8601):29-31. doi:10.1016/s0140-6736(88)92955-8

95. Bhai P, Bijarnia-Mahay S, Puri RD, et al. Clinical and molecular characterization of Indian patients with fructose-1, 6-bisphosphatase deficiency: Identification of a frequent variant (E281K). *Ann Hum Genet*. 2018;82(5):309-317. doi:10.1111/ahg.12256

96. Transcript: ENST00000617979.5 (GALE-216) - Protein summary - Homo_sapiens - Ensembl genome browser 108. Accessed November 29, 2022.

https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/ProteinSummary?db=core;g=ENSG00000117308;r=1:23795599-23800781;t=ENST00000617979

97. Demirbas D, Coelho AI, Rubio-Gozalbo ME, Berry GT. Hereditary galactosemia. *Metabolism*. 2018;83:188-196. doi:10.1016/j.metabol.2018.01.025

98. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989;245(4922):1066-1073. doi:10.1126/science.2475911

99. RESERVED IUAR. Orphanet: Cystic fibrosis. Accessed November 30, 2022. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=49&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=CFTR&Disease_Disease_Search_diseaseType=Gen&Disease(s)/group%20of%20diseases=Cystic-fibrosis&title=Cystic%20fibrosis&search=Disease_Search_Simple

100. Moskowitz SM, Chmiel JF, Sternen DL, et al. Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *Genet Med*. 2008;10(12):851-868. doi:10.1097/GIM.0b013e31818e55a2

101. Natural history of liver disease in cystic fibrosis - Lindblad - 1999 - Hepatology - Wiley Online Library. Accessed November 30, 2022. https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hep.510300527

102. Bartlett JR, Friedman KJ, Ling SC, et al. Genetic modifiers of liver disease in cystic fibrosis. *JAMA*. 2009;302(10):1076-1083. doi:10.1001/jama.2009.1295

103. Gabolde M, Hubert D, Guilloud-Bataille M, Lenaerts C, Feingold J, Besmond C. The mannose binding lectin gene influences the severity of chronic liver disease in cystic fibrosis. *J Med Genet*. 2001;38(5):310-311. doi:10.1136/jmg.38.5.310

104. Beutler E, Kuhl W, Sorge J. Cross-reacting material in Gaucher disease fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984;81(20):6506-6510. doi:10.1073/pnas.81.20.6506

105. Grabowski GA, Barton NW, Pastores G, et al. Enzyme therapy in type 1 Gaucher disease: comparative efficacy of mannose-terminated glucocerebrosidase from natural and recombinant sources. *Ann Intern Med*. 1995;122(1):33-39. doi:10.7326/0003-4819-122-1-199501010-00005

106. Hannun YA, Bell RM. Lysosphingolipids inhibit protein kinase C: implications for the sphingolipidoses. *Science*. 1987;235(4789):670-674. doi:10.1126/science.3101176

107. Hong YB, Kim EY, Jung SC. Down-regulation of Bcl-2 in the fetal brain of the Gaucher disease mouse model: a possible role in the neuronal loss. *J Hum Genet*. 2004;49(7):349-354. doi:10.1007/s10038-004-0155-2

108. Baris HN, Cohen IJ, Mistry PK. Gaucher disease: the metabolic defect, pathophysiology, phenotypes and natural history. *Pediatr Endocrinol Rev PER*. 2014;12 Suppl 1(0 1):72-81.

109. Beutler E, Gelbart T. Erroneous assignment of Gaucher disease genotype as a

consequence of a complete gene deletion. *Hum Mutat*. 1994;4(3):212-216. doi:10.1002/humu.1380040307

110. Cozar M, Bembi B, Dominissini S, et al. Molecular characterization of a new deletion of the GBA1 gene due to an inter Alu recombination event. *Mol Genet Metab*. 2011;102(2):226-228. doi:10.1016/j.ymgme.2010.10.004

111. Pastores GM, Hughes DA. Gaucher Disease. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, et al., eds. *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed December 3, 2022. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1269/

112. Transcript: ENST00000561421.6 (FAH-213) - Protein summary - Homo_sapiens - Ensembl genome browser 108. Accessed November 30, 2022. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/ProteinSummary?db=core;g=ENSG00000103876;r=15:80152490-80186946;t=ENST00000561421

113. Cloning and expression of the cDNA encoding human fumarylacetoacetate hydrolase, the enzyme deficient in hereditary tyrosinemia: assignment of the gene to chromosome 15. - PMC. Accessed November 30, 2022. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1682993/

114. Laberge C. Hereditary tyrosinemia in a French Canadian isolate. *Am J Hum Genet*. 1969;21(1):36-45.

115. Sniderman King L, Trahms C, Scott CR. Tyrosinemia Type I. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, et al., eds. *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed November 30, 2022. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1515/

116. Majewski J, Schwartzentruber J, Lalonde E, Montpetit A, Jabado N. What can exome sequencing do for you? *J Med Genet*. 2011;48(9):580-589. doi:10.1136/jmedgenet-2011-100223

117. Deciphering Developmental Disorders Study. Large-scale discovery of novel genetic causes of developmental disorders. *Nature*. 2015;519(7542):223-228. doi:10.1038/nature14135

118. Zhu X, Petrovski S, Xie P, et al. Whole-exome sequencing in undiagnosed genetic diseases: interpreting 119 trios. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2015;17(10):774-781. doi:10.1038/gim.2014.191

