T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

TEK MERKEZ DENEYİMİYLE AİLESEL HİPERKOLESTEROLEMİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN "YENİ KUŞAK DNA DİZİ ANALİZİ (NEXT GENERATION SEQUENCING – NGS)" YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. DEMET ÖZKAY

İZMİR

2023

REFERANS NO: 10530957

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

TEK MERKEZ DENEYİMİYLE AİLESEL HİPERKOLESTEROLEMİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN "YENİ KUŞAK DNA DİZİ ANALİZİ (NEXT GENERATION SEQUENCING – NGS)" YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. DEMET ÖZKAY

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: PROF. DR. AYFER ÜLGENALP

İZMİR

2023

İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER DİZİNİ **5**
TABLOLAR DİZİNİ **5**
KISALTMALAR **6**
TEŞEKKÜRLER **8**
ÖZET **9**
SUMMARY **11**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **13**
2. GENEL BİLGİLER **17**
2.1. Lipidler **17**
2.1.1. Kolesterol 18
2.2. Lipoproteinler **18**
2.2.1 Apolipoproteinler 19
2.3. Kolesterol Transportu **22**
2.4. Lipidlerin Periferik Dokulara Taşınımı **22**
2.4.1. Ekzojen Yolak 22
2.4.2. Endojen yolak 23
2.5. LDL Metabolizması **23**
2.5.1. LDL Transportu 24
2.5.2. LDL ve Ateroskleroz 25
2.6. Lipidlerin Geri Taşınması **25**
2.6.1. HDL Kolesterol Esterifikasyonu 26
2.6.2. Ters kolesterol transportu 26
2.7. Hiperlipidemiler **28**
2.8. Monogenik Hiperkolesterolemiler **31**
2.9. Ailesel Hiperkolesterolemi **32**
2.9.1. Tarihçe 32
2.9.2. Epidemiyoloji 32
2.9.3. Klinik Özellikleri 33
2.9.4. Tanı 34
2.9.5. Ailesel Hiperkolesterolemi'nin Genetiği 35
2.9.6. Ailesel Hiperkolesterolemi Tanısında Tarama ve Genetik Testler 43
2.9.7. Takip ve Tedavi 45
2.9.8. Türkiye'de Ailesel Hiperkolesterolemi 46
3. GEREÇ ve YÖNTEM **49**
3.1. Hasta Seçimi **49**
3.2. Verilerin Toplanması **49**

3.3. Genomik DNA İzolasyonu 50
3.4. DNA Konsantrasyon ve Saflık Ölçümü 50
3.5. Hedefli Yeni Nesil Dizileme Paneli 51
3.5.1. YND Islak Laboratuvar Aşamaları 52
3.5.2. YND Verilerinin Biyoinformatik Analizi 52
3.5.3. YND Verilerinin Klinik Analizi 52
3.6. Klinik Önemi Bilinmeyen (VUS) Varyantların Tekrar Analizi 54
3.7. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz 54
4. BULGULAR 55
5. TARTIŞMA 80
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 96
7. KAYNAKLAR 99
8. EKLER 118
Ek 1 118
Ek 2 120

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Lipid kategorilerine örnekler 17
Şekil 2 Lipoprotein yapısı 18
Şekil 3 Lipoprotein kompozisyonu 19
Şekil 4 LDL transportu 25
Şekil 5 Kolesterol/lipoprotein metabolizması yolakları ve ilgili genler. 28
Şekil 6 Genel olarak genotipe göre ortalama LDL-K değerlerindeki artış 34
Şekil 7 LDLr domainleri 38
Şekil 8 Genotipe göre ortalama LDL-K değerlerindeki artış 43
Şekil 9 Olguların LDL-K, T-Kolesterol, HDL, TG dağılımları 59
Şekil 10 Hiperlipidemi panelinde saptanan patojenik/ muhtemel patojenik gen değişimlerinin özellikleri 62
Şekil 11 Hiperlipidemi panelinde değişim bulunan genler ve patojenisiteleri. 62
Şekil 12 Ekzon/İntron yerleşimine göre saptanan *LDLR* değişimleri 70

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1 Fredrickson sınıflaması 31
Tablo 2 AH tanı kriterlerinin karşılaştırılması. 35
Tablo 3 DNA izolasyon aşamaları 50
Tablo 4 Hiperlipidemi YND paneli gen içeriği ve transkript numaraları 52
Tablo 5 Olguların istatistiksel verileri 56
Tablo 6 Olguların EKO bulguları 58
Tablo 7 Varyantlara göre hastaların lipid profilleri 63
Tablo 8 Hiperlipidemi panelinde saptanan varyantların özellikleri 66
Tablo 9 Etkilenen LDLr protein domainleri (*LOVD*[3]) 69

KISALTMALAR

bç Baz çifti

ABCA1 ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı A1

AH Ailesel Hiperkolesterolemi

Apo Apolipoprotein

APOB Apolipoprotein B geni

ASKVH Aterosklerotik kardiyovasküler hastalık

CDC Centers for Disease Control and Prevention/ Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri

CETP Kolesterol ester transfer proteini

Del/dup Delesyon/duplikasyon

dL Desilitre

EAS FHSC The European Atherosclerosis Society FH Studies Collaboration

EKO Ekokardiyografi

EKG Elektrokardiyografi

ER Endoplazmik retikulum

GFW Genetik saha çalışanları

HDL High density lipoprotein/Yüksek yoğunluklu lipoprotein

HDL-K HDL kolesterol

HoAH Homozigot ailesel hiperkolesterolemi

HeAH Heterozigot ailesel hiperkolesterolemi

IDL Intermediate density lipoprotein/Orta yoğunluklu lipoprotein

kb Kilobaz

indel İnsersiyon/delesyon

KAH Koroner arter hastalığı

KKH Koroner kalp hastalığı

KVH Kardiyovasküler hastalık

LCAT	Lesitin kolesterol açiltransferaz
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LDL-K	Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
LDLR	LDLr geni
LDLr	Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü
LDLRAP1	Low density lipoprotein receptor adapter protein 1
LP/P	Muhtemel patojenik (likely pathogenic)/patojenik
LXR	Liver X receptor
LPL	Lipoprotein lipaz
LRP1	LDL ile ilişkili protein 1
mg	Miligram
MLPA	Multiplex ligation-dependent probe amplification
MI	Miyokard enfarktüsü
MTP	Mikrozomal trigliserid transfer proteini
NGS	Next generation sequencing/Yeni nesil (Yeni Kuşak) dizileme
PCR	Polymerase chain reaction/Polimeraz zincir reaksiyonu
PCSK9	Proprotein convertase subtilisin kexin type 9
PTB	Fosfotirozin bağlayan domain
rs	RefSNP
SR-B1	Çöpçü(scavenger) reseptör B1
SREBP	Sterol regulatory element-binding protein
TG	Trigliserid
T-Kolesterol	Total kolesterol
USG	Ultrasonografi
VLDL	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
VUS	Klinik önemi bilinmeyen
YND	Yeni nesil/Yeni kuşak dizileme

TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim ve tez hazırlık sürecinde danışmanlığımı üstlenen bana her türlü yardım, öneri, eleştiriyle yol gösteren ve destekleyen değerli hocam sayın Prof. Dr. Ayfer Ülgenalp'e,

Genetik biliminin moleküler ayağındaki engin tecrübe ve bilgi birikimiyle değerli katkılarından ve tavsiyelerinden çok faydalandığım, çalışmalarımızda desteğini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ahmet Okay Çağlayan'a,

Genetik bilimine bir ömür adayan, öğrencisi olma şans ve gururuna sahip olduğum sayın Prof. Dr. Murat Derya Erçal'a,

Eğitim hayatıma tekrar başlamamda beni yüreklendiren, tecrübe ve tavsiyelerini esirgemeyen kıymetli hocalarım sayın Prof. Dr. Özlem Giray Bozkaya ve Doç. Dr. Elçin Bora'ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca bizlere güler yüzlü ve hoşgörülü bir çalışma ortamı sunan değerli hocalarım sayın Doç. Dr. Tufan Çankaya, Doç. Dr. Semra Gürsoy ve Doç. Dr. Altuğ Koç'a,

Tez savunmama katılarak katkı ve eleştirilerini sunan Ege Üniversitesi Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı'ndan sayın Prof. Dr. Haluk Akın'a,

Tez hastalarımın belirlenmesinde ve arşiv taramasında katkılarını sunan Çocuk Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'ndan sayın Prof. Dr. Nur Arslan'a,

İş ortamından çok bir aile ortamında çalışma fırsatı bulduğum, birlikte güzel anılar biriktirdiğimiz Tıbbi Genetik ve Çocuk Genetik bölümlerindeki sevgili hekim arkadaşlarım ile Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı çalışanı tüm arkadaşlarıma,

Bana olan inançlarını hiç kaybetmeyen annem, babam ve kardeşime, bu süreçte hep yanımda olan ve daima beni destekleyen çocuklarıma,

Sonsuz teşekkürlerimle…

Dr. Demet Özkay

ÖZET

TEK MERKEZ DENEYİMİYLE AİLESEL HİPERKOLESTEROLEMİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN "YENİ KUŞAK DNA DİZİ ANALİZİ (NEXT GENERATION SEQUENCING – NGS)" YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Dr. Demet ÖZKAY

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İZMİR

Ailesel Hiperkolesterolemi (AH), kolesterol yüksekliği ile seyreden ve erken yaş aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların (ASKVH) önlenebilir nedeni olan genetik bir dislipidemidir. Hastalığın heterozigot formunun tahmini prevalansı 1:220 gibi oldukça sıktır. Tedavi edilmeyen erkek hastaların %50'sinin 50 yaşına kadar, kadınların ise %30'nun 60 yaşına kadar fatal ya da nonfatal koroner arter hastalığı (KAH) riski ile karşı karşıya kaldığı bilinmektedir. AH hastalığına neden olan patojenik (P) varyantlar, klinik olarak AH teşhisi konmuş yetişkin probandların yaklaşık %60-%80'inde, pediatrik probandların ~%60-%95'inde saptanabilmektedir.

Çalışmanın amacı tek merkez deneyimiyle Türkiye'de klinik AH tanısı ile takip edilen olguların genetik spektrumunu değerlendirmektir.

Çalışmaya klinik AH tanısıyla yönlendirilen, genetik tetkikleri tamamlanmış 0-70 yaş arası çocuk ve erişkinlerden oluşan 56 olgu dahil edilmiştir. Hastaların 18 gen içeren "Hiperlipidemi Yeni Nesil Dizileme" (YND) panel sonuçları Low Density Lipoprotein Receptor geni (*LDLR*), Apolipoprotein B geni (*APOB*), Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 (*PCSK9*) ve Low Density Lipoprotein Receptor Adapter Protein 1 (*LDLRAP1*) genleri açısından, klinik verileri ise hasta dosyaları ve probel kayıtlarından retrospektif olarak incelenmiştir.

Çalışma grubundaki 56 olgunun %66'sında (37 olgu) Hiperlipidemi YND panelinde yer alan *LDLR, APOB* ve *LDLRAP1* genlerinde muhtemel patojenik/ patojenik (LP/P) varyant saptanmıştır. Mutasyonların %89,2'si (33 olgu*) LDLR* geninde, %10,8'i diğer genlerde (*LDLRAP1* ve *APOB*) görülmüştür. Erişkin yaş grubu hastaların %67'sinde (10 olgu), pediyatrik yaş grubu olguların %75'inde (27 olgu) LP/P varyant bulunmaktadır.En sık değişim *LDLR* geni 11.ekzonda yer almaktadır.

LDLR geninde 2, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17. ekzonlarda yer almak üzere 16 farklı LP/P varyant tespit edilmiştir. Bulunan 2 intronik patojenik varyanttan biri *LDLR* geni 8.intronda, diğeri *LDLRAP1* geni 4.intronda yer almaktadır. Literatürde Türkiye için kurucu etki altındaki bir mutasyon olarak değerlendirilen *LDLR* geni patojenik Trp577Arg değişimi çalışmamızda 3'ü indeks olmak üzere 6 olguda heterozigot olarak bulunmaktadır (*LDLR* geni LP/P değişimlerinin %18'i).

LDLR gen mutasyon analizleri sonucunda geliştirilen AH ilişkili genetik varyantların mutasyon kataloglarının kullanımıyla indeks vakalar üzerinden aile bireyleri için uygulanacak kademeli tarama programları sayesinde kısa sürede ASKVH için risk altındaki olguların tanı ve tedaviye ulaşması sağlanabilir, böylelikle morbidite ve mortalite en aza indirilebilir. Popülasyonlarda görülen sık mutasyonların belirlenmesi ve fenotiplerle ilişkilendirilmesi ile daha hızlı aksiyon alınabilir. Bu nedenlerle çalışmamızın ülkemizdeki varyant çeşitliğinin tespitine katkı sunması beklenmektedir.

Anahtar kelimeler: AH, YND, kademeli tarama, genotip spektrumu

SUMMARY

INVESTIGATION OF GENES ASSOCIATED WITH FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA WITH SINGLE CENTER EXPERIENCE BY "NEXT GENERATION SEQUENCING – NGS" METHOD

Dr. Demet OZKAY

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

Familial Hypercholesterolemia (FH) is a genetic dyslipidemia characterized by elevated cholesterol and a preventable cause of early atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD). The estimated prevalence of the heterozygous form of the disease is quite frequent, 1:220. It is known that 50% of untreated male patients face the risk of fatal or nonfatal coronary artery disease until the age of 50 and 30% of women until the age of sixty. Pathogenic variants that cause FH can be detected in approximately 60%-80% of adult probands clinically diagnosed with AH and in ~60%-95% of pediatric probands.

The aim of the study was to evaluate the genetic spectrum of cases followed up with the diagnosis of clinical FH in Turkey with a single-center experience.

The study included 56 cases consisting of children and adults between the ages of 0-70 years old who were referred with the diagnosis of clinical FH and whose genetic tests were completed. The results of the "Hyperlipidemia Next Generation Sequencing" (YND) panel including 18 genes were examined retrospectively from the patient files and probel records in terms of Low Density Lipoprotein Receptor gene (LDLR), Apolipoprotein B gene (APOB), Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 (PCSK9) and Low Density Lipoprotein Receptor Adapter Protein 1 (LDLRAP1) genes.

In 66% (37 cases) of the fifty-six cases in the study group, a likely pathogenic/pathogenic (LP/P) variant was detected in the *LDLR, APOB,* and *LDLRAP1* genes in the Hyperlipidemia NGS panel. Mutations were seen in 89.2% (33 cases) of the *LDLR* gene and in 10.8% of other genes (*LDLRAP1 and APOB*). LP/P variants were present in 67% (10 cases) of adult age group patients and 75% (27 cases)

of pediatric age group patients. The most common variant is in the 11th exon of the *LDLR* gene.

Sixteen different LP/P variants have been identified in the *LDLR* gene to be located in exons 2, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17. Of the 2 intronic pathogenic variants found, one is in the 8th intron of the *LDLR* gene, and the other is in the *LDLRAP1* gene in the 4th intron. Pathogenic Trp577Arg variant of the *LDLR* gene, which is considered as a mutation under the founder effect for Turkey in the literature, was found heterozygous in 6 cases, 3 of which were indexes (18% of *LDLR* gene LP/P variants).

By expanding the mutation catalog of AH-related genetic variants with LDL receptor mutation analyses, it is possible to ensure that cases at risk for ASCVD can reach diagnosis and treatment in a short time through cascade screening programs to be implemented for family members through index cases, thus minimizing morbidity and mortality. Faster action can be taken by identifying common mutations seen in populations and associating them with phenotypes. For these reasons, our study is expected to contribute to the detection of variant diversity in our country.

Keywords: FH, NGS, cascade screening, genotype spectrum

1. GİRİŞ VE AMAÇ



Kolesterol

Kolesterol biyolojideki en karmaşık küçük moleküldür. Onüç Nobel Ödülü, kariyerinin önemli bir kısmını kolesterole adayan bilim adamlarına verilmiştir. 1784'de safra taşlarından kolesterol izole edilmesinden itibaren, kolesterol tıp ve bilimin farklı alanlarındaki bilim adamları için büyüleyici olmuştur. Kolesterol bir Janus-yüzlü (Janus: Roma mitolojisine göre iki yüzlü bir tanrı) moleküldür. Sudaki bu değişken çözünmezliği onu hem hücre zarları için kullanışlı yapar hem de zarar verici hale getirebilir.

—Michael Brown ve Joseph Goldstein, Kolesterol kan düzeylerinin kontrolünü aydınlatan çalışmalarıyla aldıkları Nobel Ödülü törenindeki konuşmalarından alıntıdır (1985),

© The Nobel Foundation, 1985

Biyokimya; ISBN: 9786053552024 2014 Kimya (Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Lubert Stryer) kitabından alıntıdır.

Ailesel hiperkolesterolemi, yaşam boyu yüksek LDL-K (düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol) düzeylerine neden olan, en yaygın kalıtsal kardiyovasküler hastalık (KVH) sebebidir.

Çocuklarda LDL-K düzeylerinin >160 mg/dL(>3.4 mmol/L) ya da total kolesterolün >230 mg/dL(>6 mmol/L), erişkinkerde ise LDL-K düzeylerinin >190 mg/dL(>4.9 mmol/L) ya da total kolesterolün >310 mg/dL(>8 mmol/L) olması, erken KAH veya diğer KVH öyküsü bulunması, fizik muayenede ksantomlar, arkus kornea gibi lipid birikimine ait bulguların görülmesi ya da ailede erken KAH ve/veya KVH öyküsü varlığı bu hastalıktan şüphenilmesini gerektirir(1).

Hastalığın heterozigot formunun prevalansı, etnik gruplar ve kapalı toplumlarda değişmekle birlikte tahmini 1/220 gibi oldukça sıktır. Homozigot formu 1:160,000-1:250,000 sıklıkta daha nadir görülmektedir. Patogenezindeki temel mekanizma dolaşımdaki LDL-K'ün yaklaşık %70'ini metabolize eden LDL-K'ün karaciğere alınmasından sorumlu olan LDL reseptörlerinin (LDLr) yokluğu ya da azalmasıdır(2).

Tedavi edilmeyen AH'li erkek hastaların en az %50'sinin 50 yaşına kadar, kadınların ise %30'unun 60 yaşına kadar koroner hastalık riski ile karşı karşıya kaldığı bilinmektedir(3,4).

AH'nin klinik tanısında sıklıkla kullanılan ve uluslararası kabul gören tanı kriteri dizileri arasında Amerika Birleşik Devletleri kaynaklı 'Make Early Diagnosis to Prevent Early Death-MED- PED", Birleşik Krallık kaynaklı "UK Simon Broome" ve Hollanda kaynaklı "Dutch Lipid Clinic" kriterleri yer almaktadır(5).

LDL-K işlevlerinde etkili olan genler *LDLR, APOB, PCSK9* ve *LDLRAP1* genleridir (OMIM, MIM: 143890). AH fenotipinden sorumlu genler arasında, *LDLR* gen varyantları %60-80'lik oranla en sık görülen genetik değişikliklerdir. *LDLR* gen mutasyonlarının %85'i nokta mutasyonları ya da intragenik küçük insersiyon/delesyonlardır (indel) ve dizileme analizleri ile belirlenebilir. Gendeki değişimlerin %15'lik kısmını oluşturan daha büyük delesyon/duplikasyonların (del/dup) tespiti MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) gibi farklı bir yöntem kullanımıyla belirlenebilmektedir(1).

Belirtilen prevalans rakamları kullanıldığında dünya çapında 34 milyon AH'li birey bulunduğu ve olguların ancak %1'inin teşhis edildiği düşünülmektedir.

AH'nin bu denli sık olmasına rağmen, CDC (Centers for Disease Control and Prevention, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri) verilerine göre Amerika'da yaklaşık 1 milyon kişinin AH'si olduğu, bu kişilerin ise ancak %10'nun durumlarından haberdar oldukları düşünülmektedir(6). İngiltere'de ise AH'li kişilerin %85'inden fazlasının bu hastalığa sahip olduklarının ve erken kalp hastalığı riski altında olduklarının farkında olmadıkları ve tedavi edilmeyen AH'li 20-39 yaş arası kişilerde benzer yaştakilere kıyasla kalp hastalığından ölüm riskinin 100 kat arttığı bildirilmektedir. Bu nedenle erken teşhis ve tedavinin kesinlikle çok önemli olduğu vurgulanmaktadır(7).

Aileden bir kişide AH tespit edilmesi durumunda aile taraması gerekir ve bu şekildeki aile taramasına kaskad (kademeli) tarama (cascade screening) denir(8).

Tarama; kolesterol testi, genetik analiz veya her ikisi birlikte kullanılarak yapılabilir(9).

Ulusal ve uluslararası kuruluşlar tarafından tavsiye edilen AH için kademeli tarama oldukça etkilidir. Klinik ve halk sağlığı programlarına entegrasyonu destekleyen sistematik incelemelere dayandırarak, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri, kaskad taramayı kanıta dayalı önerilerle birlikte kademeli genomik bir uygulama olarak sınıflandırmaktadır (A derecesi)(10) ve AH'nin genetik test ve yönetimine ilişkin kılavuzların yakın tarihli bir sistematik incelemesinde de çoğu kılavuzun, kademeli tarama için DNA testinin kullanılmasını önerdiği bilinmektedir(11).

Genetik test, KVH riskini önemli ölçüde azaltabilecek hızlı tedaviye başlamayı sağlayacak kesin teşhisler sunarken, homozigot AH'si olanlar için daha agresif terapötik müdahale gerektiğinden, hasta bakımını yönlendirebilen homozigot ve heterozigot AH'nin ayrımında önemlidir(10).

NICE kılavuzu (The National Institute for Health and Care Excellence), AH'li ebeveynlerin çocuklarının 10 yaşına gelmeden önce veya en erken fırsatta test edilmesi gerektiğini belirtmektedir. AH için klinik kriterleri karşılayan kişilerin, tanılarını doğrulamak için DNA testi için uzman bir servise yönlendirilmesini ve AH tanısı alan kişilerin etkilenen akrabalarını tanımlamak için kademeli testlerinin DNA testi kullanılarak yapılmasını önermektedir. Böylelikle özellikle çocukların genç yaşta teşhis edilmesiyle yaşam boyu riskleri azaltılabilmektedir (12).

İspanya'da yapılan ve ulusal bir genetik kademeli tarama programının maliyet etkinliğini tahmin etmeyi amaçlayan bir çalışmada; 1 yıl boyunca AH için ulusal program uygulanmasıyla, 10 yıllık bir takip sırasında 9000 olguluk AH hasta grubunda 847 koroner olayı ve 203 ölümü önleyerek QALY (kalite ayarlı yaşam yılları: quality-adjusted life years) başına €29.608 maliyetle fazladan 767 QALY kazandırdığı belirtilmiştir(13).

AH, genomik teknolojilerin rutin hasta bakımına entegrasyonunun ideal bir örneğidir.

Bu tez çalışmasında AH tanısıyla takip edilerek Tıbbi Genetik polikliniğine yönlendirilen hastalar ile Dokuz Eylül Üniversitesi Genetik Değerlendirme Merkezi'nde (DEGEDEM) yeni nesil dizileme teknolojileri kullanılarak hedefli moleküler genetik testleri yapılmış olan indeks vakalar ve kademeli genetik testler kapsamında aile taramasıyla taranan olgular retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın amacı tek merkez deneyimiyle Türkiye'de klinik AH tanısı ile takip edilen olguların genetik spektrumunun bir kesitini sunmaktır. Saptanan mutasyonlar ile olguların klinikleri incelenmiş, özellikle bölgemizde sık görülen varyantlar belirlenmeye çalışılmıştır. Erken tanı ve yaşam tarzı değişikleriyle birlikte uygun tedavi ve düzenli takip ile LDL-K'in yaratacağı tahribat ve hastalığın yaşam boyu yükünün hafifletilebileceği bu hastalığın, genetik tanısının da konularak heterozigot, homozigot ayrımının yapılması ve kademeli tarama ile aile bireylerinin taranarak en kısa sürede tedavilerine başlanması sağlanabilir.

Çalışmanın soruları;

AH hastalarında Genotip-Fenotip korelasyonu nasıldır?

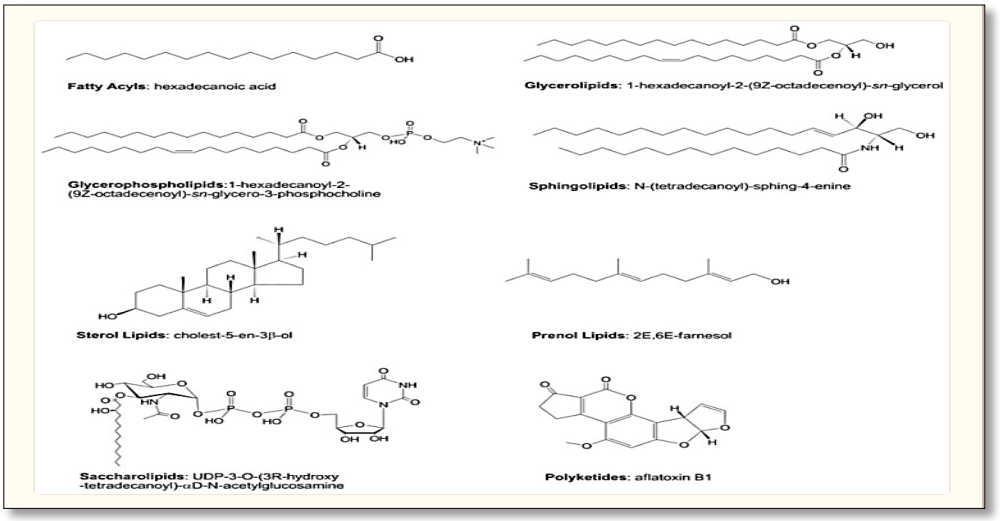
Literatür ve çalışmanın varyant verileri ile genotip-fenotip korelasyonu açısından fark var mıdır?

Yeni nesil dizileme teknolojilerinin bu hastalık grubunda tanıya katkısı ne kadar olmuştur?

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lipidler

Lipidler polar olmayan organik çözücülerde (örneğin kloroform) çözünen, ancak suda çözünmeyen heterojen bir molekül grubudur. Amfifilik özellikte olan lipidlerin en temel işlevi hücre zarlarının yapısal bileşeni olmalarıdır, ayrıca enerji depoları, sinyal moleküllerinin kaynakları ve protein alımı için platformlar olarak görevlidirler(14). Genomik ve proteomik bağlamında lipid moleküllerinin, 'lipidomiklerin' analizi, hücresel fizyoloji ve patolojiyi anlamada çok önemlidir. Lipid biyolojisi, postgenomik devrim ve sistem biyolojisinin ana araştırma hedefi haline gelmiştir(15). 2005 yılında, LİPİT MAPS Konsorsiyumu'nun girişimi üzerine, lipidler hakkında uluslararası iletişimi kolaylaştırmak ve üretilecek çok büyük miktarda veriyle başa çıkmak için Uluslararası Lipid Sınıflandırma ve Adlandırma Komitesi (ILCNC), iyi tanımlanmış kimyasal ve biyokimyasal ilkelere dayalı ve genişletilebilir, esnek ve ölçeklenebilir olacak şekilde tasarlanmış bir çerçeve kullanarak lipidler için kapsamlı bir sınıflandırma sistemi geliştirmiştir. LİPİT MAPS® Lipid Sınıflandırma Sistemi, iki temel biyosentetik yapı taşı kavramına (ketoaçil grupları ve izopren grupları) dayandırarak lipidleri her biri kendi alt sınıflandırma hiyerarşisine sahip sekiz kategoriye ayırır. (LİPİT MAPS web sitesinden (http://www.lipidmaps.org) çevrimiçi olarak ulaşılabilir.)



Şekil 1 *Lipid kategorilerine örnekler. Lipid Maps veri tabanından alıntıdır.*

Bu sınıflamaya göre lipidler: Yağlı açiller, gliserolipidler, gliserofosfolipidler, sfingolipidler, sakkarolipidler ve poliketidler (ketoaçil alt birimlerinin yoğunlaşmasından türetilmiştir) ile sterol lipidleri ve prenol lipidleri (izopren alt birimlerinin yoğunlaşmasından türetilmiştir) şeklinde gruplandırılmıştır(15–17).

2.1.1. Kolesterol

Kolesterol, membran yapısına katkıda bulunan ve akışkanlığını modüle eden bir molekül olmasının yanı sıra; D vitaminin, steroid hormonların (örneğin, kortizol, aldosteron ve adrenal androjenler) ve seks hormonlarının (örneğin, testosteron, östrojenler ve progesteron) sentezinde, ayrıca yağda çözünen vitaminlerin (A, D, E ve K) emilimini kolaylaştırmak için sindirimde kullanılan safra tuzunun bir bileşeni olarak işlev gören lipofilik bir moleküldür(18).

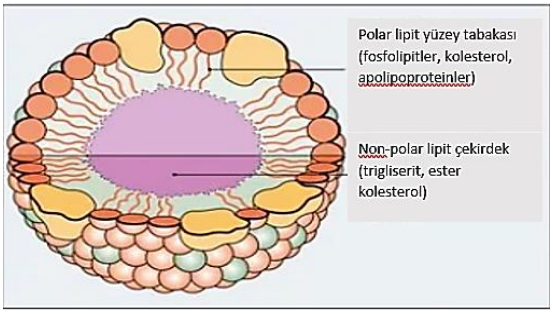
Steroller, dört aromatik halkadan oluşan ortak bir yapısal öncü molekül olan siklopentanoperhidrofenantrenden (steran) türetilir(19).

Kolesterol, dört hidrokarbon halkasından oluşan merkezi bir sterol çekirdeği ile bir hidrokarbon kuyruğu ve bir hidroksil grubu içeren 27 karbonlu bir bileşiktir. Hidrokarbon kuyruğu ve merkezi halka polar olmadığı için kolesterol, kan dolaşımında apoproteinler ile birlikte paketlenerek lipoprotein olarak taşınır(20).

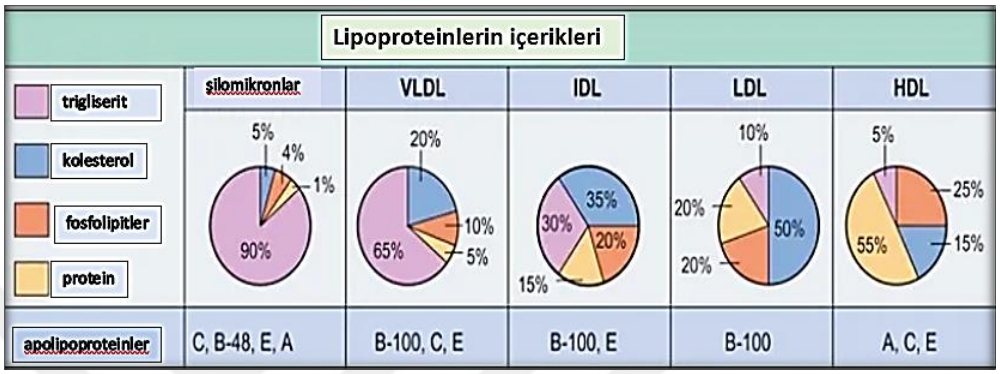
2.2. Lipoproteinler

Suda çözünmedikleri için plazmada proteinlerle birlikte taşınan lipidlerden serbest yağ asitlerinin temel taşıyıcısı albumindir; diğer lipidler, lipoproteinler olarak bilinen kompleksler halinde dolaşımda bulunur. Lipoproteinler, polar olmayan bir trigliserid (TG) ve kolesterol ester çekirdeğini çevreleyen serbest kolesterol, fosfolipid ve apolipoproteinler (Apo) olarak bilinen protein tabakadan oluşmaktadır(21).

Şekil 2 *Lipoprotein yapısı. https://basicmedicalkey.com/lipids-lipoproteins-and-cardiovascular-disease/*



Serum lipoproteinlerinin sınıflandırılmasında elektroforetik, ultra-santrifüj ve immünolojik teknikler dahil olmak üzere farklı laboratuvar metodolojileri kullanılmıştır. Bu teknikler kullanılarak lipoproteinler elektroforetik hareketliliklerine, hidratlı yoğunluklarına ve protein içeriklerine göre sınıflandırılabilirler(22). Temelde 6 sınıfta gruplandırılırlar: şilomikronlar ve şilomikron kalıntıları, VLDL (çok düşük yoğunluklu lipoprotein), IDL (orta yoğunluklu lipoprotein), LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein), HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) ve lipoprotein(a).



Şekil 3 *Lipoprotein kompozisyonu. HDL içeriği HDL3 için verilmiştir. HDL2 daha az protein daha fazla lipid içermektedir. https://basicmedicalkey.com/lipids-lipoproteins-and-cardiovascular-disease/*

Lipoproteinler, elektroforetik jel hareketliliklerine göre alfa ve beta lipoproteinler şeklinde de sınıflandırılmaktadır. HDL alfa bandında, LDL beta bandında yer alırken diğer ara formlar ise pre-beta ve geniş beta mobilitesinde görünür.

Lipoproteinler, diyet ile alınan lipidlerin ince bağırsak tarafından emiliminde ve taşınmasında, karaciğerden periferik dokulara ya da periferik dokulardan karaciğere ya da bağırsağa taşınmasında (ters kolesterol taşınması) kilit rol oynarlar.

Ayrıca, lipidlerin ve lipoproteinlerin doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bir parçası olarak konak savunmasında önemli bir rol oynadığı da daha fazla kabul görmektedir. Örneğin, lipoproteinlerin, gram negatif bakteri ürünlerini, lipoteikoik asit ve virüsleri bağlayarak nötralize edebildiği ve böylelikle hayvanları Gram negatif bakteri ürünleri kaynaklı ölümden koruduğu gösterilmiştir(23).

2.2.1 Apolipoproteinler

Apolipoproteinler; lipoprotein partiküllerinin yapısal bileşenidirler, lipoprotein reseptörleri için ligand görevleri vardır, lipoproteinlerin metabolizmasında yer alan enzimlerin aktivatörleri veya inhibitörleri olarak çalışırlar.

Plazma apolipoproteinleri, değiştirilemeyen (sulu çözeltide çözünmeyen) apolipoproteinler [apolipoprotein B-100 (ApoB-100) ve apolipoprotein B-48 (ApoB-48)] ve değiştirilebilir (sulu çözeltilerde çözünen) apolipoproteinler (ApoA-I, ApoA-II, ApoA-IV, ApoC-I, ApoC-II) olmak üzere iki sınıfa ayrılabilir(24).

2.2.1.1. ApoA:

Bağırsak ve karaciğerden pro-apoA-I olarak sentezlenir, plazmada kemik morfogenetik protein 1 (BMP1) tarafından ApoA-I'e dönüştürülür. HDL'nin ana komponentidir. Şilomikron yüzeyinde yer alsa da hızla HDL'ye transfer olur. Karaciğerde ve bağırsakta ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı A1 transporter proteini (ABCA1: kolesterol akışını düzenleyici protein (CERP) olarak da bilinir) ile etkileşime girerek lipide edilir ve olgunlaşmamış(nascent) HDL'yi oluşturur. Serbest kolesterolün, lesitin kolesterol açiltransferaz (LCAT) enzimi aracılığı ester kolesterole dönüşümü ve HDL'ye sekestre edilmesiyle olgunlaşmamış HDL olgun HDL'ye (HDL2, HDL3) dönüşür. Bu işlem diskoidal HDL'nin küresel HDL partiküllerine dönüşmesini ve serbest kolesterol yüzeyden uzaklaştırıldığı için reaksiyonun tek yönlü olmasını sağlar. Olgun HDL partiküllerine, ABCG1 *(ATP Binding Cassette Subfamily G Member 1),* ABCG4 *(ATP Binding Cassette Subfamily G Member 4)* ve çöpçü *(scavenger)* reseptör B1 (SR-B1) ile etkileşime girdikten sonra köpük hücrelerinden kolesterol akışı sağlanır. Kolesterol yüklü olgun HDL, kolesterol esterlerini hepatik SR-B1 yoluyla karaciğere taşır. Plazmadaki ApoA-I konsantrasyonu yaklaşık 100-150 mg/dl'dir ve ApoA-I'in plazma yarı ömrü yaklaşık 4 gündür. ApoA-I, LCAT enziminin aktivatörüdür(25,26).

Plazma HDL Kolesterol (HDL-K) seviyeleri ile kardiyovasküler risk arasında güçlü bir ters ilişki bulunmaktadır. Ancak 52 ülke arasında yapılan INTERHEART vaka-kontrol çalışmasında araştırmacılar, ApoB/ApoA-I oranının KAH riskini tahmin etmede; total kolesterol (T-Kolesterol) ve HDL-K kullanımına kıyasla, popülasyona atfedilebilir en yüksek risk ve olasılık oranına sahip olduğunu göstermiştir(27).

2.2.1.2. ApoB

ApoB-100, bilinen en büyük monomerik proteinlerden biridir. Karaciğerde sentezlenir. VLDL, IDL ve LDL partiküllerinin yapısal proteinidir. Lipidden fakir durumlarda, ApoB-100, ubikitinasyon ve ısı şoku proteinlerini içeren proteozomal

bozunma (HSP70 ve HSP90) ya da nonproteozomal bozunma ve otofajiye uğrarken; lipid bolluğu koşullarında, ApoB-100, granüllü endoplazmik retikulumun (ER) lümenine yönlenir ve burada mikrozomal trigliserid transfer proteini (MTP) ile ApoB-100'e TG'ler eklenerek lipide edilir. Sonuçta pre-VLDL denilen primodial bir lipoprotein partikülü oluşur. Pre-VLDL, düz ER'de olgun VLDL partiküllerini (trigliseridden fakir VLDL2 ve trigliseridden zengin VLDL1) oluşturduktan sonra Golgi organeline taşınır ve daha sonra TG'leri iskelet kası, kalp ve yağ dokusuna taşımak için hücre dışı ortama salgılanır. Lipoprotein lipaz (LPL) aracılı TG hidrolizi ile VLDL IDL'ye dönüşür. IDL'nin kolesterol ve trigliserid içeriği eşittir. IDL'de kalan TG'ler de LPL veya hepatik lipazla hidroliz edildikten sonra oluşan lipoprotein kalıntıları LDLr veya LDL ile ilişkili protein 1 (LRP1) ile karaciğere alınır ya da LDL'ye dönüşür. ApoB-100 sadece LDL'nin LDLr'ye bağlanmasına aracılık ederek klerensini sağlar. VLDL ve IDL'nin reseptör aracılı klirensinde ise Apo-E görevlidir(26).

ApoB-48 ince bağırsakta sentezlenir, şilomikronların ana yapısal bileşenidir. ApoB'nin 2142 amino asitlik izoformudur. ApoB-100'ün %48'i büyüklüğündedir ve APOBEC1 (ApoB mRNA-editing enzyme 1) enzim kompleksi tarafından katalizlenen mRNA düzenlenmesi ile sentezlenir. Bu enzim 2.153'üncü pozisyondaki CAA kodonunu UAA dur kodonuna çevirerek ApoB'nin kesilmiş ApoB-48 izoformunu oluşturur(28).

2.2.1.3. ApoC

ApoC-II şilomikron, VLDL, IDL ve HDL partikülleri ile ilişkili 79 aminoasit içeren çözünür bir apolipoproteindir. ApoC-II, aktif enzim bölgesine TG girişini kolaylaştırarak lipolizi sağlayan temel bir LPL kofaktörüdür. Trigliserid metabolizmasının çok önemli bir düzenleyicisidir. ApoC-II endotelde LPL'i aktive ederek yağ asitlerini ve monogliseritleri şilomikronlardan serbest bırakarak yağ asitlerinin adipositlere veya kaslara geçişini sağlar(29).

Defektif ApoC-II üretimi, hipertrigliseridemi, ksantomlar ve artmış pankreatit ve erken ateroskleroz riski ile karakterize "Hiperlipoproteinemi tip IB'ye" neden olur. ApoC-II ve ApoA-V, LPL aktivitesini uyarırken, ApoC-III inhibitör etkilidir. ApoC-III, ApoE'yi lipoprotein yüzeyinden uzaklaştırarak ve hepatositlerde LDLr ve LRP1

ile etkileşime girmesini önleyerek karaciğere trigliseridden zengin lipoprotein kalıntılarının alımını inhibe eder(26).

2.2.1.4. ApoE

ApoE karaciğer ve beyinde üretilen 229 amino asitlik çözünebilir bir apolipoproteindir. Şilomikronlar, şilomikron kalıntıları, VLDL, IDL ve HDL'nin yapısında yer alır. LDLr, LRP1 ve VLDL reseptörlerine (VLDLr) yüksek afinite ile bağlanarak karaciğerde trigliseridden zengin lipoprotein kalıntılarının hepatik alımını destekler(30). ApoE'nin LDLr'ne afinitesi, ApoB-100'ünkinden yaklaşık 20 kat daha yüksektir; bu nedenle LDL parçacıklarına göre trigliseridden zengin lipoprotein parçacıkları daha hızlı temizlenir. Ailesel disbetalipoproteinemi, ApoE'deki bir defekt nedeniyle şilomikron ve VLDL kalıntılarının bozulmuş klerensinin sonucudur. Ailesel disbetalipoproteinemide, plazma T-Kolesterol ve TG seviyeleri artmış, plazma HDL-K seviyeleri azalmıştır. Ksantomlar ve erken başlangıçlı ASKVH görülebilir(31).