119. Mishra-Gorur K, Çağlayan AO, Schaffer AE, et al. Mutations in KATNB1 Cause Complex Cerebral Malformations by Disrupting Asymmetrically Dividing Neural Progenitors. *Neuron*. 2014;84(6):1226-1239. doi:10.1016/j.neuron.2014.12.014

120. Radmanesh F, Caglayan AO, Silhavy JL, et al. Mutations in LAMB1 Cause Cobblestone Brain Malformation without Muscular or Ocular Abnormalities. *Am J Hum Genet*. 2013;92(3):468-474. doi:10.1016/j.ajhg.2013.02.005

121. Bakircioglu M, Carvalho OP, Khurshid M, et al. The Essential Role of Centrosomal NDE1 in Human Cerebral Cortex Neurogenesis. *Am J Hum Genet*. 2011;88(5):523-535. doi:10.1016/j.ajhg.2011.03.019

122. Barak T, Kwan KY, Louvi A, et al. Recessive LAMC3 mutations cause malformations of occipital cortical development. *Nat Genet*. 2011;43(6):590-594. doi:10.1038/ng.836

123. Disruptions in asymmetric centrosome inheritance and WDR62-Aurora kinase B interactions in primary microcephaly | Scientific Reports. Accessed May 31, 2023. https://www.nature.com/articles/srep43708

124. Li H, Bielas SL, Zaki MS, et al. Biallelic Mutations in Citron Kinase Link Mitotic Cytokinesis to Human Primary Microcephaly. *Am J Hum Genet*. 2016;99(2):501-510. doi:10.1016/j.ajhg.2016.07.004

125. Jerber J, Zaki MS, Al-Aama JY, et al. Biallelic Mutations in TMTC3, Encoding a Transmembrane and TPR-Containing Protein, Lead to Cobblestone Lissencephaly. *Am J Hum Genet*. 2016;99(5):1181-1189. doi:10.1016/j.ajhg.2016.09.007

126. Lardelli RM, Schaffer AE, Eggens VRC, et al. Biallelic mutations in the 3′ exonuclease TOE1 cause pontocerebellar hypoplasia and uncover a role in snRNA processing. *Nat Genet*. 2017;49(3):457-464. doi:10.1038/ng.3762

127. Guemez-Gamboa A, Çağlayan AO, Stanley V, et al. Loss of Protocadherin-12 Leads to Diencephalic-Mesencephalic Junction Dysplasia Syndrome. *Ann Neurol*. 2018;84(5):638-647. doi:10.1002/ana.25327

128. Schaffer AE, Eggens VRC, Caglayan AO, et al. CLP1 Founder Mutation Links tRNA Splicing and Maturation to Cerebellar Development and Neurodegeneration. *Cell*. 2014;157(3):651-663. doi:10.1016/j.cell.2014.03.049

129. Bilguvar K, Tyagi NK, Ozkara C, et al. Recessive loss of function of the neuronal ubiquitin hydrolase UCHL1 leads to early-onset progressive neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci*. 2013;110(9):3489-3494. doi:10.1073/pnas.1222732110

130. Novarino G, Fenstermaker AG, Zaki MS, et al. Exome Sequencing Links Corticospinal Motor Neuron Disease to Common Neurodegenerative Disorders. *Science*. 2014;343(6170):506-511. doi:10.1126/science.1247363

131. Caglayan AO, Comu S, Baranoski JF, et al. NGLY1 mutation causes neuromotor impairment, intellectual disability, and neuropathy. *Eur J Med Genet*. 2015;58(1):39-43. doi:10.1016/j.ejmg.2014.08.008

132. Johansen A, Rosti RO, Musaev D, et al. Mutations in MBOAT7, Encoding Lysophosphatidylinositol Acyltransferase I, Lead to Intellectual Disability Accompanied by Epilepsy and Autistic Features. *Am J Hum Genet*. 2016;99(4):912-916. doi:10.1016/j.ajhg.2016.07.019

133. Tărlungeanu DC, Deliu E, Dotter CP, et al. Impaired Amino Acid Transport at the Blood Brain Barrier Is a Cause of Autism Spectrum Disorder. *Cell*. 2016;167(6):1481-1494.e18. doi:10.1016/j.cell.2016.11.013

134. Safaei A, Rezaei Tavirani M, Arefi Oskouei A, Zamanian Azodi M, Mohebbi SR, Nikzamir AR. Protein-protein interaction network analysis of cirrhosis liver disease. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2016;9(2):114-123.

135. Vilarinho S, Choi M, Jain D, et al. Individual exome analysis in diagnosis and

management of paediatric liver failure of indeterminate aetiology. *J Hepatol*. 2014;61(5):1056-1063. doi:10.1016/j.jhep.2014.06.038

136. Maddirevula S, Alhebbi H, Alqahtani A, et al. Identification of novel loci for pediatric cholestatic liver disease defined by KIF12, PPM1F, USP53, LSR, and WDR83OS pathogenic variants. *Genet Med*. 2019;21(5):1164-1172. doi:10.1038/s41436-018-0288-x

137. Gunzer S, Kraus A, Buchroth I, et al. Hypertransaminasemia and liver fibrosis associated with haptoglobin retention and anhaptoglobinemia in a paediatric patient. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 2021;41(10):2427-2432. doi:10.1111/liv.15029

138. Pelusi S, Ronzoni L, Malvestiti F, et al. Clinical exome sequencing for diagnosing severe cryptogenic liver disease in adults: A case series. *Liver Int*. 2022;42(4):864-870. doi:10.1111/liv.15185

139. Kong XF, Bogyo K, Kapoor S, et al. Whole exome sequencing in the diagnosis of liver diseases. Published online June 25, 2022:2022.06.21.22276400. doi:10.1101/2022.06.21.22276400

140. Wenger AM, Guturu H, Bernstein JA, Bejerano G. Systematic reanalysis of clinical exome data yields additional diagnoses: implications for providers. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2017;19(2):209-214. doi:10.1038/gim.2016.88

141. Splinter K, Adams DR, Bacino CA, et al. Effect of Genetic Diagnosis on Patients with Previously Undiagnosed Disease. *N Engl J Med*. 2018;379(22):2131-2139. doi:10.1056/NEJMoa1714458

142. SEQ. Accessed January 20, 2023. https://seq.genomize.com.tr/panel/#/

143. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2015;17(5):405-424. doi:10.1038/gim.2015.30

144. Dennis G, Sherman BT, Hosack DA, et al. DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. *Genome Biol*. 2003;4(9):R60. doi:10.1186/gb-2003-4-9-r60

145. Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc*. 2009;4(1):44-57. doi:10.1038/nprot.2008.211

146. Human Phenotype Ontology. Accessed December 3, 2022. https://hpo.jax.org/app/

147. Panels. Accessed December 3, 2022. https://panelapp.genomicsengland.co.uk/panels/

148. Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(D1):D607-D613. doi:10.1093/nar/gky1131

149. Lee CY, Chattopadhyay A, Chiang LM, et al. VariED: the first integrated database of

gene annotation and expression profiles for variants related to human diseases. *Database J Biol Databases Curation*. 2019;2019:baz075. doi:10.1093/database/baz075

150. REVEL: An Ensemble Method for Predicting the Pathogenicity of Rare Missense Variants - PMC. Accessed March 28, 2023. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5065685/

151. dbNSFP v4: a comprehensive database of transcript-specific functional predictions and annotations for human nonsynonymous and splice-site SNVs | Genome Medicine | Full Text. Accessed March 28, 2023. https://genomemedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13073-020-00803-9

152. Wu L, Shi W, Long J, et al. A transcriptome-wide association study of 229,000 women identifies new candidate susceptibility genes for breast cancer. *Nat Genet*. 2018;50(7):968-978. doi:10.1038/s41588-018-0132-x

153. Liu X, Li C, Mou C, Dong Y, Tu Y. dbNSFP v4: a comprehensive database of transcript-specific functional predictions and annotations for human nonsynonymous and splice-site SNVs. *Genome Med*. 2020;12(1):103. doi:10.1186/s13073-020-00803-9

154. dbNSFP: a lightweight database of human nonsynonymous SNPs and their functional predictions - PubMed. Accessed March 29, 2023. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21520341/

155. Kurtz R, Steinberg LG, Betcher M, Fowler D, Shepard BD. The Sensing Liver: Localization and Ligands for Hepatic Murine Olfactory and Taste Receptors. *Front Physiol*. 2020;11:574082. doi:10.3389/fphys.2020.574082

156. Wu C, Thach TT, Kim YJ, Lee SJ. Olfactory receptor 43 reduces hepatic lipid accumulation and adiposity in mice. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2019;1864(4):489-499. doi:10.1016/j.bbalip.2019.01.004

157. Li E, Shan H, Chen L, et al. OLFR734 Mediates Glucose Metabolism as a Receptor of Asprosin. *Cell Metab*. 2019;30(2):319-328.e8. doi:10.1016/j.cmet.2019.05.022

158. Vicente-Manzanares M, Ma X, Adelstein RS, Horwitz AR. Non-muscle myosin II takes centre stage in cell adhesion and migration. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009;10(11):778-790. doi:10.1038/nrm2786

159. Savoia A, Pecci A. MYH9-Related Disease. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., eds. *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed March 23, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2689/

160. MYH9 - Myosin-9 - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt. Accessed April 13, 2023. https://www.uniprot.org/uniprotkb/P35579/entry

161. VCV000014084.2 - ClinVar - NCBI. Accessed April 13, 2023. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/14084/

162. Kunishima S, Matsushita T, Hamaguchi M, Saito H. Identification and characterization of the first large deletion of the MYH9 gene associated with MYH9 disorders. *Eur J Haematol*. 2008;80(6):540-544. doi:10.1111/j.1600-0609.2008.01046.x

163. Miyajima Y, Kunishima S. Identification of the first in cis mutations in MYH9 disorder. *Eur J Haematol*. 2009;82(4):288-291. doi:10.1111/j.1600-0609.2008.01202.x

164. Pecci A, Biino G, Fierro T, et al. Alteration of Liver Enzymes Is a Feature of the Myh9-Related Disease Syndrome. *PLoS ONE*. 2012;7(4):e35986. doi:10.1371/journal.pone.0035986

165. VCV001698495.3 - ClinVar - NCBI. Accessed March 24, 2023. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/1698495/?oq=GALK1[gene]+AND+c.552C%3EG[varname]+&m=NM_000154.2(GALK1):c.552C%3EG%20(p.Ile184Met)

166. Ramani PK, Arya K. Galactokinase Deficiency. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2023. Accessed March 24, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560683/

167. Rubio-Gozalbo ME, Derks B, Das AM, et al. Galactokinase deficiency: lessons from the GalNet registry. *Genet Med*. 2021;23(1):202-210. doi:10.1038/s41436-020-00942-9

168. P S, Ebrahimi EA, Ghazala SA, et al. Structural analysis of missense mutations in galactokinase 1 (GALK1) leading to galactosemia type-2. *J Cell Biochem*. 2018;119(9):7585-7598. doi:10.1002/jcb.27097