2.3. Kolesterol Transportu

Hücresel kolesterol seviyeleri hayvansal kaynaklı gıdalarla alınan ekzojen kolesterol ile de novo kolesterol biyosentezi arasında kurulan denge ile düzenlenir. De novo kolesterol sentezinin çoğunluğu karaciğerde gerçekleşmektedir. Kolesterol suda çözünmediğinden lipoprotein adı verilen transport aracıları ile karaciğerden perifere ya da tersine taşınır. Bunun için hücreler bir dizi farklı lipid transfer mekanizmalarına sahiptir. Bunlar reseptör aracılı endositoz , kolesterol akışı (efflux), lipoprotein partiküllerinden hücrelere seçici kolesterol ester transferi, esterleşmemiş kolesterolün lipoprotein partikülleri ve hücre membranı arasında reseptör aracısız transferi şeklinde sayılabilir(32).

2.4. Lipidlerin Periferik Dokulara Taşınımı

2.4.1. Ekzojen Yolak

Diyetteki lipidlerin dolaşıma katılmasındaki ana yol şilomikronlardır. Diyetle alınan trigliseridlerle ince bağırsak hücrelerinde sentezlenen ApoB-48 birleştirilerek şilomikron oluşur ve duktus torasikus yoluyla lenfatik dolaşıma katılır. ApoA-I, Apo A-IV ve ApoB-48 içeren şilomikron periferik dolaşıma geçtikten sonra HDL'den ApoE, ApoC-I, ApoC-II ve ApoCIII'ü yapısına alarak yağ doku ve iskelet kas

kapillerlerine ulaşır. Burada kofaktörü ApoC-II olan LPL enzimi aracılığı ile taşıdığı TG'ler yağ asitlerine hidrolize olur ve kas ve yağ dokuya taşınır (%80'i). ApoE'leri kendisinde kalırken ApoC'leri HDL'ye geri döner. Şilomikron kalıntıları(remnant) ise LDLr veya LRP ile reseptör aracılı endositoz yoluyla karaciğere alınır (%20'si). ApoE kalıntıların reseptöre bağlanmasında görevlidir. Hepatik lipaz da karaciğere kalıntıların alınmasında rol alır. Karaciğerde ya yapıtaşı olarak kullanılır ya da safraya sekrete edilirler. Yağlı bir diyetin ardından 12 saat içerisinde şilomikronlar dolaşımdan temizlenmiş olur(33,34).

2.4.2. Endojen yolak

Yemek sonrası dönemde karbonhidrat fazlasından karaciğer tarafından sentezlenen lipidler karaciğerde sentezlenen VLDL tarafından periferik dokulara taşınır. Karaciğerde TG'ler ve kolesterol esterleri ER'de ApoB-100'e aktarılır. Bu transfere MTP aracılık eder. VLDL sentez hızını TG'lerin mevcudiyeti belirler. VLDL ApoB-100 ile dolaşımda HDL'den aldığı ApoC-I, C-II, C-III ve ApoE'yi içermektedir. ApoC-II'nin kofaktörü olduğu LPL ile TG'leri hidrolize olur, boyutu küçülür, daha yoğun hale gelir ve ApoC'lerini HDL'ye transfer ederek IDL'ye; sonrasında ApoB-100 haricindeki diğer apoproteinlerini de HDL'ye aktararak LDL'ye dönüşür. LDL, VLDL metabolizmasının bir ürünüdür. Majör lipid komponenti ester kolesterol olan LDL'nin temel işlevi periferik dokulara kolesterol sağlamaktır. LDL'nin %30'u ekstrahepatik dokular tarafından, %70'i de karaciğer tarafından dolaşımdan uzaklaştırılır(35).

2.5. LDL Metabolizması

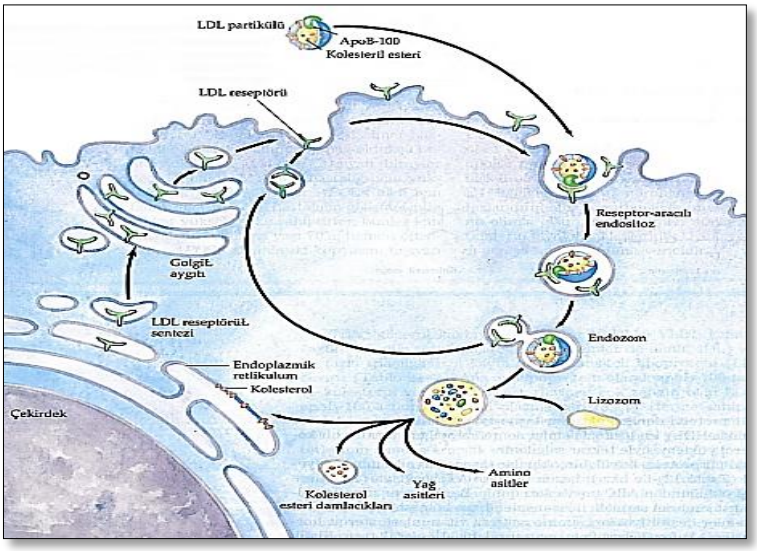
LDL'nin içeriği %21 protein, %11 trigliserid, %22 fosfolipid, %37 kolesterol ester, %8 serbest kolesterol ve %1 serbest yağ asitlerinden oluşmaktadır. Vücuttaki toplam kolesterolün %70'i LDL'de bulunmaktadır.

Hepatik LDLr'leri plazma LDL-K düzeylerinin ayarlanmasında temel görevi üstlenmektedir. LDLr miktarı ise hepatositin kolesterol içeriğine göre ayarlanır. Hücrenin kolesterol içeriği düştüğünde LDLr ile kolesterol ve yağ asitlerinin regülasyonundan sorumlu olan genlerin transkripsiyonunun düzenlenmesinden sorumlu transkripsiyon faktörü olarak çalışan ve inaktif halde olan sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinler (SREBP: *sterol regulatory element-binding protein*) hızla

ER'den Golgi aygıtına hareket ederler. Burada aktive olmak için proteazlar tarafından kesime uğrarlar. SCAP (*SREBP cleavage-activating protein)* adlı membran proteini SREBP1c''lerin ER'den Golgi aygıtına transportunda görev alır. SREBP'in "*basic-helix-loop-helix-leucine zipper*" (bHLH-Zip) domaini ikinci ayrışmada nükleusa geçerek ekspresyonu düzenler(36). Aksi durumda SREBP'ler inaktive halde kalır ve LDLr sentezi artmaz. Ayrıca fazla kolesterol hücre içinde okside hale gelir ve bir transkripsiyon faktörü olan nükleer hormon reseptörü LXR'yi (*Liver X Receptor*) aktive eder. Aktive olan LXR, E3 ubikuitin ligazın transkripsiyonunu arttırarak LDLr'nün ubikitinasyon ve degradasyonuna yol açar. Son olarak PCSK9 proteini de LDLr'ne bağlanarak lizozomda degradasyonunu arttırmak suretiyle hücre içine LDL-K girişini sınırlar(37–39). *LDLR* transkripsiyonu hücre içi sterol konsantrasyon değişikliğine ve hücre içi gereksinime cevaben SREBP-2 tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Ayrıca klasik düzenleyicilere ek olarak özellikle miR-148a mikro RNA'sı SREBP1c'yi transkripsiyonel olarak aktive ederek *LDLR* aktivitesini doğrudan kontrol eder(40).

2.5.1. LDL Transportu

LDL ApoB-100'ü tanıyan LDLr'ne bağlanır. Reseptörler klatrin proteini ile kaplı invajinasyonlarda (coated pit) yer alır. Reseptör-ligand kompleksi endositozla hücre içine alınır. Endozom kolesterol ve yağ asitlerini sitoplazmaya salan ve kolesterol esterlerini hidrolize eden lizozomla kaynaşır. LDLr yıkımdan kaçarak hücre yüzeyine dönerken, ApoB-100 amino asitlerine parçalanarak sitozole salınır. LDLr ve ApoB-100'ün klatrin kaplı oyuklarda yerleşmesi için ARH proteinine ihtiyaç vardır. ApoB-100 VLDL'nin yapısında da yer alır ancak reseptöre bağlanamaz. Ancak VLDL LDL'ye dönüştüğünde reseptöre bağlanacak bölgesi açığa çıkar ve endositoz gerçekleşir. Hücreye giren kolesterol ya zar yapısında kullanılır ya da asetil-CoA açil transferaz (ACAT) enzimi aracılığı ile tekrar kolesterol esterleri haline dönüşerek lipid damlacıkları halinde depolanır. LDLr ApoE'ye bağlanarak VLDL ve şilomikronların da hepatositler tarafından alınmasını sağlar ancak LRP gibi farklı bir destek reseptörü ile de karaciğer hücresi içine girebilmektedir(33).



Şekil 4 *LDL transportu. Lehninger Biyokimya kitabından alıntıdır.*

2.5.2. LDL ve Ateroskleroz

Yüksek konsantrasyonlarındaki LDL partiküllerine maruziyet arteriyel duvardan penetransın artmasına, ekstraselüler matrikste tutulumla kronik ve inflamatuar bir sürecin başlamasınave sonuçta ateroskleroza neden olabilmektedir. ApoB-100' ün özellikle 3,359–3,362 rezidülerindeki amino asitler arteriyel intimadaki proteoglikanlara bağlanarak aterogenezin başlamasına neden olur. Burada hapsolmuş LDL partikülleri plazmanın antioksidan etkisinden yararlanamaz ve ApoB-100'ün lizin rezidüleri ile fosfolipidler okside olur. Bu durum CCL2 (monocyte chemoattractant protein-1), ICAM1 (intercellular adhesion molecule 1), VCAM1 (vascular cell adhesion protein1) ve endotel hücre yüzeyindeki E-selektin gibi lökosit adezyon moleküllerinin bölgeye göç etmesine neden olan lökosit kemoatraktanlarının artışına yol açar. Dolaşımdaki monositler de intimal alana geçerek yüzeylerinde SR-B1 eksprese eden makrofajlara dönüşür. Bu reseptörle okside LDL'nin makrofajlara alımıyla köpük hücreleri oluşur. Enflamatuvar aşamanın hızla ilerlemesiyle düz kas hücreleri de media tabakasından intimaya hareket eder, prolifere olur ve aterosklerotik plakların fibröz matriksini oluşturan kolajen, elastin ve proteoglikanlar gibi hücre dışı matriks makromoleküllerinin artan sentezi ile ektrasellüler matriksi üretirler(41–43).

2.6. Lipidlerin Geri Taşınması

Steroid hormon sentezleyen hücreler glukokortikoid, östrojen, testosteron gibi steroid hormonların sentezinde kolesterolü kullanabilir ya da bağırsak hücreleri, sebositler, keratinositler kolesterolü lümene ya da deri yüzeyine sekrete ederek elimine

edebilirler. Ancak hücrelerin çoğunun kolesterolü katabolize edecek bir mekanizması yoktur bu nedenle kolesterol eliminasyonu için ters kolesterol transport mekanizmasını kullanırlar(35).

Periferik dokulardan ve arteriyel plak oluşumlarından kolesterolün karaciğere geri taşınmasını sağlayan lipoprotein HDL'dir. Matür HDL oluşumunda ilk aşama karaciğer ve ince bağırsakta sentezlenen ya da şilomikron, VLDL, HDL kalıntılarında yer alan ApoA-I'in HDL yapısına katılmasıdır. Yeni sentezlenen ApoA-I'e (pre-beta ApoA-I) hücrelerden kolesterol ve TG akışı hepatosit, enterosit ve makrofajlar gibi pek çok hücrede bulunan ABCA1 ile kolaylaştırılır. ABCG1 ise hücrelerden matür HDL'ye kolesterol akışı sağlar. Plazma membranından pasif difüzyonla da HDL'ye kolesterol akışı olabilmektedir. Hücrede kolesterol seviyeleri arttığında oksisteroller artarak bir nükleer hormon transkriptör faktörü olan LXR'i aktive ederek *ABCA1* ve *ABCG1* gen transkripsiyonunu arttırır. *ABCA1* fonksiyon kaybı mutasyonları ApoA-I' in hızlı katabolizmasına ve lipidasyon bozukluğuna bağlı düşük HDL düzeylerine neden olan "Tangier Hastalığına" yol açar. HDL başlangıçta karaciğer ve ince bağırsaktan kolesterol ve fosfolipid partiküllerini toplasa da kas hücreleri, adipoz doku ve diğer dokulardan da lipid partiküllerini alır. LPL enzimi kullanılarak şilomikron ve VLDL lipolizi ile de HDL lipide olur. Ayrıca fosfolipid transfer protein (PLTP) fosfolipidlerin lipoproteinler arasında transferinde görevlidir(44–46).

2.6.1. HDL Kolesterol Esterifikasyonu

Matür sferik HDL-K partiküllerinin oluşması için hücrelerden HDL yüzeyine transfer olan serbest kolesterolün, LCAT enzimi ile fosfolipidlerden alınan bir molekül yağ asidinin serbest kolesterole transferi suretiyle esterifiye edilmesi ve HDL merkezine yerleşmesi gerekir. ApoA-I, LCAT'nin aktivatörüdür. Böylece HDL3 HDL2'ye dönüşür. LCAT eksikliğinde HDL-K ve ApoA-I düzeyleri düşerken küçük HDL partikülleri artar.

2.6.2. Ters kolesterol transportu

HDL'nin merkezinde yer alan kolesterol esterleri ApoB içeren lipoprotein partiküllerine (VLDL, LDL) transfer olabilir. Kolesterol ester transfer proteininin (CETP) aracılık ettiği bir yolla HDL'nin bünyesinde yer alan ester kolesterol transfer olunca HDL TG'lerden zengin hale gelir. CETP aktivite eksikliği yüksek HDL-K düzeyleri ve büyük HDL partiküllerine, yokluğu LDL-K düzeylerinde düşüklüğe yol

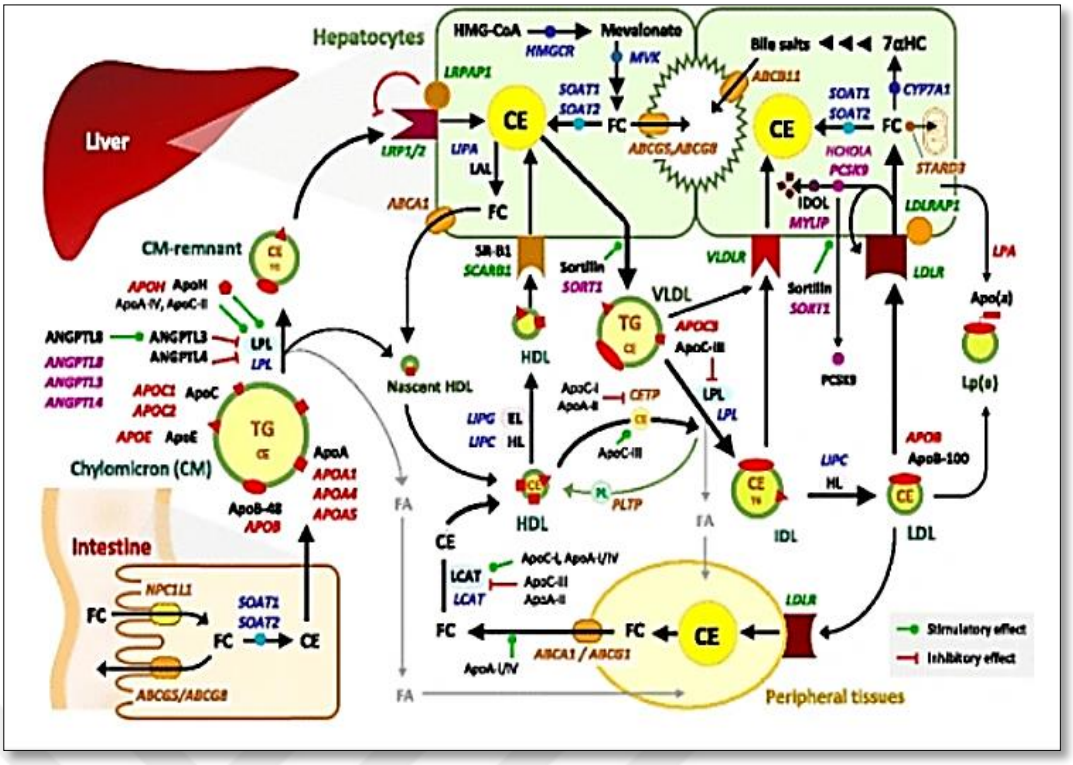
açar. Ayrıca HDL'nin taşıdığı kolesterol selektif olarak SR-B1 aracılığı ile karaciğer tarafından alınır. Bu geçiş LDL den farklı olarak partikülün içeri alınımı olmadan gerçekleşir. HDL-K seviyelerindeki artışa rağmen SR-BI eksikliği olanlarda ateroskleroz riski artmaktadır. Farelerde CETP bulunmadığından tüm mekanizma SR-B1 üzerinden gerçekleşir oysa insanlarda CETP üzerinden ApoB zengin lipoproteinlere transfer gerçekleştiği için SR-BI eksikliğinin insanlardaki etkisi farelerdeki kadar net olarak açığa kavuşturulamamıştır.

HDL partikülleri içerdikleri ApoE ile de hepatosit tarafından da alınır ve degrade edilir.

Sonuç olarak kolesterol HDL'ye transfer edildikten sonra karaciğer tarafından alınması için 2 yol vardır. Ya SR-B1 reseptörleri ile selektif olarak HLD'deki kolesterol alınır ya da CETP ile ApoB içeren lipoproteinlere transfer edilerek karaciğere taşınır. Sonrasında ise yine LXR'nin ekspresyonunu arttırdığı ABCG5 ve ABCG8 gen ürünlerinin aracılık ettiği yollarla safraya salgılanır(45).

Lipid metabolizması karmaşık moleküler yolakların etkileşimini gerektiren kompleks bir mekanizmadır. Dört gendeki (*LDLR, APOB, PCSK9* ve *LDLRAP1*) mutasyonlar, AH'li (AH) vakaların çoğundan sorumlu olmakla birlikte, poligenik bir kalıtımı düşündürecek şekilde hiperkolesterolemili yetişkinlerin önemli bir kısmında bu dört genin hiçbirinde mutasyon bulunamayabilir.

Lipid metabolizmasında yer alan yaklaşık 80 genin (lipoproteinlerin yapısal bileşenlerini, lipoprotein reseptörlerini ve ilgili proteinleri, enzimleri, lipid taşıyıcıları, lipid transfer proteinlerini ve aktivatörleri veya protein fonksiyonu ve gen transkripsiyon inhibitörlerini kodlayan) genom çapında ilişkilendirme çalışmalarında (GWAS) ve aday gen çalışmalarında hiperkolesterolemi ve serum lipid özellikleri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Şekilde bu karmaşık yolak ve ilişkili genler yer almaktadır(47).



Şekil 5 *Kolesterol/lipoprotein metabolizması yolakları ve ilgili genler. CS Paththinige ve ark. (47) makalesinden alıntıdır.* Yeşil renk: Lipoprotein reseptörlerini ve reseptörle ilişkili/ilişkili proteinleri kodlayan genler. Mavi renk: Lipid/lipoprotein metabolizmasında enzimatik işlevi olan proteinleri kodlayan genler. Kahverengi renk: Lipid taşıyıcıları ve lipid transfer proteinlerini kodlayan genler. Mor renk Lipid homeostazında düzenleyici işlevi olan proteinleri kodlayan genler.

2.7. Hiperlipidemiler

Hiperlipidemi, plazmada bulunan kolesterol (LDL, VLDL, IDL) ve TG düzeylerinin beklenen normal değerlerden yüksek olması anlamına gelir. Dislipidemi ise lipoproteinlerin işlevsel bozukluğu nedeniyle lipoprotein konsantrasyonlarının normal aralıklarının dışına çıkması sonucunda görülen tablolardır. Bu ifadeler bazen birbirlerinin yerine kullanılmaktadır. Hiperlipidemiden farklı olarak, dislipidemilerde plazma lipoproteinleri dolaşımda istenenden az düzeylerde de olabilir. Kolesterol yüksekliği, TG yüksekliği ve HDL-K düşüklüğü, dislipidemili bir hastada ayrı ayrı ya da birlikte görülebilir. Etiyolojik olarak değerlendirildiğinde ise dislipidemiler primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır. Primer (ya da ailesel) dislipidemiler genetik kökenli hastalıklar zemininde gelişen lipoprotein metabolizma bozuklukları olarak sınıflandırılırken, sistemik bir hastalığa veya ilaç kullanımına bağlı olarak gelişen dislipidemiler sekonder dislipidemiler olarak tanımlanır(48,49).