169. Takci S, Kadayifcilar S, Coskun T, Yigit S, Hismi B. A Rare Galactosemia Complication: Vitreous Hemorrhage. *JIMD Rep*. 2011;5:89-93. doi:10.1007/8904_2011_103

170. Levy HL, Brown AE, Williams SE, de Juan E. Vitreous hemorrhage as an ophthalmic complication of galactosemia. *J Pediatr*. 1996;129(6):922-925. doi:10.1016/s0022-3476(96)70041-0

171. Degiorgio D, Colombo C, Seia M, et al. Molecular characterization and structural implications of 25 new ABCB4 mutations in progressive familial intrahepatic cholestasis type 3 (PFIC3). *Eur J Hum Genet EJHG*. 2007;15(12):1230-1238. doi:10.1038/sj.ejhg.5201908

172. Jacquemin E, Cresteil D, Manouvrier S, Boute O, Hadchouel M. Heterozygous non-sense mutation of the MDR3 gene in familial intrahepatic cholestasis of pregnancy. *The Lancet*. 1999;353(9148):210-211. doi:10.1016/S0140-6736(05)77221-4

173. Vaz FM, Paulusma CC, Huidekoper H, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide (SLC10A1) deficiency: conjugated hypercholanemia without a clear clinical phenotype. *Hepatol Baltim Md*. 2015;61(1):260-267. doi:10.1002/hep.27240

174. Liu R, Chen C, Xia X, et al. Homozygous p.Ser267Phe in SLC10A1 is associated with a new type of hypercholanemia and implications for personalized medicine. *Sci Rep*. 2017;7(1):9214. doi:10.1038/s41598-017-07012-2

175. Deng M, Mao M, Guo L, Chen FP, Wen WR, Song YZ. Clinical and molecular study of a pediatric patient with sodium taurocholate cotransporting polypeptide deficiency. *Exp Ther Med*. 2016;12(5):3294-3300. doi:10.3892/etm.2016.3752

176. Qiu JW, Deng M, Cheng Y, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) deficiency: Identification of a novel *SLC10A1* mutation in two unrelated infants presenting with neonatal indirect hyperbilirubinemia and remarkable hypercholanemia. *Oncotarget*. 2017;8(63):106598-106607. doi:10.18632/oncotarget.22503

177. Li H, Qiu JW, Lin GZ, et al. [Clinical and genetic analysis of a pediatric patient with sodium taurocholate cotransporting polypeptide deficiency]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi Chin J Contemp Pediatr*. 2018;20(4):279-284. doi:10.7499/j.issn.1008-8830.2018.04.005

178. Rubio-Gozalbo ME, Bakker JA, Waterham HR, Wanders RJA. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency, clinical, biochemical and genetic aspects. *Mol Aspects Med*. 2004;25(5-6):521-532. doi:10.1016/j.mam.2004.06.007

179. Morales Corado JA, Lee CU, Enns GM. Carnitine-Acylcarnitine Translocase Deficiency. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., eds. *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed March 31, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK582032/

180. Harris ED. Cellular Copper Transport and Metabolism. *Annu Rev Nutr*. 2000;20(1):291-310. doi:10.1146/annurev.nutr.20.1.291

181. Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, Forbes JR, Cox DW. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P–type ATPase similar to the Menkes gene. *Nat Genet*. 1993;5(4):327-337. doi:10.1038/ng1293-327

182. Davies LP, Macintyre G, Cox DW. New Mutations in the Wilson Disease Gene, ATP7B: Implications for Molecular Testing. *Genet Test*. 2008;12(1):139-145. doi:10.1089/gte.2007.0072

183. Singh N, Kallollimath P, Shah MH, et al. Genetic analysis of ATP7B in 102 south Indian families with Wilson disease. *PloS One*. 2019;14(5):e0215779. doi:10.1371/journal.pone.0215779

184. VCV000312379.28 - ClinVar - NCBI. Accessed April 3, 2023. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/312379/?new_evidence=true

185. VCV001005564.9 - ClinVar - NCBI. Accessed April 3, 2023. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/1005564/?new_evidence=true

186. Loudianos G, Dessì V, Angius A, et al. Wilson disease mutations associated with uncommon haplotypes in Mediterranean patients. *Hum Genet*. 1996;98(6):640-642. doi:10.1007/s004390050275

187. Houten SM, Koster J, Romeijn GJ, et al. Organization of the mevalonate kinase (MVK) gene and identification of novel mutations causing mevalonic aciduria and hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome. *Eur J Hum Genet EJHG*. 2001;9(4):253-259. doi:10.1038/sj.ejhg.5200595

188. Schafer BL, Bishop RW, Kratunis VJ, et al. Molecular cloning of human mevalonate kinase and identification of a missense mutation in the genetic disease mevalonic aciduria. *J Biol Chem*. 1992;267(19):13229-13238.