Dislipidemili hastaların tedavi planı tablonun primer ya da sekonder ayrımına göre değişebildiğinden bu ayrımın yapılması önemlidir. Hipertrigliserideminin

sekonder nedenleri diyabet, hipotiroidizm, yüksek karbonhidratlı diyet, böbrek yetmezliği, obezite/insulin direnci, östrojenler, β blokerler, steroidler ve retinoidler; hiperkolesteroleminin sekonder nedenleri hipotiroidi, kolestatik karaciğer hastalığı, nefrotik sendrom, tiazidler; kombine kolesterol ve trigliserid artışının sekonder nedenleri ise diyabet , hipotiroidi, steroidler, immunsupresifler, proteaz inhibitörleri, nefrotik sendrom ile lipodistrofiler şeklinde sıralanabilir(50).

Lipoprotein metabolizmasında yer alan enzim veya reseptörlerin kalıtımsal defektleri nedeniyle, lipoproteinlerin aşırı üretimi veya dolaşımdan temizlenememesi Ailesel Dislipidemilerin patogenezinden sorumludur. Ailesel dislipidemilerin sınıflandırılmasında, lipidlerin elektroforez veya ultrasantrifügasyonundaki dağılım özelliklerine göre düzenlenmiş ve sonrasında Dünya Sağlık Örgütü'nce (WHO) de kabul görmüş Fredrickson sınıflandırması kullanılmaktadır. Ancak bu sınıflandırmada Lp(a) bulunmamaktadır(49,51).

Lipoprotein, kolesterol ve trigliserid kan düzeyleri göz önünde bulundurularak yapılan Frederickson sınıflandırmasına göre hiperlipidemiler I, IIa, IIb, III, IV ve V olarak gruplandırılırken; biyokimyasal olarak hiperkolesterolemi (IIa), kombine hiperlipiderni (lIb, III, IV) ve hipertriglisemi (I, V) olarak sınıflanabilir.

Ailesel dislipidemilerin alt tiplerinin görülme sıklıkları birbirinden farklıdır. Tüm ailesel dislipidemiler değerlendirildiğinde toplumda görülme sıklıkları %5-8'dir. Bunlar arasında en sık görülenlerden biri olan AH'nin heterozigot formudur ve toplumdaki sıklığı 1/200 ile 1/500 arasında değişir.

Toplumda sık görülmesi, genelde asemptomatik seyretmesi, kolay ve ucuz tarama testlerinin olması ve erken tanı ile tedavi edilerek kardiyovasküler risklerin düşürülebilmesi nedeniyle dislipideminin rutin taranması gereken bir hastalık olduğu söylenebilir(52).

2021 Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMD) Dislipidemi Tanı ve Tedavi Kılavuzunun önerilerine göre dislipidemi tarama sıklığı;

<u>Asemptomatik, ASKVH veya ASKVH risk faktörü bulunmayan kişiler için</u>

- Yirmi yaşında itibaren 5 yılda bir
- Kırk yaşından itibaren 2 yılda bir
- Elli yaşından itibaren (veya menopoz sonrası) kadınlarda 2 yılda bir

- Altmış beş yaşından itibaren yılda bir olmalıdır.

Yıllık olarak dislipidemi taranması gereken hastalıklar ve risk faktörleri ise şu şekilde sıralanmıştır:

- ASKVH düşündüren klinik bulgular
- Tip1 veya tip2 DM
- Birinci derece yakınlarında erken yaş (erkeklerde<55, kadınlarda<65) ASKVH
- Birinci derece yakınlarında dislipidemi öyküsü
- Hipertansiyon (gebelik hipertansiyonu dahil)
- Obezite
- Sigara kullanımı
- Kronik böbrek hastalığı (hesaplanmış glomerüler filtrasyon hızı<60 ml/dk)
- Kronik enflamatuvar hastalıklar (romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, psoriasis vb.)
- Genetik dislipidemilere ait klinik bulgular (ksantom, ksantalezma, arkus kornea vb.)
- HIV enfeksiyonu

Arterlerin inflamatuar bir hastalığı olan ateroskleroz, global ölümlerin başlıca nedeni arasında yer alan KVH'ların etyolojisinin altında yatan temel patolojidir. Dislipidemi ise ateroskleroz patogenezinde önlenebilir bir risk faktörü olarak yer almaktadır. Hiperkolesterolemi, dislipideminin en yaygın şekli olup artmış KVH riski ile ilişkilidir. Plazma LDL-kolesterol seviyelerindeki yükseklikler, 1990'da ölüm için önde gelen risk faktöründe 15. sırada iken, 2007'de 11. ve 2019'da 8. sıraya yükselmiştir(53).

2008 yılı WHO verilerine göre yetişkinlerdeki hiperkolesterolemi prevalansı %53,7 ile Avrupa ve %47,7 ile Amerika 'da en yüksek oranda bulunmaktadır(54,55).

Tablo 1 *Fredrickson sınıflaması.* *TEMD Dislipidemi Tanı ve Tedavi Kılavuzun'dan alınmıştır (2021). Uyarlama: Fredrickson DS. An international classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. Ann Intern Med. 1971;75(3):471-472*

Sınıflandırma (Yüksek lipoproteinler)	Primer dislipidemiler (Sıklığı)	Genetik bozukluk (Kalıtımı)	Laboratuvar özellikleri	Klinik Tablo
Tip I (ŞM)	LPL eksikliği (1:1,000,000)	LPL gen defekti (OR)	TG >1000 mg/dL, (Bazı olgularda ≈10,000 mg/dL)	Eriüptif Ksantomlar Lipemi retinalis Pankreatit
	Apo C2 eksikliği (1:1,000,000)	Apo CII gen defekti (OR)	Parsiyel tablolarda TG >500 mg/dL	
Tip IIa (LDL)	Poligenik Hiperkolesterolemi (1:20)	Multipl genetik defektler (Kalıtım, var olan genetik defekte göredir)	LDL-K>130 mg/dL	ASKVH riski
	Heterozigot AH (1:500)	LDLR disfonksiyonu veya yokluğu (OD)	LDL-K>190 mg/dL	Prematür ASKVH riski Tendon Ksantomları
	Homozigot AH (1:1,000,000)		LDL-K>350 mg/dL, Genellikle 500-1000 mg/dL	
Tip IIb (LDL, VLDL)	Familial Kombine Hiperlipidemi (1:50- 1:200)	Çeşitli Apolipoproteinlere ve/veya LPL genine ait multipl genetik defektler	LDL-K >160 mg/dL TG >300 mg/dL	ASKVH riski
Tip III (IDL)	Familyal disbetalipoproteinemi (1:1000-1:5000)	Apo E gen defekti (OR, Nadiren OD)	Total-K >300 mg/dL, TG > 300 mg/dL, HDL-K < 40-50 mg/dL	Prematür ASKVH riski Palmar Ksantomlar Dirsek ve dizlerde tuberoeruptif ksantomlar
Tip IV (VLDL)	Familyal Hipertrigliseridemi (1:50-1:100)	Genetik defekt bilinmez (OD)	TG > 150 mg/dl	Pankreatit
Tip V (VLDL, ŞM)	Çok nadir	Genetik defekt bilinmez, Muhtemelen bir LPL inhibitörüne bağlı (Kalıtım bilinmez)	TG >1000 mg/dl	Pankreatit

2.8. Monogenik Hiperkolesterolemiler

LDLR geni, 1970'lerde tanımlanan AH'nin otozomal dominant kalıtılan formundan sorumlu olan gendir(56). 1980'lerde aynı fenotipten sorumlu ve protein ürünü LDLr proteinin ligandı olarak çalışan *APOB* geni bulunmuştur. *APOB* geninin patojenik varyantları "Ailesel defektif apoprotein B-100" olarak adlandırılan fenotipten sorumludur(57). Otozomal resesif AH ile ilişkilendirilen *ARH (LDLRAP1)* geni, 1973'lerde Khachadurian ve Uthman tarafından ilk kez tanımlanmıştır(58). AH'nin bu formunda mutasyonu heterozigot taşıyan hastaların lipid düzeyleri normal popülasyonla benzer iken homozigot taşıyanların kolesterol düzeyleri klasik AH'nin heterozigot ve homozigot formunun değerleri arasında yer alır(59). Bir diğer resesif hiperkolesterolemik durum yine 1970'ler de tanımlanan, *ABCG5* ve *ABCG8* genlerindeki patojenik değişimlerden kaynaklanan Sitosterolemia'dır. Bu fenotipin

diğerlerinden farkı ise sitosterol gibi bitkisel sterollerin plazma düzeylerinde yükseklik görülmesidir(60). Son olarak da otozomal dominant kalıtılan ve NARC-I (neural apoptosis regulated convertase) proteinini kodlayan *PCSK9* geni "Otozomal dominant AH-3" ile ilişkilendirmiştir(61). Tüm bu genlerin içinde en çok çalışılan ve AH fenotipinin büyük kısmından sorumlu olan genler *LDLR* ve *APOB*'dir.

2.9. Ailesel Hiperkolesterolemi

AH, yaşam boyu yüksek LDL-K (low-density lipoprotein cholesterol) düzeylerine neden olan en yaygın kalıtsal KVH sebebidir.

2.9.1. Tarihçe

İlk kez 1930'ların sonlarında Norveçli klinisyen Carl Müller'in tendinöz ksantomlar ve hiperkolesterolemiyle KVH'ları ilişkilendirdiği yayınında yer almıştır. 1963'de Khachadurian, Lübnan'daki FH hastalarında homozigot ailesel hiperkolesterolemi (HoAH) ve heterozigot ailesel hiperkolesterolemi (HeAH) fenotipini ve kalıtım modelini tanımlamış, 1973'te Goldstein ve Brown, LDLr'yi karakterize etmiştir(62). Kolesterol ve yağ asidi metabolizmasının mekanizması ve düzenlenmesi ile ilgili keşifleri için 1964'de Konrad Bloch ve Feodor Lynen, kolesterol metabolizmasının düzenlenmesi ile ilgili keşifleri için 1985'de Goldstein ve Brown Nobel ödülünü almıştır(63). 1983'te Russell ve meslektaşları, *LDLR* genini klonlamış (64) ve sonrasında Dr. Müller bu hasta grubunda nedensel ve profilaktik tedavinin fayda sağlayacağını öne sürmüştür(59,65–67).

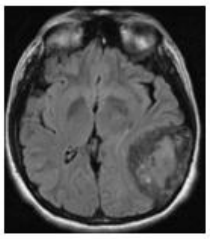
2.9.2. Epidemiyoloji

Hastalığın heterozigot formunun prevalansı, etnik gruplar ve kapalı toplumlarda değişmekle birlikte tahmini 1/220 ile oldukça sık iken; homozigot formu 1:160,000 - 1:250,000 arasındaki sıklıkta daha nadir görülmektedir(68). Ancak gerçek prevalansın çok daha yüksek olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır ve bazı popülasyonlarda AH'nin yüksek sıklığı kurucu etkiye (founder effect) dayandırılmaktadır(62). Örneğin Lübnan'da yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ülkede homozigot AH 1:100,000 gibi bir sıklıkta bulunmuş ve "Lübnan alleli'' olarak tanımlanan bir mutasyonun sık görüldüğü vurgulanarak bu durumun gerek kurucu etki gerekse de akraba evliliği oranının sıklığından kaynaklandığı belirtilmiştir(69,70). Yine Güney Afrikalı Afrikaner'larda ekzon 4'ün 3' ucundaki bir nokta mutasyonu ''FH Afrikaner-1'' olarak

adlandırılır ve mutasyonların %65'ini oluşturur. Güney Afrikalı Yahudiler'de ise ''FH-Piscataway'' olarak adlandırılan *LDLR* geninin ekzon 4'ünde 3 baz çifti (bç) silinmesi ile oluşan mutasyon en sık görülen mutasyon olarak karşımıza çıkmaktadır(71,72).

Pek çoğunun tanısı konmamış Amerika Birleşik Devletleri'nde 1 milyonun, dünya genelinde 25 milyonun üzerinde AH'li olgu olduğu düşünülmektedir(73). İngiltere'de AH'li kişilerin %85'inden fazlasının hastalığa sahip ve erken kalp hastalığı riski altında olduklarının farkında olmadıkları belirtilmektedir. Bu nedenle erken teşhis ve tedavinin önemi vurgulanmaktadır(74).

2.9.3. Klinik Özellikleri



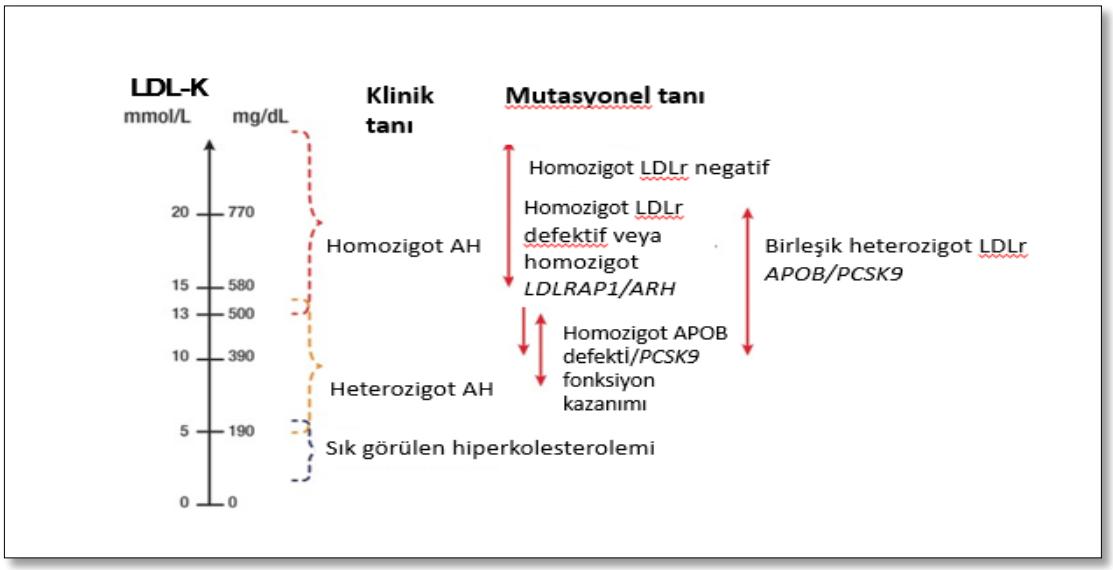
Homozigot ailesel hiperkolesterolemiyi komplike eden büyük bir intrakraniyal kolesterol granülomunun MRG'si.Gordon ve ark.(2005)

Çocuklarda LDL-K düzeylerinin >160 mg/dL(>3.4 mmol/L) ya da T-Kolesterolün>230 mg/dL(>6 mmol/L); erişkinlerde ise LDL-K düzeylerinin >190 mg/dL(>4.9 mmol/L) ya da T-Kolesterolün>310 mg/dL(>8 mmol/L) olması, KAH veya diğer KVH öyküsü olması, fizik muayenede kutanöz veya tüberoz ksantomlar (göz kapaklarının etrafında, dirseklerin, ellerin, dizlerin ve ayakların tendonlarında), arkus kornea gibi lipid birikimine ait bulguların görülmesi ya da ailede erken KAH ve/veya KVH öyküsü bulunması bu hastalıktan şüphelenilmesi için yeterlidir(75). Homozigot AH'li hastalarda 4 yaş civarında görülen kutanöz ksantomlar hastalık için patogonomiktir(76). Tendon ve eklemlerdeki kolesterol birikimleri eklem ağrıları ve tendinite neden olabilir ve cerrahi müdahale gerektirebilir. Beyinde, mediastende ve kalça kaslarında dev ektopik kolesterol ksantomaları olan çok nadir vaka bildirimleri de bulunmaktadır(77). Bu durumun serebrotendinöz ksantomatozis ile ayrıcı tanısı HoAH hastalarının nörolojik ,kognitif ve oftalmolojik semptomlarının bulunmayışı ile yapılabilir(78). Çok yüksek kan lipid düzeylerinin yarattığı hipervizkozite sonucu paresteziler, dispne ve konfüzyon gibi sistemik etkiler de görülebilir(48). Poligenik hiperkolesterolemi olgularında klinik olarak tendon ksantomlarının görülmesi beklenmez(79).

2.9.4. Tanı

AH'nin klinik tanısında sıklıkla Amerika Birleşik Devletleri kaynaklı 'Erken Ölümden Korunmak İçin Erken Teşhis Koy' (Make Early Diagnosis to Prevent Early Death-MED- PED), Birleşik Krallık kaynaklı "UK Simon Broome" ve Hollanda kaynaklı "Dutch Lipid Clinic" kriterleri gibi tanı kriterleri yer almaktadır(5). Genotiplenmiş hastalardan geliştirilmiş olan Hollanda kriterleri, genetik testlerle doğrulanan tek kriter grubunu içermektedir. Evrensel olarak en iyi yaklaşım olarak kabul edilmiş bir tanı kriter grubu bulunmamaktadır. AH'nin tanısında kullanılabilen kriterlerle birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları tablo 2'de yer almaktadır(80).

Tarihsel olarak HoAH'de LDL-K seviyelerinin tedavisiz dönemde >500 mg/dL olduğu, tedavi ile de >300 mg/dL civarında seyrettiği belirtilmektedir. Günümüzde çoklu LDL-K düşürücü tedavi ajanlarının kullanımı ile bu değerlerin 150 mg/dL'ye kadar düşürülebildiği bilinmektedir(81). Genel olarak bir aile içinde LDL-K düzeyleri etkilenmemiş aile üyeleri ile kıyaslandığında HeAH'li bireylerde 2 kat, HoAH'li bireylerde ise yaklaşık 4 kat yüksektir. Bununla birlikte yetişkinlerden daha düşük LDL-K düzeylerine sahip çocuklara bağlı olarak LDL-K düzeylerinde her iki tip AH hastalarında örtüşme de görülebilir(82).Hollanda'dan yapılan bir değerlendirmede HoAH tanılı çocukların %50'sinin LDL-K düzeylerinin 216-379 mg/dL aralığında seyrettiği bildirilmektedir (Wiegman).



Şekil 6 *Genel olarak genotipe göre ortalama LDL-K değerlerindeki artış. Marina Cuchel ve ark.(83) makalesinden alıntıdır (2014).*

HoAH fenotipindeki değişkenlikten, yaygın tek nükleotid polimorfizmleri, gen-gen ve gen-çevre etkileşimleri ve Mendel dışı ve epigenetik etkiler sorumlu olabileceği belirtilmektedir(83).

Tablo 2 *AH tanı kriterlerinin karşılaştırılması. Tomlinson ve ark. makalesinden alıntıdır(80).*

KRİTERLER	**DLCN**	**SIMON BROOME DİYAGNOSTİK KRİTERLERİ**	**MEDPED KRİTERLERİ**	**JAPON AH KRİTERLERİ**
Prematür KVH veya yüksek kolesterol aile hikayesi	✓	✓	✓	✓
KVH Hikayesi	✓	×	×	×
Fiziksel muayene bulguları veya semptomlar (Tendon ksantomları)	✓	✓	×	✓
LDL-K düzeyleri(mmol/L)	8,5 (8 puan) 6,5-8,4 (5 puan) 5-6,4 (3 puan) 4-4,9 (1 puan)	Erişkin >4,9 Çocuk> 4	Yaş ve AH hikayesine dayanan spesifik düzeyler	HeAH için: Erişkin>4,7 Çocuk>3,6 HoAH için: Total Kolesterol >15,5 mol/L
DNA analizi	✓ (isteğe bağlı)	✓ (isteğe bağlı)	×	×
Muhtemel tanı	Kesin Olası Muhtemel Muhtemel olmayan	Kesin Muhtemel	AH ile birlikte	AH ile birlikte
Avantajları	Kriterler ağırlıklandırılmış Spesifitesi MEDPED'den yüksek	Spesifitesi MEDPED'den yüksek	Sensitivite DLCNC' den yüksek	Japon toplumu için yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip
Dezavantajları	Çocuklara uygulanamaz sensitivite MEDPED'den düşük	sensitivite MEDPED'den düşük	Spesifitesi DLCN ve S. Broome diyagnostik kriterlerinden düşük	

2.9.5. Ailesel Hiperkolesterolemi'nin Genetiği

LDL-K işlevlerinde etkili olan genler LDL reseptör protein (*LDLR)*, apolipoprotein B (APOB), pro-protein konvertaz subtili- sin/keksin 9 (*PCSK9*) veya LDL-R adaptör protein 1 (*LDLRAP1*) genleridir(84). Kromozom 1, 2 ve 19'da yer almaktadırlar.