189. Houten SM, van Woerden CS, Wijburg FA, Wanders RJA, Waterham HR. Carrier frequency of the V377I (1129G>A) MVK mutation, associated with Hyper-IgD and periodic fever syndrome, in the Netherlands. *Eur J Hum Genet EJHG*. 2003;11(2):196-200.

doi:10.1038/sj.ejhg.5200933

190. Koç Yekedüz M, Doğulu N, Öncül Ü, Köse E, Ceylaner S, Eminoğlu FT. An Atypical Presentation of Mevalonate Kinase Deficiency in Response to Colchicine Treatment. *Mol Syndromol*. 2022;13(2):146-151. doi:10.1159/000518825

191. Marco A, Calvo I, Lopez B, Arostegui J, Yagüe J. Hiper IgD syndrome (HIDS): clinical and genetic features in five patients. *Pediatr Rheumatol*. 2008;6(1):P199. doi:10.1186/1546-0096-6-S1-P199

192. Stojanov S, Lohse P, Lohse P, et al. Molecular analysis of the MVK and TNFRSF1A genes in patients with a clinical presentation typical of the hyperimmunoglobulinemia D with periodic fever syndrome: A low-penetrance TNFRSF1A variant in a heterozygous MVK carrier possibly influences the phenotype of hyperimmunoglobulinemia D with periodic fever syndrome or vice versa. *Arthritis Rheum*. 2004;50(6):1951-1958. doi:10.1002/art.20264

193. Hoffmann F, Lohse P, Stojanov S, et al. Identification of a novel mevalonate kinase gene mutation in combination with the common MVK V377I substitution and the low-penetrance TNFRSF1A R92Q mutation. *Eur J Hum Genet EJHG*. 2005;13(4):510-512. doi:10.1038/sj.ejhg.5201352

194. Brockschmidt A, Trost D, Peterziel H, et al. KIAA1797/FOCAD encodes a novel focal adhesion protein with tumour suppressor function in gliomas. *Brain J Neurol*. 2012;135(Pt 4):1027-1041. doi:10.1093/brain/aws045

195. Nagase T, Nakayama M, Nakajima D, Kikuno R, Ohara O. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XX. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro. *DNA Res Int J Rapid Publ Rep Genes Genomes*. 2001;8(2):85-95. doi:10.1093/dnares/8.2.85

196. Loss of FOCAD, operating via the SKI messenger RNA surveillance pathway, causes a pediatric syndrome with liver cirrhosis | Nature Genetics. Accessed April 18, 2023. https://www.nature.com/articles/s41588-022-01120-0

8. EKLER

EK 1. Etik Kurul Onayı

Tez araştırması için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun 02.02.2022 tarihli 2022/04-06 numaralı kararıyla etik kurul onayı alınmıştır.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Sayın Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan

Araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

ETİK KOMİSYONUN ADI	**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**
AÇIK ADRES	**Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR**
TELEFON	**0 232 412 22 54-0 232 412 22 58**
FAKS	**0 232 412 22 43**
E-POSTA	**goaek@deu.edu.tr**

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	6928-GOA	
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☒ MÜNFERİT ARAŞTIRMA ☐ ÖÇM ☐ YÜKSEKLİSANS ☐ DOKTORA ☐	
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**Kalıtsal Karaciğer Hastalıklarına Sebep Olan Gen Mutasyonlarının Tüm Ekzom Sekanslama Yöntemi ile Araştırılması**	
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan Tıbbi Genetik A.D.	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ☒

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe ☐ İngilizce ☒ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

...R BİLGİLERİ	**Karar No:2022/04-06**	**Tarih:02.02.2022**
	Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan'ın sorumlusu olduğu **"Kalıtsal Karaciğer Hastalıklarına Sebep Olan Gen Mutasyonlarının Tüm Ekzom Sekanslama Yöntemi ile Araştırılması "** isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın mevcut haliyle etik yönden uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Mehmet Birhan Yılmaz (Başkan)	Kardiyoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Emel Çalıkoğlu (Başkan Yardımcısı)	Prevantif Onkoloji	Onkoloji Enstitüsü	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan	Moleküler Tıp	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Erkek	E ☒	H ☐	
Prof.Dr. Suna Asilsoy	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Seher Özyürek	Muskuloskeletal Fizyoterapi	DEÜ Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Fakültesi	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Nil Hocaoğlu Aksay	Tıbbi Farmakoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Meryem Öztürk Haney	Halk Sağlığı Hemşireliği	Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Aylin Özgen Alpaydın	Göğüs Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Aliye Akcalı	Periodontoloji	Diş Hekimliği Fakültesi	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Şule Özbilgin	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	DEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Dr.Öğr.Üyesi Özlenen Şimşek Papur	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Kadın	E ☐	H ☒	
Dr.Öğr.Üyesi Tolga Şahin	Spor Yönetim Bilimleri	Necat Hepkon Spor Bilimleri Fakültesi	Erkek	E ☐	H ☒	
Öğr.Gör.Dr.Kıvanç Yüksel	Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Bilişim A.D	Erkek	E ☐	H ☒	

Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan çalışmada sorumlu araştırmacı olduğu için çalışma görüşülürken toplantıda bulunmamıştır.

EK 2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
"GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR"
İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı: "Kalıtsal Karaciğer Hastalıklarına Sebep Olan Gen Mutasyonlarının Tüm Ekzom Sekanslama Yöntemi ile Araştırılması "
Sorumlu Araştırıcının Adı: Prof. Dr. Ahmet Okay ÇAĞLAYAN
Yardımcı Araştırmacının Adı: Dr. Seray BOZKURT
Araştırmayı gerçekleştiren kurum: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

"Kalıtsal Karaciğer Hastalıklarına Sebep Olan Gen Mutasyonlarının Tüm Ekzom Sekanslama Yöntemi ile Araştırılması" isimli araştırmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma bilimsel araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır ve katılım gönüllülük esasına dayalıdır.

Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da fazla bilgi isterseniz size iletişim bilgileri verilen araştırmacıya sorabilirsiniz.
Bu formun amacı, onam sürecine rehberlik etmek ve klinik ekzom, tüm ekzom ve/veya genom testi öncesi danışmayı desteklemektir. Bu testlerin yapılması kişinin gönüllü olması esasına dayanır, testin uygulanıp uygulanmaması sizin seçiminize bağlıdır. Uygulamak istediğimiz tüm ekzom testine alternatif test metodlarının olup olmadığı da dahil test ve ilgili prosedür ile alakalı aklınıza gelen tüm soruları çekinmeden ve ihtiyaç duyduğunuz kadar zamanı kullanarak sormanızı istiyoruz.

Bu çalışma neden yapılıyor?

Bu çalışmada amacımız sizden alacağımız kan ve/veya doku örneklerini tüm ekzom dizileme yöntemiyle incelemek, bulgularımızı tıbbi ve/veya aile hikayeniz ile beraber değerlendirmek sureti ile hastalığınıza sebep olan genetik bozukluğu/bozuklukları bulmaya çalışmaktır. Kanınız ve doku örnekleriniz genetik materyalinizi içermektedir ki, genetik materyaliniz DNA'dan (Deoksi Ribo Nükleik Asit) oluşmuş olup vücudunuzu oluşturan hücreler için bir kaynak kitap olarak görev alır. Tüm ekzom dizileme genetik materyalinizi oluşturan kimyasal baz çiftlerini, çalışılan doku ve/veya kanda doğru olarak belirlemeyi sağlar.

Test Sürecinin Tanımlanması

Bu genetik test genlerimizin çoğunu tek seferde test etmemizi sağlar. Bu test genellikle test başına tek bir geni analiz eden diğer birçok genetik testten farklıdır.
• Bu test, hastadan küçük bir miktar kan ve/veya doku alınmasını gerektirir. Laboratuar bu örnek(ler)den DNA'nızı izole eder. DNA vücudumuzun ürettiği proteinlerin kompozisyonlarını belirler ve DNA izole edilerek analiz edilecekdir.
• Laboratuar hastanın DNA'sını normal insan DNA'sı ve mümkün olursa diğer aile üyelerinden elde edilen DNA'lar ile karşılaştıracaktır.
• Laboratuar bulduğu yüzlerce genetik değişiklikten hastanın klinik bulgu ve semptomlarından hangisinin sorumlu olduğunu bulmak için klinik bilgi ve aile hikayesini kullanır.
• Laboratuar hastanın bulgu ve semptomları ile ilişkili olduğunu düşündüğü genetik değişiklikleri hastanın hekimine bildirecektir.

Test Sonuçlanma Süreci

Tüm ekzom dizileme testleri ortalama 11-21 haftada sonuçlanmaktadır. Ancak pandemi sürecinden kaynaklanan ve malzeme ile ilişkili diğer problemler nedeniyle 36-48 haftaya uzayabilmektedir.

Tüm Ekzom Dizileme Teknolojilerinin Sınırlılıkları

Ekzom, vücudumuzun düzgün çalışmasında elzem olan proteinlerin üretilmesi için gerekli bilgiyi sağlayan DNA'nın fonksiyonel olan dizilerini içeren insan genomunun tüm bölgelerinin adını ifade eder. Bu DNA bölgeleri, ekzon olarak adlandırılır. Genetik hastalıklara sebep olan DNA dizilerindeki hataların çoğunun bu ekzon bölgelerinde oluştuğu bilinmektedir. Tüm ekzom dizileme testi aynı anda onbinlerce genin önemli kısımlarını analiz edebilmektedir. Fakat bu testlin de sınırlılıkları vardır, örneğin;

• Bu testler her bir ekzonu dizilemez. Ekzonların yaklaşık %85-92'lik kısmı tüm ekzom dizileme vasıtasıyla dizilenebilir.
• Tüm ekzom dizileme her bir ekzonu, her bir ekzondaki her bir mutasyonu tespit etmek için yeterince kuvvetli değildir.
• Tüm ekzom sekanslama sadece tek baz değişikliğini veya DNA'ya küçük eklenme veya kayıpları tespit edebilir. Bu testler diğer tip mutasyonları tespit etmez.
•Tüm ekzom dizileme testi sonucunu doğru bir şekilde yorumlamak için yeterli klinik bilgi ve doğru bir aile hikayesi oldukça önemlidir. Bu testlerin hastanın hastalığının sebebini bulabilme olasılığı birden fazla aile üyesinin aynı anda analiz edildiği durumlarda daha fazladır.
•Tüm ekzom dizileme sonuçları tipik olarak bakılan hastalığın ciddiyeti veya başlangıç yaşını tahmin edemez.

Tüm Ekzom Dizilemenin Potansiyel Riskleri

• Tüm ekzom dizileme de dahil hiçbir laboratuar testi %100 doğru değildir.
o Bize bildirilen genetik tanı doğru olmayabilir.
o Hastanın gerçek tanısı bu test ile konulmayabilir
o Hasta önemi belirsiz sonuçlar alabilir.
• Bu testler daha önce akraba olduklarını bilmeyen insanlar arasındaki biyolojik ilişkiyi ortaya koyabilir.