AH hastalığına neden olan patojenik varyantlar, klinik olarak AH teşhisi konmuş yetişkin probandların ~%60-80'inde, pediatrik probandların ~%60-95'inde saptanabilmektedir(68). Klinik olarak AH tanısı alan hastaların % 50'sinin *LDLR*, *APOB* ve *PCSK9* genleri açısından negatif olması AH'nin poligenik doğasının

göstergesi olarak düşünülmektedir(85). En sık varyant *LDLR* (>%95) geninde görülürken onu *APOB* (%2–5), *PCSK9* (%<1) ve *LDLRAP1* (%<1) izlemektedir(83).

Heterozigot *LDLR* varyantına (özellikle kısmi fonksiyon kaybı varyantlarına) sahip bireylerin yalnızca %73'ünün LDL-K> 130 mg/dL olduğunu belirten çalışmalar, penetransın daha önce bildirilenden düşük olduğunu göstermektedir(86). *PCSK9* geni için patojenik p.Ser127Arg değişiminin penetransının heterozigotlarda ~%90 olduğu, p.Asp374Tyr değişiminin ise yüksek penetrans gösterdiği bildirilmiştir(87,88).

2.9.5.1 LDLR geni:

LDLR geni 45 kilobazlık (kb) DNA'ya, 5.3 kb'lık mRNA'ya sahip, 18 ekzon içeren bir gendir. Kromozomun 19p13.2 bölgesine yerleşik, 890 amino asitlik, 160 kD'luk LDLr'nü kodlayan gen(89) 1367 aktif polimorfizme sahiptir(90). mRNA'sının yarısını 3'UTR bölgesi oluşturur ve ALU ailesinden 3 kopya içerir. *LDLR*'nin ekzon karıştırma (shuffling) yöntemiyle oluştuğunu düşündürecek şekilde ekzonlarının çoğu diğer genlerin ekzonları ile evrimsel bir geçmişe sahiptir. Altı farklı işlevsel bölgesi bulunmaktadır:

a) Sinyal bölgesi (Ekzon 1): Ekzon 1, 21 amino asitlik sinyal dizisini kodlar. Bu dizi ER'e translokasyonu sırasında proteinden ayrılır(91).

b) Ligand bağlayan domain (Ekzon 2-6): Kırk amino asitlik parçaların 7 kez tekrarlarını içerir. Üç, dört ve beşinci tekrarlar hariç her tekrar kodlanması tek bir ekzondan gerçekleşir. Her tekrar 3 adet tekrar içi disülfit bağı içeren 6 sistein rezidüsüne sahiptir. Her tekrarın karboksil ucunda ApoB-100 ve ApoE'ye bağlanmada görevli Ser-Asp-Glu tripleti yer alır(92).

c) EGF benzeri domain (Ekzon 7-14): LDLr'ndeki amino asitlerin yarısı insan EGF prekürsör proteinin 400 amino asitlik kısmıyla homoloji gösterir. Bu 8 ekzon tarafından kodlanan bölge iki gende de toplamda 5 ekzon-intron bileşkesinde birebir aynıdır ki bu da bu ekzonların genler arasında blok halinde transfer edilen bir kaset olarak kopyalanmış olduğunu göstermektedir. LDL'nin hücrelere bağlanması için, lipoproteinlerin aside bağlı ayrışması için, reseptörün bozunmadan tekrar kullanımı için ve ligand bağlama alanının konumlandırılması için bu bölge gereklidir.

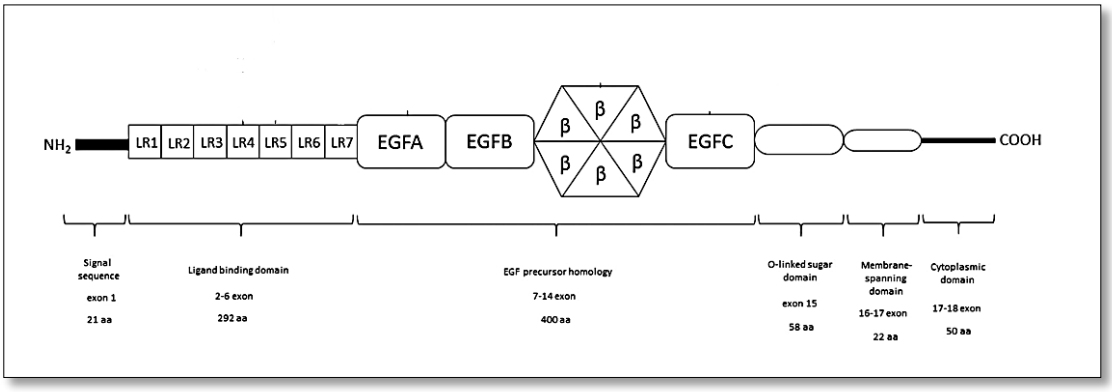
d) Karbonhidrattan zengin bölge (Ekzon 15): Onsekizi serin ve treoninden oluşan 48 amino asitlik domaindir. O-bağlı karbonhidrat zincirleri için bağlanma bölgesidir. O-bağlı karbonhidrat zincirlerinin silinmesinin transfekte hamster fibroblast kültürlerinde reseptör fonksiyonunu bozmadığı bildirilmiştir(93).

e) Transmembran bağlanma domaini (Ekzon 16 ve ekzon 17'nin 5'ucu): Membrana yayılma alanıdır ve 22 adet hidrofobik amino asit içerir.

f) Sitoplazmik domain (Ekzon 17'nin kalan kısmı ve ekzon 18'in 5'ucu): Endositoz sırasında kaplanmış çukurlarda reseptörü lokalize etmek için gerekli 50 amino asitlik domaindir. Ekzon 18'in kalan dizisi ise 3' UTR bölgesidir(76).

LOVD3 platformu verilerine göre 2017 yılı itibariyle 2925 varyant, *LOVD3* platformundaki (http://www.lovd.nl/LDLR) UCL *LDLR* varyant veri tabanına eklenmiştir. Bu analize göre promoter(n=37), intronik bölge(n=181), sinonim değişimler(n=34), nonsense değişimler(n=129), missense değişimler(n=795), büyük yeniden düzenlenmeler(>100 bç (base pair))(n=118), küçük çerçeve kayması yeniden düzenlenmeler(<100 bç)(n=337), küçük çerçeve kayması yaratmayan yeniden düzenlenmeler(<100 bç)(n=76) şeklindedir. Varyantların %81'i (n=800 class 4 ve n=585 class 5) ve %12'si non-patojenik (n=26 class 1 ve n=184 class 2), %7'si (n=112) klinik önemi bilinmeyendir (VUS). En sık gözlenen mutasyon missense değişimlerdir; %76'sı muhtemel patojenik, %15'i net olarak veya muhtemelen patojenik değil, %9'u ise VUS varyanttır. Bu varyantların ancak %9 kadarının in vitro fonksiyonel çalışması bulunmaktadır, kalan varyantlar in silico tahminlerle yapılmış ve in silico tahminler ve iv vitro fonksiyonel çalışmaların sonuçları da karşılaştırıldığında %86'lık bir konkordans oranı elde edilmiştir (patojenisite sınıflandırması ACGS kılavuzlarına göre yapılmıştır)(94).

2021 yılı Human Gene Mutation veri tabanı verilerine göre ise 2100 *LDLR* ve 250 *APOB* patojenik varyantı bildirilmektedir. *LDLR* geni için spesifik mutasyonel hotspot bölge belirtilemez çünkü bildirilen varyantlar genin promotorundan itibaren son ekzonuna kadar tüm gen boyunca dağılmıştır. Patojenik varyantlar daha çok ligand bağlayıcı ve EGF prekürsör homoloji domainde yer almaktadır(95).



Şekil 7 *LDLr domainleri. Human Mutation, Volume: 40, Issue: 8, Pages: 1181-1190, First published: 20 May 2019, DOI: (10.1002/humu.23801)*

LDL reseptör mutasyonları LDLr siklusunun farklı aşamalarını etkilediğinden mutant proteinin fenotipik davranışına göre 5 kategoriye ayrılır:

Sınıf 1: Null allellerin neden olduğu sentez değişiklikleri, herhangi bir reseptör sentezi yoktur.

Sınıf 2: ER'de sentezlenen proteinin uygun olmayan üç boyutlu yapısı nedeniyle Golgi ya da plazma membranına defektif transportu ve ER'de komplet (2A: ER'den hücre yüzeyine taşınması engellenir) veya parsiyel (2B: ER'den hücre yüzeyine taşınım gecikir) tutulumu (transport edilemeyen alleller).

Sınıf 3: ApoB'ye yetersiz bağlanma. LDLr, ApoB-100 veya LDLr'deki bir kusur nedeniyle LDL'yi hücre yüzeyine düzgün bir şekilde bağlamaz. Bağlayıcı ligand domainindeki tekrarlayan sistein kalıntılarındaki yeniden düzenlemeler veya EGF benzeri domaindeki tekrarlayan delesyonlar nedeniyle LDL bağlanma aktivitesi normalin %2 ila %30'udur.

Sınıf 4: Endositozun bozulması. LDL'nin klatrin kaplı çukurlara alınamaması. Bu mutasyonlar reseptörün karboksi ucundaki sitoplazmik birimi değiştirir veya yok eder. LDL'ye bağlı LDLr, reseptör aracılı endositoz için klatrin kaplı çukurlarda düzgün bir şekilde kümelenmez.

Sınıf 5: Geri dönüşüm mekanizmasındaki bozukluk. Reseptörün lizozomda parçalanması için endozomlardan LDL salınımının bozulması (geri dönüştürülemeyen alleller).

Sınıf 6: Bazolateral membran hedeflenmesinde bozukluk. Reseptörün stoplazmik birimini arama sinyalini bozan değişimler normalde bazolateral yüzeyde

bulunması gereken reseptörün yanlış olarak hepatositlerin apikal yüzeyine yönlenmesine neden olur(37,96).

Sınıf 1 mutasyonlar sıklıkla nonsense, kırpılma bölgesi, ekzonik del/dup'lar ve çerçeve kayması değişimleridir. Sınıf 2-6 missense ve çerçeve içi indel değişimleridir ve genellikle daha hafif bir klinikle seyreden reseptör defektif mutasyonlardır(97).

Fibroblast kültürlerinden yapılmış çalışmalara dayanarak, klinik olarak HoAH'li hastalar reseptör negatif (%2 kalıntı aktivite) veya reseptör kusurlu (%2-25 kalıntı aktivite) olarak sınıflandırılabilir(76).

2.9.5.2. APOB geni:

ApoB lipoprotein metabolizmasında önemli bir rolü olan büyük bir proteindir. Kromozom 2'de lokalize olan *APOB* geninin ApoB-100 ve ApoB-48 olmak üzere iki ürünü bulunur. *APOB* geni 29 ekzon içermektedir ve 7572 bç'lik ekzon 26 en büyük ekzonudur ve neredeyse proteinin %50 si bu ekzondan kodlanır.

İyi bilinen dört görevi vardır**:** a)Karaciğerde trigliseridden zengin lipoproteinlerin sentez, birleşme ve sekresyonu için gereklidir. b)VLDL ve LDL'nin yapısal bileşenidir. c)Aterosklerotik plaklar içindeki LDL'nin arter duvarındaki heparin ve çeşitli proteoglikanlara bağlanmasında yer alır. d)LDLr'yle etkileşerek plazmadan temizlenmesinde görev alır(99).

APOB'nin transkripsiyonu -150 ila +124'te yer alan promotörü tarafından düzenlenir. Promotörü karaciğere özgü düzenleyici bölge (-899. ila -5262. bç ve intron 2'deki bir enhancer ile) veya intestinal enhancer (56 kb yukarı akışta olan bir 315-bç dizisi) bölge ile birlikte çalışır(98).

ApoB-100 tam uzunluktaki proteinidir ve karaciğerde sentezlenir, ApoB-48 ise ApoB-100'ün amino terminalinin %48'lik kısmı ile aynıdır ve ince bağırsakta üretilir(100).

ApoB-48 üretimi genin 14,5 kb'lık mRNA'sı üzerinde meydana gelen bir posttranskripsiyonel düzenleme ile düzenlenir. Bir RNA spesifik sistidin deaminaz olan APOB mRNA düzenleyici enzim katalitik kompleks mRNA'nın 6666. bazına

bağlanarak buradaki sitozin bazını urasile çevirir ve 2153. glutamin (CAA) kodonunu terminasyon kodonuna (UAA) dönüştürür(101).

ApoB-100'ün 5 yapısal domaini bulunur:

ApoB-100 (550 kDa) veya ApoB-48 (265 kDa) oluşturmak üzere kesime uğrayan 24-27 amino asitlik bir sinyal peptid dizisi,

NH_2-βα_1-β_1-α_2-β_2-α_3-COOH şeklinde düzenlenmiş amfipatik α-heliksler ve β-tabaka domainleri. İlk 1000 amino asitlik globüler β_1 domaini MTP'nin ApoB'nin düzenlenmesi sırasında bağlandığı domaindir. İlk iki domain ApoB-48'i oluşturur. β1- ve β2-domainleri lipoproteinin lipid çekirdeği ile geri dönüşümsüz bağlanırken; α1- ve α2-domainleri geri dönüşümlü lipid bağlanma özelliği gösterir(102).

ApoB'nin karboksi-terminal kısmında 3359-3369. kalıntılarında LDLr bağlanma alanı yer alır. Bu bölge LDL'lerin arter duvarı proteoglikanlarına olan afiniteleriyle bağlantılı olarak ApoB-100'deki ana proteoglikan bağlama dizisi olarak tanımlanmıştır ve ApoB içeren LDL'lerin aterojenisitesinden sorumlu alandır. ApoB-48 de bu alan yoktur ancak 84-94 bölgesinin bir proteoglikan bağlanma bölgesi olduğu ve aterogenezde rol oynadığına dair bilgiler mevcuttur(103).

LDLr'ne bağlanma için gerekli olan ApoB-100 yapısını oluşturmada, Arg-3500 ve Trp-4369 amino asit kalıntıları arasındaki konformasyonel değişiklikler önemlidir(104).

ApoB içeren lipoprotein üretimi için iki aşamalı bir model bulunur. Yeni oluşan ApoB eğer lipid içermeyen MTP ile etkileşirse retrograd translokasyonla ER lümeninden sitozole salınır ve bozunur. Yeni oluşan ApoB MTP-lipid kompleksleri ile birleştiğinde ise, bir VLDL öncüsü oluşur. Olgun VLDL ise VLDL öncüsünün trigliserid açısından zengin bir lipid damlacığı ile füzyonu sonucunda meydana gelmektedir(100).

APOB genindeki mutasyonlar iki tip fenotipten sorumludur. Bunlar "Ailesel Hipobetalipoproteinemi" (FHBL; OMIM 107730) ve "Ailesel Ligand-defektif apoprotein B-100'dür" (FDB; OMIM 107730).

APOB genindeki prematür kesilmiş(truncated) ApoB formlarının oluşumuna yol açan mutasyonlar "Ailesel hipobetalipoproteinemiye" neden olurken; ApoB'nin LDL-

reseptör bağlama alanını etkileyen genetik varyantlar “Ailesel Ligand-defektif apoprotein B-100” fenotipinden sorumludur(100). ApoB-75’ten daha kısa kesilmiş ApoB içeren lipoproteinler böbrek proksimal tübül hücrelerinde bulunan megalin /gp330 reseptörleri aracılığı ile böbrekten çok hızlı bir şekilde atılır (105).

En sık görülen *APOB* varyantı Arg3500Gln’dir ve “Ailesel defektif hiperkolesterolemi” ile ilişkilidir. ApoB’nin kesilmiş izoformlarına yol açan anlamsız(nonsense) ve çerçeve kayması oluşturan mutasyonları ise otozomal kodominant kalıtılan “Ailesel Hipobetalipoproteinemiye” neden olur. Bu izoformlar genellikle fonksiyonel değildir, lipidasyon ve sekresyon bozukluğuna yol açarlar ve hızla katabolize olurlar. Bu hastalarda plazma ApoB <5 persentil altındadır, hepatik steatoz ve karaciğer sirozu kliniğine neden olur. Homozigot veya bileşik heterozigot olan vakalarda çok ciddi ölçülemeyecek kadar düşük LDL-K düzeyleri vardır ve “Abetalipoproteinemiyi” taklit eder(106,107).

APOB mutasyonları eksik penetrasyon gösterir ve *APOB* mutasyonları olan bireyler, *LDLR* mutasyonları olan AH hastalarından daha az şiddetli bir fenotip gösterebilir(108).

2.9.5.3. PCSK9 geni:

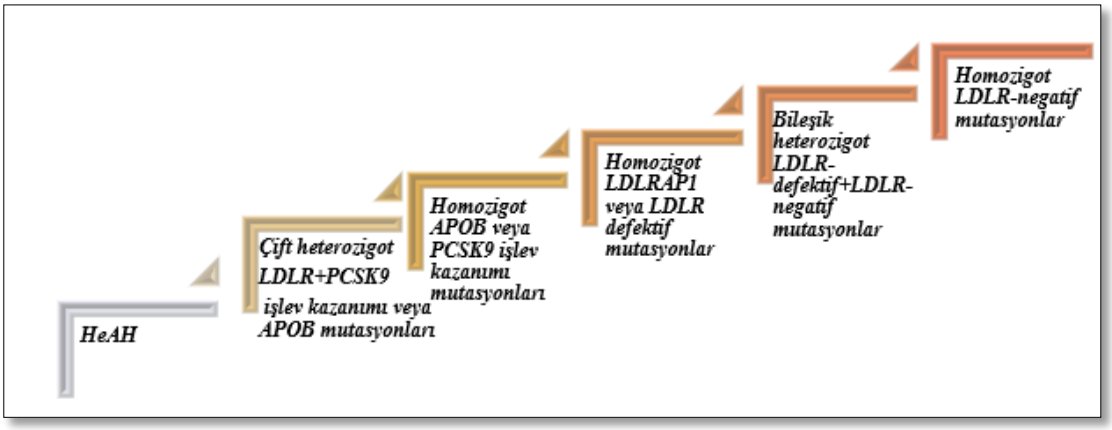
PCSK9 bir serin proteazdır. Hepatik ve ekstrahepatik dokularda LDLr miktarını azaltarak LDL-K seviyelerini yükseltir. *PCSK9* geni 1p32 kromozomal lokalizasyonunda yer alır ve 12 ekzon içerir; 3,617 nükleotidlik transkripti 692 amino asitlik NARC1 (neural apoptosis-regulated convertase 1) proteinini kodlar. Yoğun olarak karaciğer, ince bağırsak ve böbrekte eksprese edilir. N- terminal sinyal peptid, prodomain, subtilisin-like katalitik domain ve C-terminal domaininden oluşur. PCSK9, LDLr’nin EGF-A bölgesi ile kompleks halinde etkileşim içindedir. PCSK9’un C-terminal ucu kofaktör bağlanmasını sağlarken, subtilisin-like katalitik domain ve pro domaini sırasıyla LDLr’nün EGF-A ve β- propeller domainleri ile etkileşime girer. Bu nedenle PCSK9 LDLr geri dönüşümü için gerekli konformasyonel yeniden düzenlemelere etki eder(109). Katalitik domainindeki Arg194 ve Phe379 bu etkileşimde kritik rol oynar ve bu rezidülerdeki mutasyonlar %90 oranında PCSK9 bağlanmasını bozar(61,110). *PCSK9* geninin işlev kazanımı mutasyonları ise LDLr sayısını düşürerek hiperkolesterolemiye neden olmaktadır (fare karaciğerinden yapılan çalışmalarla da gösterilmiştir). PCSK9'un subtilisin benzeri katalitik alanının

yüzeyinde yer alan Asp-374 Tyr değişimi PCSK9'un LDLr afinitesini arttırarak LDL-K yüksekliğine neden olur(111). Tersine 128 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada iki anlamsız (nonsense) mutasyonun Y142X ve C679X işlev kaybına yol açarak düşük LDL-K düzeylerine neden olduğu bulunmuştur. R46L değişimiyle ise KKH'na karşı dikkate değer derecede koruma gözlenmiştir(112). Bu iki değişim plazma LDL-K seviyelerinde %40'a yakın bir düşüş sağlamıştır. Bu iki varyant özellikle Afrikan Amerikanlar'da sıktır(113). c.381T>A(p.Ser127Arg) ve p.Asp374Tyr patojenik varyantlarının penetransı özellikle yüksektir (%90)(87,88). Y142X ve ΔR97 bileşik heterozigotluğunda , son derece düşük plazma LDL-K seviyeleri görülür ve dolaşımda saptanabilir PCSK9 olmaması ile tanımlanmıştır(114). AH kliniği ile ilişkili *PCSK9* geninin heterozigot ve biallelik işlev kazanım varyasyonları %98 oranında sekans analizi ile tespit edilebilmektedir. Literatürde tüm gen duplikasyonun da ciddi AH fenotipine neden olduğu iki aile de bildirilmiştir(115).

2.9.5.4. LDRRAP1 geni:

Otozomal resesif hiperkolesterolemi (ARH) ilk zamanlarda HoAH'nin otozomal resesif bir formu olarak anılsa da (psödo-HoAH) 2001'de Dallas grubu ve İtalyan araştırmacıların çalışmalarıyla hastalıkla ilişkili *ARH* geni (sonrasında *LDLRAP1* geni olarak adlandırılan) 1. kromozomda haritalandırılmıştır. 1p36.11'de lokalize 25 kb'lık, 9 ekzon içeren bir gendir. LDLR adaptör proteinini (308 amino asitlik) kodlar. Kırk amino asitlik korunmuş N-terminal başlangıcını 130 amino asitlik fosfotirozin bağlayan domaini (LDL reseptör kuyruğuna ve fosfotidil inozitol 4,5-bifosfatla membrana bağlanır), 212-217 amino asitleri arasında LLDLE domainini (LDLr'nün klatrin kaplı çukurlara alınması veya tutulması için), AP-2 bağlayıcı domainini (hücre yüzeyindeki klatrin kaplı yapılara lokalizasyonu için) ve C-terminal PDZ-bağlayıcı domainini içerir. ARH proteinin PTB (fosfotirozin bağlayan) domainleri, LDLr'nin sitoplazmik kuyruğundaki NPXY dizisine bağlanır ve LDLr-LDL kompleksinin endositik alınımı için gereklidir. LDLr'nin PTB alanlarını içeren diğer proteinleri de bağladığı in vitro olarak gösterilmiştir(116,117).

ARH'nin İtalya'nın Sardunya adasında kurucu etkilere bağlı olarak taşıyıcılığı 1:143'e kadar çıksa da prevalansı $1{:}5\times 10^{6}$'dır. İtalya dışında Lübnan, Amerika, İran, Hindistan, Suriye, İspanya ve Türkiye'den de vakalar bildirilmiştir(118).



Şekil 8 *Genotipe göre ortalama LDL-K değerlerindeki artış. Marina Cuchel ve ark.'nın makalesinden yararlanılarak oluşturulmuştur (2014)(119).*

2.9.6. Ailesel Hiperkolesterolemi Tanısında Tarama ve Genetik Testler

Uluslararası Ailevi Hiperkolesterolemi Cemiyeti önerilerine göre AH'nin tanısı 18 yaşından önce, homozigot olgular için ise 2 yaşında konmuş olmalıdır, çünkü 2 yaşında sekonder hiperlipidemiler daha az görülür, kolesterol düzeyleri sabitlenir ve diyet başlanabilir. Bu nedenlerle 2 yaş tanı için ideal bir yaştır.

Tarama üç şekilde yapılabilir: Herhangi bir kritere göre ayrılmadan bireylerin tamamının taranması şeklinde olan genel tarama, aile hikayesi olan bireylerin taranması şeklinde olan seçici tarama ve aile bireylerinin taranması şeklinde olan kademeli (kaskad) taramadır(120).

Aileden bir kişide AH tespit edilmesi durumunda aile taraması gerekir ve bu şekildeki aile taramasına kademeli (kademeli) tarama denir(8). Tarama, kolesterol düzeyi, genetik analiz veya her ikisi birlikte kullanılarak yapılabilir(9).

Ulusal ve uluslararası kuruluşlar tarafından tavsiye edilen AH için kademeli tarama oldukça etkilidir. Klinik ve halk sağlığı programlarına entegrasyonu destekleyen sistematik incelemelere dayandırarak, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri, kademeli taramayı kanıta dayalı önerilerle birlikte kademeli genomik bir uygulama olarak sınıflandırmaktadır ve AH'nin genetik test ve yönetimine ilişkin kılavuzların yakın tarihli bir sistematik incelemesinde de çoğu kılavuzun, kademeli tarama için DNA testinin kullanılmasını önerdiği bilinmektedir(10,11).

Genetik test, KVH riskini önemli ölçüde azaltabilecek hızlı tedaviye başlamayı sağlayacak kesin teşhisler sunarken, homozigot AH'si olanlar için daha agresif

terapötik müdahale gerektiğinden, hasta bakımını yönlendirebilen homozigot ve heterozigot AH'nin ayrımında önemlidir(10).

NICE kılavuzu (The National Institute for Health and Care Excellence), AH'li ebeveynlerin çocuklarının 10 yaşına gelmeden önce veya en erken fırsatta test edilmesi gerektiğini belirtmektedir. AH için klinik kriterleri karşılayan kişilerin, tanılarını doğrulamak için DNA testi için uzman bir servise yönlendirilmesini ve AH tanısı alan kişilerin etkilenen akrabalarını tanımlamak için kademeli testlerinin (DNA testi kullanılarak) yapılmasını önermektedir. Böylelikle özellikle çocukların genç yaşta teşhis edilmesiyle yaşam boyu riskleri azaltılabilmektedir(7). Kanada kılavuzları da NICE kılavuzları gibi kademeli genetik testleri taramada önermektedir(121).

Farklı kesitsel çalışmalarla da gösterildiği gibi J.W.Balder ve ark.'nın yaptığı çalışmada da lipid dağılımlarının yaşla birlikte değiştiği bilinmektedir(122,123). Çalışmada ergenlerde 11-16 yaş civarında kolesterol seviyelerinde belirgin bir düşüş görüldüğünden, bu yaşlarda AH tanısı için sabit bir LDL-K seviyesinin kullanılmasının yanlış tanıya neden olabileceği, ailede hiperkolesterolemi veya erken KVH varlığı nedeniyle AH'den klinik olarak şüphelenilmesi durumunda, genetik testin tanı için daha elverişli olabileceği ve yaşa ve cinsiyete özgü LDL-K eşik değerlerini kullanmanın AH tanısında daha uygun olduğu belirtilmiştir(124).

1994 -2014 yılları arasında Hollanda'da, Hollanda Sağlık Bakanlığı finansmanı ile AH için bir kademeli tarama programı yürütülmüştür. 2004 yılından itibaren bu programda genetik saha çalışanları (GFW) denen özel eğitimli hemşireler gerek telefon ve e-posta gerekse de ev ziyaretleri ile hastalara ulaşarak hastalara kademeli genetik testler ve hastalıkla ilgili hem danışma vermişler hem de tetkiklerini yürütmüşler ve merkezi bir veri tabanında hasta verilerini toplamışlardır. Bu süreçte 5000 pedigriden 60000 olgu programa dahil olmuş bunların 28000'ine genetik olarak AH tanısı konmuştur. Kademeli tarama programı dahilinde ulaşılan aile bireylerinin yaşam kaliteleri etkilenmemiş, depresif belirtiler göstermemişlerdir ve kademeli tarama kapsamında ulaşılan aile bireylerinin sadece %5'i olumsuz yaklaşım sergilemiştir. 2014'te program sonlandırıldıktan sonra yeni düzenleme ile bölgesel bir AH hemşiresine nezaret eden bir doktor tarafından tarama, danışmanlık ve tedavi yürütülmeye başlanmıştır. Buradaki fark aile üyelerinin artık GFW'ler tarafından aktif olarak takip edilmiyor olmasıdır. Aile üyeleri, indeks hasta tarafından AH için test

edilme olasılığı hakkında bilgilendirilmiş ve ardından AH vaka bulma kuruluşuyla iletişime geçmeleri istenmiştir. Sonuçlar oldukça dikkat çekicidir. Bu durum tespit edilen AH hastalarının sayısının yılda 4000'den 500'ün altına keskin bir şekilde düşmesine yol açmıştır. Bu yeni yaklaşımda indeks hastaların aile üyelerini genetik test konusunda bilgilendirme konusunda yetersiz kaldığı görülmektedir(125,126).

2.9.7. Takip ve Tedavi

Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) ve Avrupa Ateroskleroz Derneği (EAS) kılavuzları AH hastaları ASKVH'ler açısından yüksek risk altında olduğundan hastalarda LDL-K'nin <100 mg/dL tutulması, eğer ASKVH varsa LDL-K'i referans değerin %50 altında, tercihen <55 mg/dL'de tutulmasını önermektedir. Maksimal tolere edilebilen statin+ezetimib tedavisine rağmen hedef değerlere ulaşılamadıysa PCSK9 inhibitörlerinin tedaviye eklenmesi önerilmektedir(127).

Statin grubu ilaç tedavisi serum PCSK9 düzeylerinin artışına neden olduğundan PCSK9 monoklonal antikorlarının (alirocumab ve evolocumab) hem tek başına hem de statin grubu ilaç ve/veya diğer lipid düşürücü tedavilerle kombinasyonunun LDL-K düzeylerini doza bağımlı olarak ortalama %60 oranında düşürdüğü gösterilmiştir(52).

Mipomersen ApoB-100 mRNA'sına bağlanıp selektif degredasyonuna neden olarak translasyonunu önleyen bir antisense oligonükleotiddir (ASO). Subkutan enjeksiyonla kullanılır. FDA (Food and Drug Administration) onayı bulunan ilacın EMA (European Medicines Agency) onayı karaciğer transaminaz yüksekliği ve hepatik steatoz üzerindeki uzun vadeli etkilere ilişkin endişeler nedeniyle reddedilmiştir. HoAH'de kullanımı endikedir, ciddi HeAH ve statin grubu ilaç tolere edilemeyen hastalarda değerlendirmeler devam etmektedir(128).

HoAH 'de önerilen yaşamın ilk yılından veya tanı konduğu andan itibaren ezetimibe ve diğer lipid modifiye edici terapilerle birlikte statin grubu ilaç tedavisine başlanmasıdır. Ancak çoğu zaman bu tedavinin yeterli olmaması nedeniyle lipid aferezi 8 yaşından geç olmamak kaydıyla 5 yaş civarında başlanmalıdır(83).

Bempedoik asit adenozin trifosfat liyaz (ACL) inhibitörüdür. Hepatik ACL inhibisyonu intraselüler kolesterolün düşüşüne ve LDLr'nin upregulasyonuyla LDL-K klirensinin artmasını sağlar. FDA ve EMA düzenleyici onayı almıştır.

Yeni geliştirilen ilaçlar arasında bulunan PCSK9 inhibitörü olan uzun etkili sentetik siRNA (small interfering ribonucleic acid) Inclisiran, ANGPTL3'ne (Angiopoietin-like protein 3) karşı bir monoklonal antikor olan Evinacumab ve hepatik ApoC-III mRNA'nın azaltılması yoluyla etkili olan Gemcabene ise FDA'in yetim ilaç (orphan drug) listesinde yer almaktadır(129).

AH'nin genetik tedavisini hedefleyen ilk yaklaşımlar 1990'da retrovirüslerin ex vivo transdüksiyonu ile başlamış, 1995'te in vivo adenoviral ve helper-dependent adenoviral transdüksiyon çalışmaları ile devam etmiştir. Tiroksin-bağlayıcı globulin (TBG) promotör (AAV8.TBG.mLDLR) vektörleriyle gerçekleştirilen ilk Faz1/2a klinik çalışması 2016 mart ayından itibaren devam etmektedir(NCT02651675)(130). Ayrıca, genom düzenleme için CRISPR/Cas9 (clustered regularly interspaced palindromic repeats /Cas9) teknolojisi *LDLR* genindeki spesifik mutasyonları düzeltmeye yönelik bir kapı açmıştır. Bu teknolojiyi kullanarak Omer ve ark.'ları, *LDLR* ekson 4'te 3 bç'lik homozigot delesyonu bulunan bir HoAH hastasının cilt fibroblastlarından türetilen indüklenmiş pluripotent kök hücrelerde (iPSC: induced pluripotent stem cells) değişimi kalıcı olarak düzeltmeyi sağlamışlardır. Öncesinde %5 reseptör aktivitesine yol açan bu varyantın genom düzenlenmesiyle düzeltilmiş iPSC'lerden türetilen hepatosit benzeri hücrelerde *LDLR* ekspresyonunu ve reseptör aracılı LDL endositozu ve kolesterolün metabolizmasını göstermişlerdir. Ancak bu teknolojinin gerçek bir terapötik seçenek olarak kullanılmasının önünde aşılması gereken off-target etkiler ya da potansiyel tümörogenez riski gibi problemler yer almaktadır(131).

2.9.8. Türkiye'de Ailesel Hiperkolesterolemi

2020 yılında, Amerikan Tabipler Birliği Dergisi'nde (JAMA) yayımlanan "Ailevi Hiperkolesterolemi'nin Klinik ve Kamu Sağlığı Yükünü Azaltma Global eylem çağrısı'' doğrultusunda; AH bakımı için ülkeye özel devlet desteğini, ülkeye özel ve uluslararası AH bilimsel beyanları ve kılavuzlarını, AH kayıtlarını ve dünya çapında bilinen AH kuruluşlarını listeleyen tablolar oluşturulmuştur. Orijinal WHO 1998 tavsiyelerini gözden geçirmek ve AH ile ilgili küresel politika değişikliğini

yönlendirmek için uluslararası bir topluluk olarak çalışmak üzere aralarında Türkiye'nin de olduğu 23 katılımcı ülke arasından Türkiye'deki AH bakımı, araştırma, ödeyen yapısının düzenlenmesi ve eğitim desteği için devlet finansmanı uygulamaları aşağıda sıralanmıştır.

• Lipid düşürücü tedavilerin geri ödenmesi yapılmaktadır: statinler, ezetimib

• PCSK9 inhibitörü (evolocumab) sadece homozigot AH için geri ödenir.

• LDL aferezi yaygın olarak bulunur ve AH ve yüksek lipoprotein(a) için tamamen geri ödenir.

• Akademik merkezlerde bilimsel amaçlar için genetik testler mevcuttur.

• İlk lipid kliniği 1994 yılında ailesel dislipidemilerin tedavisi için ***İzmir'de*** kurulmuştur.

• Türk Kardiyoloji Derneği çatısı altında 2015 yılında Ulusal AH bilinçlendirme ve tedavi programı yürütülmektedir.

• Ulusal AH kayıtları (A-HIT'ler)

  • A-HIT1: Lipid aferez alan HoAH hasta kayıtları (19 merkez)

  • A-HIT2: HeAH'li hastaların kaydı (1071 hasta, 30 merkez; bu merkezler ailesel dislipidemiler için bir lipid ağı haline geliyor)

  • A-HIT3: AH kayıtlı erken MI olgularının (2000 hasta, 50 merkez) çalışmaları yapılmaktadır.

• Çocuklar için evrensel kolesterol taraması zorunlu değildir; ancak Sağlık Bakanlığı şunları önermektedir:

  • Yüksek riskli çocuklarda yaşamın ilk yılında LDL-K düzeylerinin taranması

  • Diğer tüm hastalar için LDL-K ölçümü 2-7 yaşlarında veya ergenlikte yapılması(132).

2016 yılında Türkiye'de okul çağındaki çocuklarda ulusal lipid tarama programı başlatılmıştır. Program kapsamında 5 ila 18 yaş arasındaki tüm çocuklar aile hekimleri tarafından risk faktörleri (aile öyküsü ve obezite, diabetes mellitus, hipertansiyon, sigara) ve lipid profili açısından incelenir. Risk faktörleri olan ile birlikte LDL-K≥160mg/dL (4,9mmol/L) olan veya LDL-K≥190mg/dL (4,1mmol/L) olan çocuklar AH tanısı için değerlendirilmek üzere metabolizma bölümlerine sevk edilir. Ek olarak, ebeveynleri AH teşhisi konmuş olan çocukların AH için değerlendirilme sınırı LDL-K≥130mg/dL (3,4mmol/L)'dir(133,134).

T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Çocuk ve Ergen Sağlığı Dairesi Başkanlığı tarafından hazırlanmış bebek, çocuk ve ergen izlem protokolleri kapsamında hiperlipidemi taramasının iki yaşından itibaren risk altındaki tüm çocuklara uygulanması önerilir(135).

2005 yılında Sözen ve ark.'nın 36 hastanın *LDLR* gen değişimlerini floresan kapiller SSCP-heteroduplex metodu ve ardından yapılan dizileme analizleri ile değerlendirdikleri çalışmaları sonucunda en sık W556R varyantı görülmüş ve ciddi bir klinik fenotiple ilişkilendirilmiştir. EGF prekürsör homoloji domaininde yer almaktadır ve bu bölge mutasyonları transport ve geri dönüşüm defekti ile ilişkilidir(5).

Türkyılmaz ve ark.'nın 2021 yılında 104 indeks klinik AH tanılı hasta üzerinde yaptıkları çalışmada *LDLR* gen değişimleri sanger sekanslama ile araştırılmış ve %52,8'lik bir mutasyon saptama oranına ulaşılmıştır. Prematür terminasyon kodonu oluşturan varyasyonların oluşturmayanlara kıyasla LDL-K ve T-Kolesterol düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur(136).

2019 yılında, Batı Avrupa dışındaki hastalarda Avrupa Kardiyoloji Derneği/Avrupa Ateroskleroz Derneği'nin uluslararası kolesterol yönetimi uygulama kesitsel gözlemsel çalışmasına Türkiye'den Kayıkçıoğlu ve ark.'nın yaptığı çalışmada, Dutch lipid kriterlerine göre AH tanısı alan 53 hastanın 37'sinde %69,8'lik genetik tanı oranı elde edildiği bildirilmiştir(137).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışma için 10.2018- 06.2021 tarihleri arasında Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı; Çocuk Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı ve Çocuk Genetik Bilim Dalları'nda takip edilen, klinik olarak primer dislipidemi ön tanısı olan ve genetik etyolojileri araştırılmak üzere Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na yönlendirilmiş 0-70 yaş arası çocuk ve erişkinlerden oluşan olgu grubunun hasta dosyaları ve probel kayıtları geriye dönük incelenerek, genetik tetkikleri tamamlanmış olgular ve aile üyeleri çalışmaya alındı. Çocuklarda LDL-K düzeyleri >160 mg/dL(>3.4 mmol/L) ya da total kolesterolün >230 mg/dL(>6 mmol/L); erişkinkerde LDL-K düzeyleri >190 mg/dL(>4.9 mmol/L) ya da total kolesterolün >310 mg/dL(>8 mmol/L) olan hastalar ve kendisinde ya da ailesinde erken yaş ASKVH hikayesi ve hiperkolesterolemi öyküsü olan veya ksantom, ksantalezma gibi AH fenotipini düşündüren klinik semptomları olan olgular ile kademeli genetik tarama kapsamında moleküler test çalışılan olgular çalışmaya dahil edildi. Türk kökenli 37 indeks, 19 akraba olmak üzere toplamda 56 olgu çalışmaya alındı. Hiperkolesteroleminin sekonder nedenleri, indeks vakalarda dışlandı. Tüm çalışma katılımcılarının bilgilendirilmiş onam formları bulunmaktadır.

3.2. Verilerin Toplanması

Seçilen hastaların yaş, cinsiyet, semptom ve bulguların, mevcut tedavileri, biyokimyasal değerleri (LDL-K, T-Kolesterol, HDL, TG), kardiyolojik muayene verileri (EKG (elektrokardiyografi), EKO (ekokardiyografi) vs.), özgeçmiş ve soy geçmiş bilgileri ile genetik tetkik sonuçları arşiv dosyalarından ve probel HBYS sisteminden tarandı. Toplanan bilgiler veri-kayıt formuna işlendi ve elde edilen verilerden genotip ve fenotip özelliklerini içeren tablolar ve grafikler oluşturuldu. Seçilen olgulara rutin poliklinik hizmetleri kapsamında "DEU Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'inde (DEGEDEM)" çalışılan Hiperlipidemi YND paneli tetkik sonuçları DEÜ Tıbbi Genetik AD. arşivlerinden temin edildi.

Tez araştırması için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun * tarihli * numaralı kararıyla etik kurul onayı alındı. (Ek1)

3.3. Genomik DNA İzolasyonu

Tıbbi Genetik polikliniğine başvuran ve klinik değerlendirilmeleri yapılarak moleküler genetik test planlanan hastalardan gerekli onam belgeleri alındıktan sonra EDTA'lı tüpe toplam 4 ml periferik kan örneği alınır. Her hastadan 200 µl kan ile , Qiacube® otomatize DNA izolasyon cihazı (Qiagen, Almanya) ve QIAamp® DNA Blood Mini kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak spin kolon DNA izolasyon tekniği ile saflaştırılmış total genomik DNA elde edilir. Üretici protokolleri doğrultusunda , kan ve diğer solüsyonların eklenmesi ile cihaz otomatize olarak çalışır.