Kişiye Özgü Bilgilerin Kaybı ile İlişkili Psikolojik ve Sosyal Riskler

- Kişisel bilgilerinizin mahremiyeti bizim için çok önemlidir ve bu nedenle kişisel bilgilerinizi korumak için birçok güvenlik önlemi alıyoruz. Bununla birlikte her ne kadar birçok güvenlik önlemi almış olsak da kimliğinizin asla ortaya çıkmayacağını garanti edemiyoruz. Genetik bilginiz size özgü olsa da çocuğunuz, anne-babanız, kardeşleriniz ve diğer akrabalarınız ile genetik bilgilerinizi paylaşmaktasınız. Sonuç olarak onlardan alınan genetik bilgi kimliğinizin ortaya çıkmasına yardımcı olabilir. Benzer şekilde biyolojik materyalinizden elde ettiğimiz genetik bilgi akrabalarınızın kimliğinin ortaya çıkmasına sebep olabilir.
- Her ne kadar bu proje süresince oluşturulacak halka açık veya erişimi kontrol edilen bilgi bankalarına,sizin tanınmanıza olanak sağlayabilecek isim, adres, telefon numarası, veya kimlik numarası gibi bilgiler girilmeyecekse de bazı kötü niyetli insanlar gelecekte bilgi bankamıza izinsiz sızmak suretiyle, bilgi bankamızda bulunan genetik veya tıbbi bilgilerinizi kullanarak kimliğinize ulaşmak için çeşitli yollar geliştirebilirler. Örnegin, bu tür kötü niyetli insanlar bilgi bankamızda siz veya akrabanız ile ilgili genetik bilgiyi başka bilgi bankalarındaki sizin veya akrabanızın bilgileriyle karşılastırmak suretiyle kimliğinize ulaşabilirler. Ayrıca sizin genetik ve tıbbi bilgilerinizi sakladığımız bilgisayar sistemlerinde ilgili güvenlik kodlarını kırmak suretiyle

bu bilgilerinize ulaşabilirler.

- Bazı genetik değişiklikler sizin veya akrabanızın ileride ortaya çıkabilecek sağlık problemlerinin tahmin edilmesine yardımcı olabilir ki bu bilgi sağlık hizmeti veren kurumları, sigorta şirketleri vb. yerlerin ilgisini çekebilir ve kullanılmak istenebilir. Ayrıca genetik değişikliklerin motifi kolluk kuvvetlerince sizin veya akrabalarınızın kimliğini saptamak için kullanılabilir. Bu nedenlerle genetik bilginiz potansiyel olarak size veya ailenize zarar vermek için de kullanılabilir, örneğin siz veya akrabanızın taşıdığı bir genetik hastalık bilgisi gibi.
- Tabii öngörülemeyen mahremiyet ihlalleri de olabilir.

Genel olarak, kanun ile genetik bilginizin sigorta şirketlerince, sağlık planları yapıcılarınca ve işverenlerce size karşı kullanılması yasaklanmıştır.

Sizin / Çocuğunuzun da içerisinde bulunduğu bir grup hasta sebebi aydınlatılamayan karaciğer hastalığından muzdarip olmasına rağmen bu hastalığın sebebi aydınlatılamamaktadır. Bu nedenle hastalığın gidişatının belirlenmesi ve tedavi planlanması zorlaşmaktadır. Bu çalışmayla hastalığınızın nedeni genetik bir kökene bağlı ise bunu aydınlatmayı, ayrıca karaciğer hastalığına neden olan yeni mutasyonların keşfedilmesini amaçladık. Böylece bu hasta grubunda hastalık tanısının daha erken konulmasını ve tedavi gecikmelerinin önlenmesini sağlamayı hedefledik.
Bu araştırmaya karaciğer hastalığı tanısı alıp araştırmalara rağmen sebebi aydınlatılamayan 18 olgunun dahil edilmesini planladık.
Bu çalışmaya katılmayı kabul ettiğiniz takdirde sizin/çocuğunuzun yaş, cinsiyet, AST-ALT değerleri, ultrasonografi bulguları, aile ağacı bilgileri, daha önce yapılmış genetik testlerin sonuçları, özgeçmiş, hastalık başlangıç yaşı, daha önce tanı konulan hastalıklar, aldığı tedaviler bilgileri kayıt altına alınacaktır. Bu çalışmaya katılmayı kabul ettiğiniz takdirde çalışma, sizin/çocuğunuzun almakta olduğu tedavi ve izlemde bir değişikliğe neden olmayacaktır. Sizden/çocuğunuzdan rutin tetkikler için alınan kan kullanılacak, ek girişim yapılmayacaktır. Alınan kanlardan karaciğer hastalığına neden olduğu bilinen ve olma ihtimali olan genler yeni nesil dizileme yöntemi ile araştırılacaktır. Araştırmamız 6 aylık bir sürede tamamlanacaktır.

Bu araştırmaya katılmalı mıyım?

Bu araştırmada yer almak tamamen size bağlıdır. Şimdi bu formu imzalasanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin araştırmadan ayrılmakta özgürsünüz. Eğer katılmak istemez iseniz veya araştırmadan ayrılırsanız, sizin için en uygun tedavi planı bu kararınızdan etkilenmeksizin uygulanacaktır. Eğer araştırmayı yürüten doktorunuz araştırmaya devam etmenizin sizin için yararlı olmayacağına karar verirse sizi araştırma dışı bırakabilir, bu durumda da sizin için standart olarak verilmesi gereken en uygun tedavi uygulanacaktır.
Araştırmanın sürecinde sizin ciddi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Sizin adınıza öngörülen tıbbi bir risk de bulunmamaktadır.
Bu çalışmada elde edilen hiçbir bilgi veya biyolojik materyal başka çalışmalarda kullanılmayacaktır.

Araştırmanın olası riskleri konusunda ne gibi önlemler alınacaktı?

Araştırma ile ilgili ortaya çıkabilecek herhangi bir sağlık probleminde her türlü tıbbi girişim tarafımızdan yapılacak; bu konudaki tüm harcamalar da tarafımızdan karşılanacaktır

Bu araştırmaya katılmamın maliyeti nedir?