Tablo 3 *DNA izolasyon aşamaları*

Proteinaz K (20 µl), Ligasyon buffer solüsyon (200 µl), ve Periferik kan (200 µl) 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne eklenip, 56 °C'de 10 dakika inkübe edilir.
Etanol %96-100 (200 µl) örneğe eklenerek 15 sn boyunca vorteks edilir.
Karışım spin kolona transfer edilir, ardından spin kolon 2 mL toplama tüpüne yerleştirilir.
Toplama tüpündeki karışım 6000xg'de 1 dk boyunca santrifüj edilir, filtrat atılır.
500 µl Wash buffer karışıma eklenir. (1.)
Spin kolon yeni bir 2 mL toplama tüpüne transfer edilip, 6000xg'de 1 dk boyunca santrifüj edilir, ardından filtrat atılır.
500 µl Wash buffer karışıma eklenir. (2.)
Spin kolon yeni bir 2 mL toplama tüpüne transfer edilir, 20000xg'de 3 dk santrifüj edildikten sonra filtrat atılır.
Spin kolon 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilir.
100-200 µl Elution buffer veya 100-200 µl Distile su karışıma eklenir .
1-5 dk oda sıcaklığında bekletilir .
6000xg'de 1 dk boyunca santrifüj edildikten sonra spin kolonlar atılır.
Elde edilen DNA'ların saflık ve konsantrasyon ölçümleri yapılır , tüplerin kapakları parafilmle sarılarak DNA saklama kutularına yerleştirilir, -20°C'de saklanır.

3.4. DNA Konsantrasyon ve Saflık Ölçümü

Laboratuvarımızda moleküler tetkiklerde kullanılacak DNA'nın saflık ve konsantrasyon ölçümleri NanoDrop ND1000® Spektrofotometre cihazı (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile yapılmaktadır.

Spektrofotometrik ölçüm; DNA, RNA ve protein gibi maddelerin içinde bulundukları sıvı solüsyonlardan belirli dalga boylarındaki ışığın geçirilmesi ve absorbans değerlerinin ölçülmesi prensibine dayanır. Absorbans değerleri, bir

çözeltinin saflığını veya konsantrasyonunu belirleyerek hem kalitatif hem de kantitatif analizini sağlar.

Nükleitidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyunda, proteinler 280 nm dalga boyunda maximum absorbsiyon gösterir. 260 ve 280 nm dalga boylarında okunan değerler arasındaki oran DNA saflığı hesaplamasında kullanılmaktadır.

DNA materyali için A260/A280: 1,8-2,0 ve konsantrasyonu en az 40 ng/µl olmalıdır. A260/A280<1,8 ise protein kontaminasyonu, A260/A280>2,0 ise RNA miktarının fazla olduğunu düşündürmektedir. Saflık ve konsantrasyonları ideal aralıklarda olmayan örneklerden DNA izolasyonları tekrarlanır. Uygun kriterlerdeki DNA'lar alikotlanır ve -20 °C'de saklanır.

3.5. Hedefli Yeni Nesil Dizileme Paneli

Polikliniğimize genetik tanı için yönlendirilen AH'li olgulara Celemics Hyperlipidemia NGS Kiti kullanılarak Tablo 4'de verilen 18 adet geni içeren Hiperlipidemi YND paneli çalışılmıştır.

Genlerin kodlayıcı bölgelerinin (intronik, 5' ve 3' UTR hariç) %98'inden fazlası, en az 20X okuma derinliği ile incelenmiştir. Optimal okuma derinliği sağlanan çalışmalar analize alınmıştır. Ekzon - intron bağlantı noktaları (±10 bç) analize dâhil edilmiştir. Amino asit değişimine yol açmayan ve polimorfizm olarak belirtilen değişimler rapor edilmemiştir. Elde edilen verilerin patojenisite sınıflandırması "2015 ACMG Kılavuzu'na" göre yapılmıştır. Kaplam oranı ortalamanın altında olan genler ayrıca belirtilmiş, klinik korelasyonun düşünüldüğü durumlar için farklı bir yöntemle analiz önerilmiştir.

Bu test, primerler dışında kalan bölgelerdeki mutasyonları, geniş del/dup'ları (kopya sayısı değişiklikleri), epigenetik değişiklikleri ve mozaikliği göstermemektedir. Hiperlipidemi YND panelinde bulunan genler ve transkript numaraları tabloda yer almaktadır.

Tablo 4 *Hiperlipidemi YND paneli gen içeriği ve transkript numaraları*

ABCA1 (ENST00000374736)	*ABCG5* (ENST00000260645)	*ABCG8* (ENST00000272286)	*ALMS1* (ENST00000264448)
APOA1 (ENST00000375323)	*APOA5* (ENST00000542499)	*APOB* (ENST00000233242)	*APOC2* (ENST00000252490)
APOC3 (ENST00000375345)	*APOE* (ENST00000252486)	*CREB3L3* (ENST00000078445)	*GPIHBC1* (ENST00000330824)
LDLR (ENST00000558518)	*LDLRAP1* (ENST00000374338)	*LIPA* (ENST00000336233)	*LMF1* (ENST00000262301)
LPL (ENST00000311322)	*PCSK9* (ENST00000302118)		

3.5.1. YND Islak Laboratuvar Aşamaları

Hastalardan elde edilen DNA'lardan Celemics Hyperlipidemia NGS kiti kullanılarak kütüphane hazırlandı. DNA fragmantasyonu, pürifikasyon, DNA uç onarımı, pürifikasyon, A ucu takılması, pürifikasyon, adaptör ligasyonu, pürifikasyon, indeks ile işaretleme, pürifikasyon, prob hibiridizasyonu, streptavidin boncuk ile hedef kütüphanenin seçilmesi, hedef kütüphanenin amplifikasyonu ve son pürifikasyon işlemleri gerçekleştirildikten sonra hazırlanan kütüphane Nextseq500® (Illumina, ABD) NGS platformunda yürütülerek dizileme ham verisi elde edildi.

3.5.2. YND Verilerinin Biyoinformatik Analizi

Her aşamada üretici protokollerine uyularak elde edilen ham veriler 'FastQ' formatında SEQ analiz platformuna (Genomize, Türkiye) yüklendi. GRCh37/hg19 referans genomuna hizalandı. Varyant çağırma ('variant calling'), güvenilirlik skorlaması ve varyant anotasyonu aşamalarından geçirildi. Her olgunun analizinde 18 adet hedeflenen gen bölgeleri için minimum 20x derinlikte ve en az %98 kaplam oranında veri elde edilmesi amaçlandı.

3.5.3. YND Verilerinin Klinik Analizi

Anotasyonu tamamlanmış olan varyantlar Genomize Seq platformu kullanılarak analiz edildi ve varyantlar aşağıdaki kriterlere göre filtrelendi:

1. ClinVar veri tabanındaki tüm bildirimleri Benign (B)/Likely Benign (LB) olan varyantlar dışlandı (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/).

2. Herhangi bir popülasyon veri tabanında %5'den büyük allel sıklığı olan varyantlar dışlandı [Exome Sequencing Project (ESP)] (https://esp.gs.washington.edu/drupal/) veya 1000 Genomes Projesi (1000Genomes) (http: // www .internationalgenome.org /) veya Exome Toplama Konsorsiyumu (ExAC) (http://exac.broadinstitute.org/)].

3. Kodlayıcı bölgelere ve intronik bölgelere (kit tarafından kaplanan alana kadar) ait varyantlar dahil edildi.

2015 yılında yayınlanan ACMG'nin güncel kılavuzu kullanılarak varyantların patojenite sınıflaması yapıldı. Varyantlar sırasıyla benign, muhtemel benign, klinik önemi bilinmeyen, muhtemel patojenik ve patojenik olarak sınıflandırıldı. Bu sınıflamaya göre varyantın patojenite değerlendirilmesinde kullanılması önerilen veriler şu şekildedir:

- Varyantın tipi (anlamsız, yanlış anlamlı, dur kodonu oluşturan, çerçeve kayması vb...)
- Varsa daha önce bildirilmiş aynı amino asit değişiminin patojenitesi,
- Varsa daha önce bildirilmiş aynı kodon değişikliğinin patojenitesi,
- "De novo" olup olmaması veya ailede hastalık ve varyantın segregasyonu,
- Bilinen fonksiyonel çalışmasının olup olmaması,
- Toplum frekansı ve merkez içi frekansı,
- Varsa eski vaka-kontrol çalışmalarındaki frekansları,
- Protein üzerinde mutasyonel "hotspot" (sıcak nokta)'da yer alıp almaması,
- Biallelik olup olmaması,
- Protein uzunluğu üzerindeki etkisi,
- "In silico" analiz verileri (REVEL, MetaLR, SIFT, PolyPhen, MutationTaster, ADA ve RF skoru)
- Uluslararası veri tabanlarında bulunan veriler

Patojenite sınıflandırması sırasında SEQ platformu ile birlikte; ClinVar (Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enstitüsü) veri tabanı, Varsome (Saphetor, İsviçre), Franklin (Genoox, ABD), VarSeak (JSI, Almanya), NGS Cloud (Pairend, Türkiye) analiz platformularından yararlanıldı. Raporlanacak tüm varyantların analizi Bütünleştirici Genomik Görüntüleyici (IGV) yazılımıyla değerlendirilerek doğrulandı.

3.6. Klinik Önemi Bilinmeyen (VUS) Varyantların Tekrar Analizi

Patojenik, muhtemel patojenik ve klinik önemi bilinmeyen varyantlar listelendi. Klinik önemi bilinmeyen varyantların patojenitesi, yenilenen analiz yazılımları, veri tabanları ve literatur bilgileri sonucu değişebileceği için VUS olarak raporlanan değişimlerin tekrar analiz edilme ihtiyacı doğmaktadır. Varyantların reanalizinde Varsome (Saphetor, İsviçre), Franklin (Genoox, ABD), VarSeak (JSI, Almanya), NGS Cloud (Pairend, Türkiye) analiz platformları yanı sıra Leiden Açık Varyasyon Veritabanı (*LOVD,* Hollanda) kullanıldı. “In silico” tahmin araçlarından REVEL, MetaLR, SIFT, PolyPhen ve MutationTaster ile kırpılma bölgesi varyantları için ADA, RF ve MaxEntScan skorları kullanıldı.Varyantlarla ilgili arama motorundan, Pubmed ve LitVar veri tabanlarından literatür bilgileri araştırıldı. Elde edilen veriler doğrultusunda ACGM’nin son kılavuzuna göre varyantlar tekrar değerlendirilerek yeniden sınıflandırıldı.

3.7. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Tez çalışması için öncelikle elde edilen hastaların genotip-fenotip verileri SPSS-24 (SPSS INC., Chicago, IL, USA) istatistik programı ile analiz edildi.

Olgularda saptanan AH fenotipine ilişkin klinik bulgular ve hasta genotipi arasındaki ilişkiler tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, sıklık ve oran), uygun parametrik ve non-parametrik testler ile incelendi.

4. BULGULAR

Retrospektif tanımlayıcı türde bir araştırma olarak yürütülen çalışmamızda 10.2018- 06.2021 tarihleri arasında DEU Tıbbi Genetik polikliniğine başvurmuş ve moleküler genetik çalışmaları tamamlanmış AH tanısı düşünülen olguların dosya, Probel HBYS sitemindeki kayıtlarıyla DEGEDEM genetik test sonuçları incelenmiştir. Hasta seçimi kriterlerini karşılayan olgular değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmamıza 9 aile ve 28 bireysel vakadan oluşmak üzere toplamda 56 olgu dahil edilmiştir.

Çalışmamızda yer alan 31 olgu kadın (%55), 25 olgu erkektir (%44). Pediatrik yaş grubundaki olguların yaş ortalamaları 7,7±4,5 yaş, erişkin yaş grubu hastaların yaş ortalamaları 30,5±10,9 yaş olarak hesaplanmıştır. Pediyatrik yaş grubu olguların %52'si kız, %48'i erkek; erişkin yaş grubu olguların %60'ı kadın, %40'ı erkektir. Klinik tanı ya da kademeli genetik testlerinin uygulandığı yaşları göz önünde bulundurulduğunda 31 olgu pediyatrik yaş grubunda (%55), 25 olgu erişkin yaş (%45) grubundadır.

Çalışmaya alınan olguların %73'ü (41olgu) Ege Bölgesi'ndendir. Bir olgu Romanya, 1 olgu Bulgaristan, 1 olgu da Moldova doğumludur. Olguların tamamı Türk kökenlidir.

Mutasyonu olan ve olmayan olguların mevcut yaşları (p=0.538), tanı yaşları (p=0,328) ve cinsiyetleri (p=0,784) arasında istatiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Aile taraması kapsamında çalışılan 28 aile bireyinde %78,6 oranında mutasyon saptanırken, tekil indeks başvuruların %53,6'sında mutasyon bulunmuştur. Mutasyona göre tekil indeks vakalar ile aile taraması kapsamında çalışılan vakalar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur (p=0,048).

Tanı anındaki LDL-K, T-Kolesterol, TG ve HDL-K düzeyleri arasında mutasyona göre istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır (sırasıyla p; 0,931, 0,820, 0,526, 0,299).

Erişkin yaş grubunda %68,8 oranında mutasyon, çocuk yaş grubunda %76,5 oranında mutasyon saptanırken erişkin ve çocuk yaş grubunda mutasyon saptama oranları açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (p=0.731).

Ailede KVH olan olguların olmayanlara göre trigliserid değerleri anlamlı derecede yüksek bulunurken (p=0,015), ailede hiperlipidemi olan olguların HDL-K değerleri anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,022).

Tablo 5:*Olguların istatistiksel verileri*

Değişkenler	**Mutasyon yok**		**Mutasyon var**		**p**
Cinsiyet					
Kadın	11	35,5%	20	64,5%	0,784
Erkek	8	32,0%	17	68,0%	
Yaş					0,538
Ortalama±SS	23,6±17,3		19,1±12,9		
Tanı yaşı					0,328
Ortalama±SS	12,5±12,2		15,4±12,9		
Yaşa göre					
Erişkin	11	44,0%	14	56,0%	0,153
Çocuk	8	25,8%	23	74,2%	
Tanı yaşına göre					
Erişkin	5	31,3%	11	68,8%	0,731
Çocuk	8	23,5%	26	76,5%	
Başvuru şekli					
Tek	13	46,4%	15	53,6%	**0,048**
Aile	6	21,4%	22	78,6%	
İndeks/akraba					
İndeks	13	33,3%	26	66,7%	0,887
Akraba	6	35,3%	11	64,7%	
Akraba evliliği					
Yok	18	36,7%	31	63,3%	0,653[1]
Var	1	16,7%	5	83,3%	

[1] Fisher'in kesinlik testi kullanılmıştır.

Değişkenler	**Mutasyon yok**		**Mutasyon var**		**p**
Ailede Hiperlipidemi					
Yok	5	55,6%	4	44,4%	0,247
Var	14	29,8%	33	70,2%	
Hiperlipidemi olanların yakınlığı					
1. derece	10	25,6%	29	74,4%	0,215[1]
2. derece	4	50,0%	4	50,0%	
Ailede KVH					
Yok	10	40,0%	15	60,0%	0,389
Var	9	29,0%	22	71,0%	
KVH olanların yakınlığı					
1. derece	1	20,0%	4	80,0%	1,000[1]
2. derece	8	30,8%	18	69,2%	

[1] Fisher'in kesinlik testi kullanılmıştır.

Değişkenler	Mutasyon yok		Mutasyon var		p
EKO					
Normal	4	20,0%	16	80,0%	1,000[1]
Anormal	1	14,3%	6	85,7%	
KVH Semptom					
Yok	18	36,0%	32	64,0%	0,652[1]
Var	1	16,7%	5	83,3%	
İlaç kullanımı					
Yok	7	36,8%	12	63,2%	0,193
Var	6	20,0%	24	80,0%	

[1] Fisher'in kesinlik testi kullanılmıştır.

Değişkenler	Mutasyon yok	Mutasyon var	p
LDL	243,5±114,8	234,6±72,4	0,931
T-kolesterol	322,5±106,0	312,9±80,9	0,820
Trigliserit	122,6±68,9	102,6±48,2	0,526
HDL	56,7±14,2	54,7±11,2	0,299

Değişkenler	Ailede HL Yok	Ailede HL var	p
LDL	243,2±132,5	236,5±80,2	0,240
T-kolesterol	328,0±136,4	314,2±81,8	0,562
Trigliserit	91,2±44,2	111,4±56,9	0,538
HDL	66,5±8,7	53,7±11,8	**0,022**

Değişkenler	Ailede KVH Yok	Ailede KVH var	p
LDL	248,2±106,7	228,5±66,4	0,320
T-kolesterol	325,3±110,0	308,2±67,1	0,520
Trigliserit	85,7±37,1	126,9±61,2	**0,015**
HDL	57,9±12,5	53,1±11,5	0,197

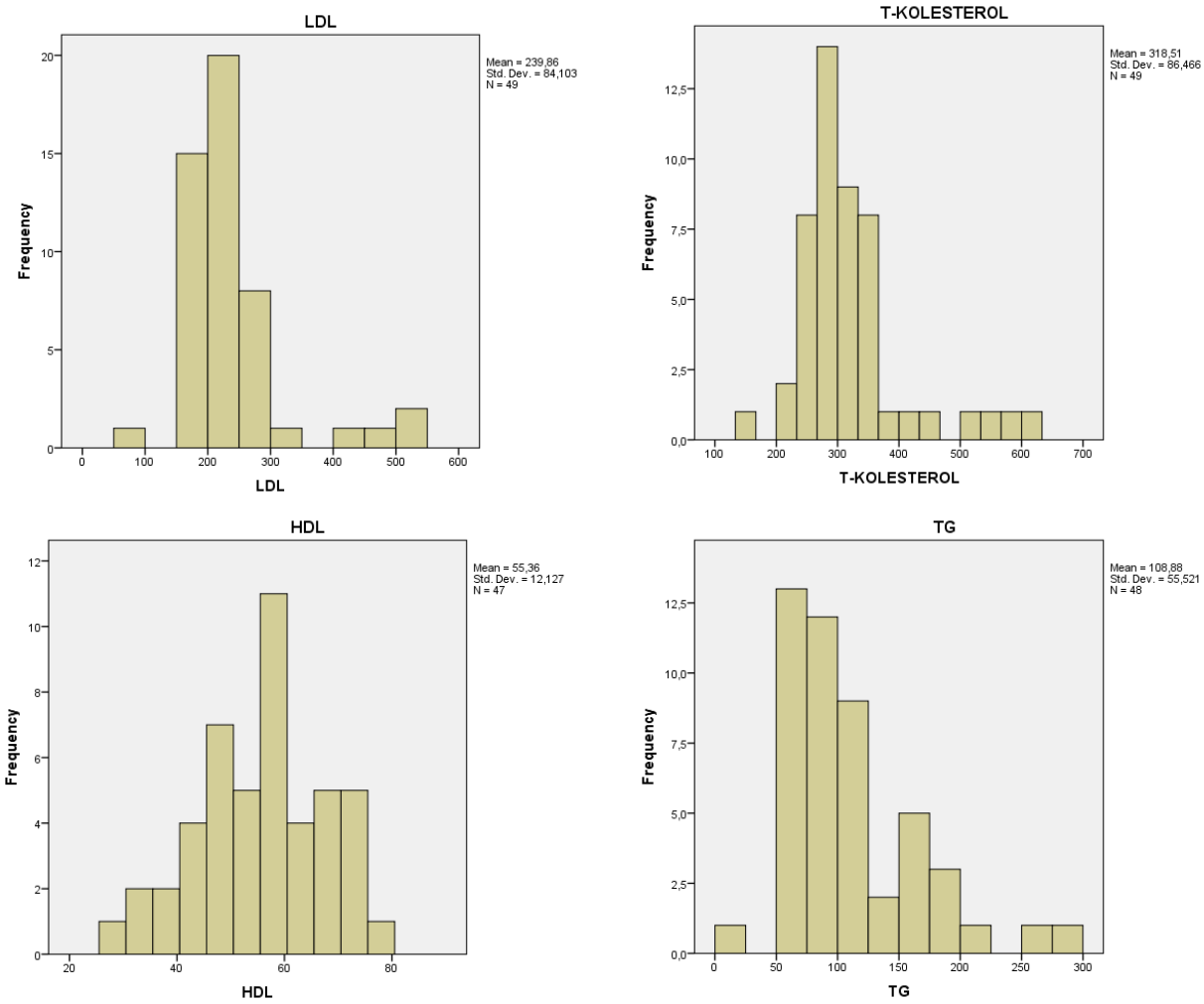
Fenotip pozitif olguların %88'inde KVH hastalık semptomu bulunmamaktadır. KVH ile ilişkili semptom tarifleyen 6 olgunun 5'inde LP/P değişim mevcutken 1 olgunun homozigot VUS değişimi mevcuttur. Altı olgunun 2'sinin kesin ASKVH tanısı mevcutken 4 olgunun KVH ile ilişkili olduğu düşünülen şikayetleri bulunmaktadır. *LDLR* geni VUS c.829G>A varyantını homozigot olarak taşıyan

olgunun EKO'sunda valvuler aort stenozu, aort yetmezliği (1^0-2^0), sol ventrikül konsantrik hipertrofisi, triküspit yetmezlik (1^0), hafif valvüler pulmoner stenoz, sol koroner arter ostium bölgesinde mozaiklenme görülmüş; hastaya 17 yaşında iken aort kapak replasmanı yapılmıştır. Olguya lipid aferezi yapılmaktadır ve şu an 19 yaşında olan hastanın prostetik kapağında da darlık mevcuttur. Varyantı heterozigot olarak taşıyan 15 yaşındaki erkek olgunun KVH ile ilişkili semptomu bulunmamaktadır. *LDLR* geni muhtemel patojenik c.1463T>C varyantını heterozigot olarak taşıyan 48 yaşındaki erkek olgunun MI öyküsü mevcuttur. On dokuz yaş kadın ve 12 yaş erkek olguların (sırasıyla *LDLRAP1* geni, patojenik, homozigot, c.460-1G>A(EKO: hafif AS) ve *LDLR* geni, patojenik, heterozigot, p.Gln739Ter değişimleri) efor dispnesi şikayeti mevcuttur. Sık sık göğüs ağrısı şikayeti ile acil servis başvuruları olan olgu 25 yaşında AH tanısı alan erkek olgudur(*LDLR* geni muhtemel patojenik, heterozigot c.1678A>T değişimi; EKO: LVKH). Sekiz yaş kız olgunun akranlarından çabuk yorulma şikayeti mevcuttur ve *APOB* geninde heterozigot, patojenik, missense değişimi bulunmaktadır.