Bu araştırmada yer almak tümüyle sizin isteğinize bağlıdır. Bu araştırma için size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Araştırma sırasında oluşabilecek masraflar size ve bağlı olduğunuz kuruma ödetilmeyecektir.

Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak?

Araştırmayı yapan doktorunuz kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak kimlik bilgileriniz tıp etiği ve KVKK düzenlenmelerine uygun şekilde gizli tutulacaktır. Araştırma için kullanılacak bilgileriniz üçüncü kişilerle paylaşılmayacaktır.
Yalnızca gereği halinde, sizinle ilgili bilgileri etik kurullar ya da resmi makamlar inceleyebilir. Araştırmanın sonunda, kendi sonuçlarınızla ilgili bilgi istemeye hakkınız vardır. Araştırma sonuçları araştırma bitiminde tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır.

KATILIMCININ/HASTANIN BEYANI

DEÜTF Tıbbi Genetik Anabilim dalında, Dr. Seray BOZKURT tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımıma ve doktorum ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (*Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim).* Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabileceğim konusunda bilgilendirildim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

Araştırmadan elde edilen benimle ilgili kişisel bilgilerin gizliliğinin korunacağını biliyorum.

Araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte Tıbbi Genetik AD araştırma görevlisi Dr. Seray Bozkurt'u 'dan arayabileceğimi biliyorum. (Adres: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı İnciraltı/İZMİR)

Tesadüfi Olarak Bulunan Bulgular

Hastalığınız ile ilgili olmayan gen değişiklikleri de yöntemin doğası gereği tespit edilecektir. Bu değişiklikler "Tesadüfi Olarak Bulunan Tıbbi Bulgular" olarak isimlendirilirler ve şunları içerirler;
• Hastanın çalışmaya dahil edilmesine sebep olan klinik bulgular haricinde başka hastalıklara sebep olabilen genlerdeki değişiklikler.
• Değişiklik olması durumunda herhangi bir hastalığa sebep olduğu bilinmeyen genler. Bunlar normalde de olabilen değişiklikler olarak da bilinirler.
• Yeni bulunan ve dolayısıyla klinik olarak önemi bilinmeyen genlerdeki değişiklikler. Bu genlerdeki değişikliklerin hastalık sebebi olup olmadığı veya hastalığa katkıda bulunup bulunmadığı hakkında veya normal bir değişiklik olup olmadığı konusunda bir bilgi yoktur.
Analiz yapıldığı dönem itibariyle saptanan önemi bilinmeyen gen değişimlerinde zaman içinde değişiklikler olabilir. Bildiğiniz gibi genetik alanındaki bilgiler oldukça hızlı bir şekilde değişmektedir. Bu nedenle daha önce önemli olmadığı düşünülen bir gen değişikliğinin daha sonra önemli olduğu düşünülebilir. Böyle bir durumda aşağıda belirteceğiniz tercihe göre davranılacakdır. Eğer sizi takip

eden başka bir hekim genetik test sonuçlarınızın sizin bakım ve tedavinizde kullanılabileceğini düşünüyor ise istediğiniz zaman bizimle kontağa geçebilirsiniz ve isteğinize bağlı olarak sonuçlarımızı sizin hekiminizle paylaşabiliriz.
Lütfen aşağıdaki boşluklara tercihinizi adınızın başharflerini kullanarak belirtiniz:

_[ ]___ Sağlığımı potansiyel olarak etkileyebilecek genetik değişiklikler bulunursa benimle tekrar kontağa geçilmesini **İSTEMİYORUM**.
_[ ]___ Sağlığımı potansiyel olarak etkileyebilecek genetik değişiklikler bulunursa benimle tekrar kontağa geçilmesini **İSTİYORUM.**

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı
Adı, soyadı:
Adres:
Tel:
İmza:
Tarih:

Görüşme tanığı
Adı, soyadı:
Adres:
Tel:
İmza:
Tarih:

Katılımcı ile görüşen hekim
Adı soyadı, unvanı: Araş .Gör. Dr Seray BOZKURT
Adres: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı İnciraltı/İZMİR
Tel:
İmza:
Tarih:

EK 3. Veri Kayıt Formu

...../...../.....

Kalıtsal Karaciğer Hastalıkları Veri Kayıt Formu

Doğum Tarihi: ***Hasta No:***

Yaş: **Cinsiyet:**

Başvuru şikayeti: **Şikayet başlangıç yaşı:**

Özgeçmiş: **Geçirdiği operasyonlar:**

Kronik hastalıklar: **Kullandığı İlaçlar:**

Soygeçmiş: **Parental akrabalık:**

Lipit paneli: **VKİ:**

Genetik tetkik sonucu(varsa):

Ultrasonografi bulguları:

Karaciğer biyopsisi sonuçları:

Karaciğer hastalığına neden olabilen nadir metabolik hastalıklar genetik paneli sonucu:

Alkol kullanım öyküsü:

Seruloplazmin: **Bakır:**

Alfa-1 antitripsin düzeyi **Otoimmun belirteçler:**

Seroloji(Hepatit A,B,C,Toxo,CMV):

Ferritin: **Transferrin satürasyonu:**

Tüm Ekzom Sekanslama ile Tespit Edilen Varyantlar

Gen	Değişim	VUS / Muhtemel Patojenik/ Patojenik
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		
11.		
12.		
13.		
14.		
15.		
16.		
17.		
18.		
19.		
20.		