Yedi olgunun değişen ağırlıklarda EKO bulguları bulunmaktadır.

Tablo 6 *Olguların EKO bulguları (AS: Aort stenozu, MY: Mitral yetmezlik, PS: Pulmonel stenoz, LVKH: Sol ventrikül konsantrik hipertrofisi, MVP: Mitral valf prolapsusu)*

EKO		Sayı	Olgu
	hafif AS	1	54
	hafif MY	1	17(aile IV-3)
	hafif PS, Trivial MY	1	20(aile V-2)
	LVKH	1	4
	düzleşme tipi MVP, minimal MY	1	28(aile VI-2)
	MVP, minimal MY	1	30
	Valvuler aort stenozu, aort yetmezliği (1^0-2^0), sol ventrikül konsantrik hipertrofisi, triküspit yetmezlik (1^0), hafif valvüler pulmoner stenoz, sol koroner arter ostium bölgesinde mozaiklenme	1	31
	Normal	20	
	Yok	29	



Şekil 9 *Olguların LDL-K, T-Kolesterol, HDL, TG dağılımları*

Çalışmaya alınan 56 olgunun %66'sında (37 olgu) Hiperlipidemi panelinde yer alan *LDLR, APOB* ve *LDLRAP1* genlerinde LP/P varyantı saptanmıştır. LP/P değişim bulunmayan olgu sayısı 19'dur (%33). LP/P değişim bulunmayan olguların 6'sı indeks vakaların aile bireyleridir ve bu olguların 3'ünün lipid profilleri normaldir, 3 olgunun ise hiç biyokimyasal verisi bulunmamaktadır. Kalan 13 olguluk grubun ise biyokimyasal ve klinik değerlendirme verileri AH ile uyumlu olmasına rağmen LP/P değişim tespit edilememiştir. Bu genotip negatif ancak fenotip pozitif grup olguların %23'ünü oluşturmaktadır. Altı olguluk bu aile bireyleri grubu hariç tutulduğunda LP/P değişim tespit edilmemiş grup oranı %22'dir. Mutasyon bulunan olguların %89,2'sinde (33 olgu*) LDLR* geninde, %10,8'inde diğer genlerde (*LDLRAP1 ve APOB*) değişim mevcuttur.

Hiperlipidemi panelinde LP/P değişimler arasında en sık saptanan %78,4 oranla missense (29 olgu) varyantlardır. Bunların 27 tanesi *LDLR* genine, 2 tanesi ise *APOB*

genine aittir. Çerçeve kayması (frameshift) mutasyonu 3 olguda çerçeve içi delesyonlar (inframe deletion) 1 olguda, intronik bölge değişimi 1 olguda, alıcı kırpılma bölgesinde (splice acceptor) mutasyon 1 olguda, dur kodonu (stop gained) oluşturan mutasyon 2 olguda görülmüştür.

Bulunan LP/P değişimlerinin 1 olgudaki hariç tamamı heterozigottur. Sadece 1 hastada *LDLRAP1* geninde 4. intronda homozigot patojenik alıcı kırpılma bölgesi, c.460-1G>A değişimi saptanmıştır ve hastanın homozigot varyant fenotipiyle uyumu olacak şekilde LDL-K 510 mg/dL ile T-Kolesterolü 604 mg/dL'dir.

LP/P değişimi olan 3 indeks olgunun anne babası arasında 3. dereceden akraba evliliği mevcuttur. Bu olgulardan 1'inin *LDLRAP1* geninde homozigot patojenik değişimi mevcut iken, diğer 2 olguda *LDLR* geninde heterozigot patojenik ve muhtemel patojenik değişim bulunmaktadır. Olguların anne-babalarının genetik moleküler test için başvuruları bulunmamaktadır.

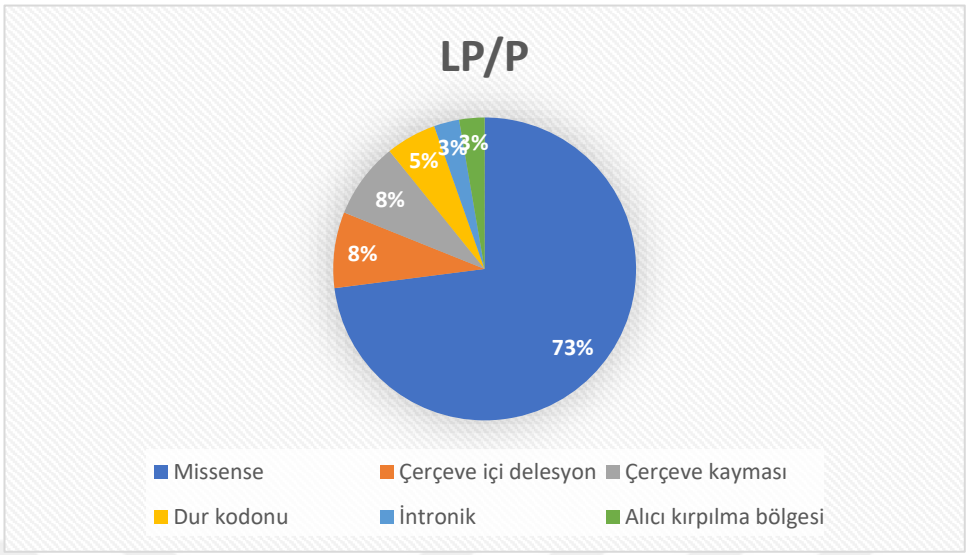
Muhtemel patojenik/patojenik değişimi bulunan 37 olgunun %43'ünün hiç kardiyoloji polikliniği başvurusu bulunmamaktadır ve kardiyolojik açıdan hastanemizde takip edilmemektedir.

Hiperlipidemi paneline alınan hastalardan 23 indeks olguda *LDLR* geninde, 2 indeks olguda *APOB* ve 1 indeks olguda *LDLRAP1* geninde LP/P varyantı bulunmaktadır. Toplamda 33 olguda olmak üzere en yüksek LP/P varyantı saptanan gen *LDLR* genidir. *LDLR* geninde 2, *APOB, PCSK9, LDLRAP1, LPL, ABCA1, ABCG5, ABCG8* genlerinde 1'er VUS varyant saptanmıştır. Olguların ailelerinden 10 olguda *LDLR*, 1 olguda *APOB* geninde LP/P varyantı tespit edilmiştir.

LDLR geninde 16 farklı LP/P varyant, *APOB* ve *LDLRAP1* geninde tek bir patojenik değişim görülmüştür. Çerçeve kayması değişimine neden olan patojenik 2 farklı varyant (c.1476_1477delCT ve c.2411_2412insG) 2 indeks, 1 akraba olguda ve dur kodonu oluşturan patojenik c.2215C>T değişimi 2 indeks olguda saptanmıştır.

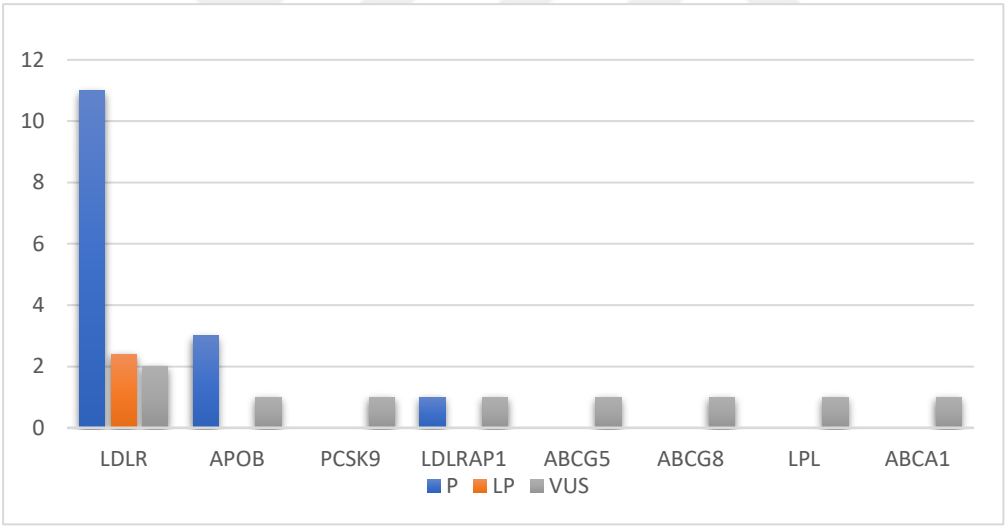
LDLR geni.11. ekzon c.1646G>A varyantı en sık görülen değişimdir ve tamamı heterozigot kalıtımlıdır. Literatürde *LDLR* genine ait patojenik varyantlar en sık ekzon 4'te bildirilse de çalışmamızda tek hastada heterozigot patojenik missense değişim olarak görülmüştür (Olgu 53).

Saptanan hasta sayısı en yüksek ekzon 11'de kümelenmektedir. Ekzon 11'de 3 indeks vakada patojenik c.1646G>A ve 1 indeks vakada ise patojenik c.1678A>T varyantı görülmüştür. İki aileden kademeli genetik tarama sonucunda 4 akrabada c.1646G>A değişiminin saptanması nedeniyle en yüksek olgu sayısı bu ekzonda görülmektedir. Ekzon 12'de yer alan c.1729T>C patojenik değişimi 1'i indeks olmak üzere aynı aileden 3 kişide ve 2 bağımsız indeks olguda bulunmaktadır. Ekzon 10'da yer alan muhtemel patojenik c.1463T>C değişimi 1'i indeks olmak üzere aynı aileden 3 kişide saptanmıştır. Ekzon 10'daki patojenik c.1476_1477delCT değişim ise 2 kardeşte tespit edilmiştir. Ekzon 10'da toplamda 5 olguda değişim saptanmıştır.



Şekil 10 *Hiperlipidemi panelinde saptanan patojenik/ muhtemel patojenik gen değişimlerinin özellikleri*

LP: muhtemel patojenik, P: patojenik



Şekil 11 *Hiperlipidemi panelinde değişim bulunan genler ve patojenisiteleri*

Tablo 7 *Varyantlara göre hastaların lipid profilleri*

OLGU NO	**YAŞ**	**CİNSİYET**	**GEN**	**DEĞİŞİM**	**LDL-K(mg/dL)**	**T-Kolesterol(mg/dL)**	**Trigliserit(mg/dL)**	**HDL(mg/dL)**
3	15 AY	K	*LDLR*	2. ekzon, c.81C>G, het, LP	203	271	-	50
9(aile II-1)	14	K	*LDLR*	2. ekzon, c.81C>G, het, LP	194	277	84	66
10(aile II-2)	43	K	*LDLR*	2. ekzon, c.81C>G, het, LP	188	269	54	70
38(aile VIII-1)	7	E	*LDLR*	10. ekzon, c.1463T>C, het, LP	197	271	63	59
39(aile VIII-2)	18	K	*LDLR*	10. ekzon, c.1463T>C, het, LP	215	304	152	58
40(aile VIII-3)*	48	E	*LDLR*	10. ekzon, c.1463T>C, het, LP	162	237	139	47
36(aile VII-1)	14	E	*LDLR*	10. ekzon, c.1476_1477delCT, het, P	237	317	116	56
37(aile VII-2)	11	E	*LDLR*	10. ekzon, c.1476_1477delCT, het, P	276	362	61	73
51	4	K	*LDLR*	11. ekzon, c.1646G>A, het, P	266	440	79	72
19(aile V-1)	9	K	*LDLR*	11. ekzon, c.1646G>A, het, P	244	347	265	50
20(aile V-2)	11	K	*LDLR*	11. ekzon, c.1646G>A, het, P	262	333	86	53
21(aile V-3)	20	E	*LDLR*	11. ekzon, c.1646G>A, het, P	veri yok			
23(aile V-5)	48	K	*LDLR*	11. ekzon, c.1646G>A, het, P	263	346	174	48
27(aile VI-1)	9	K	*LDLR*	11. ekzon, c.1646G>A, het, P	214	292	119	54
28(aile VI-2)	13	K	*LDLR*	11. ekzon, c.1646G>A, het, P	187	254	103	46
1(aile I-1)	1	E	*LDLR*	12. ekzon, c.1729T>C, het, LP	189	253	110	42

2(aile I-2)*	31	E	*LDLR*	12. ekzon, c.1729T>C, het, LP	171	227	63	43
15(aile IV-1)	13	K	*LDLR*	12. ekzon, c.1729T>C, het, LP	220	281	75	46
16(aile IV-2)	11	E	*LDLR*	12. ekzon, c.1729T>C, het, LP	221	293	119	48
17(aile IV-3)	10	E	*LDLR*	12. ekzon, c.1729T>C, het, LP	291	378	150	57
30	15	K	*LDLR*	12. ekzon, c.1729T>C, het, LP	208	274	74	-
13(aile III-1)	11	K	*LDLR*	13. ekzon, c.1946C>T, het, LP	196	265	82	52
14(aile III-2)	35	K	*LDLR*	13. ekzon, c.1946C>T, het, LP	199	225	74	41
8	7	E	*LDLR*	15. ekzon, c.2215C>T, het, P	242	338	90	-
46	9	E	*LDLR*	15. ekzon, c.2215C>T, het, P	206	284	109	56
25	11	E	*APOB*	26. ekzon, c.10580G>A, het, P	210	284	65	61
48(aile IX-1)	5	K	*APOB*	26. ekzon, c.10580G>A, het, P	224	320	76	74
50(aile IX-3)	40	E	*APOB*	26. ekzon, c.10580G>A, het, P	veri yok			
43	9	K	*LDLR*	3. ekzon, c.241C>T, het, LP	186	310	364	51
53	8	K	*LDLR*	4. ekzon, c.622G>A, het, P	230	312	110	59
5	5	K	*LDLR*	6. ekzon, c.858C>A, het, LP	229	313	78	68
7	25	E	*LDLR*	9. ekzon, c.1277T>G, het, LP	190	250	124	35
4	25	E	*LDLR*	11.ekzon, c.1678A>T, het, LP APOB, 18. ekzon, c.2683G>A, het, VUS	287	353	147	37
32	7	E	*LDLR*	13.ekzon, c.1867_1869delATC, het, LP	306	400	176	58
8	7	E	*LDLR*	15.ekzon, c.2215C>T, het, P	242	338	90	veri yok
26	3	K	*LDLR*	17.ekzon, c.2411_2412insG, het, P	430	504	163	41
42	4	E	*LDLR*	8. intron, c.1187-10G>A, het, P	199	259	50	49

54	17	K	*LDLRAP1*	intron 4, c.460-1G>A, hom, P	510	604	80	78
55	3	K		normal	236	307	54	60
6	21	K		normal	233	305	89	54
12	33	E		normal	222	300	80	62
29	9	E	*LMF*	9. ekzon, c.1351C>T, het, VUS	166	245	55	68
52	14	E	*LDLR*	6.ekzon, c.829G>A, het, VUS	266	340	182	37
31	5	K	*LDLR*	6.ekzon, c.829G>A, hom, VUS	535	578	58	31
33	36	K		normal	194	279	147	56
34	2	E		normal	464	535	68	57
35	1	K		normal	264	345	98	61
44	?	E		normal	236	343	209	65
45	3	K	*LDLRAP1* *APOB*	LDLRAP1, 2.ekzon, c.103T>C, het VUS APOB, 26. ekzon, c.7681C>T, het, VUS	195	266	176	73

Tanı yaşları belirtilmiştir.

*İlaç kullamı sırasındaki değerleridir. İlk biyokimyasal verilerine ulaşılamamıştır.

Tablo 8 *Hiperlipidemi panelinde saptanan varyantların özellikleri*

Gen	Pozisyon	rSID numarası	E/İ	HGVSc	HGVSp	Zigosite	Değişim Tipi	MAF (Seq/Populasyon)	Patojenisite	Patojenisite Kriterleri	In Silico Tahmin Skoru	Olgu No
LDLR	chr19:11210912	rs2228671	E 2	c.81C>G	p.Cys27Trp	HET	M	0.0005/ 0.0000	LP	PM1, PM2, PP3, PP5	RS: 0.7590 MlrS: 0.9873 / D	3, 9(aile II-1), 10(aile II-2)
LDLR	chr19:11213390	rs730882078	E 3	c.241C>T	p.Arg81Cys	HET	M	0.00001/ 0.0000	LP	PM1, PM2, PM5, PP3	RS: 0.8170 MlrS: 0.8725 / D	43
LDLR	chr19:11216204	rs879254597	E 4	c.622G>A	p.Glu208Lys	HET	M	0.00003/ 0.0000	P	PM1, PM2, PP3, PP5	RS: 0.8120 MlrS: 0.8851 / D	53
LDLR	chr19:11218108	rs140241383	E 6	c.858C>A	p.Ser286Arg	HET	M	0.0005/ 0.0000	LP	PM1, PM2, PP2, PP3, PP5	RS: 0.7660 MlrS: 0.9472 / D	5
LDLR	chr19:11227559	rs148698650	E 6	c.829G>A	p.E277K	HOM	M	0.0019/ 0.0005	VUS	PP2, BP6	RS: 0.5330 MlrS: 0.7649 / D	31
LDLR	chr19:11218079	rs148698650	E 6	c.829G>A	p.Glu277Lys	HET	M	0.00018/ 0.0000	VUS	BS1, BS2, BP4, PM1	RS: 0.5330 MlrS: 0.7649 / D	52
LDLR	chr19:11224044	–	E 9	c.1277T>G	p.Leu426Arg	HET	M	0.0002/ 0.0000	LP	PM1, PP2, PM2, PM5, PP3, PP5	RS: 0.9070 MlrS: 0.8880 / D	7
LDLR	chr19:11224315	rs879254913	E 10	c.1463T>C	p.Ile488Thr	HET	M	0.00002/ 0.0000	LP	PM1, PM5, PP3, PM2	RS: 0.8880 MlrS: 0.9580 / D	38(aile VIII-1), 39(aile VIII-2), 40(aile VIII-3

LDLR	chr19:11224327	rs869025453	E 10	c.1476_1477delCT	p.Ser493CysfsTer42	HET	çerçeve kayması	0.00003/ 0.0000	P	PVS1, PP5, PM2	NA	36(aile VII-1), 37(aile VII-2)
LDLR	chr19:11226829	rs28941776	E 11	c.1646G>A	p.Gly549Asp	HET	M	0.0007/ 0.0000	P	PS3, PM1, PM2, PM5, PP3	RS: 0.9020 MlrS: 0.9842 / D	19(aile V-1), 20(aile V-2), 21(aile V-3), 23(aile V-5), 27(aile VI-1), 28(aile VI-2), 51
LDLR	chr19:11226861	rs1131692213	E 11	c.1678A>T	p.Ile560Phe	HET	M	0.0002 / 0.0000	P	PM1, PM2, PP3, PP5	RS: 0.8010 MlrS: 0.9519 / D	4
LDLR	chr19:11227558	rs879255000	E 12	c.1729T>C	p.Trp577Arg	HET	M	0.00019/ 0.0000	P	PM1, PM2, PM5, PP3, PP5	RS: 0.9380 MlrS: 0.9934 / D	1(aile I-1), 2(aile I-2), 15(aile IV-1), 16(aile IV-2), 17(aile IV-3), 30
LDLR	chr19:11230868	rs879255081	E 13	c.1946C>T	p.Pro649Leu	HET	M	0.0003 / 0.0000	LP	PM1, PM2, PM5, PP3, PP5	RS: 0.7770 MlrS: 0.9721 / D	13(aile III-1), 14(aile III-2)
LDLR	chr19:11230788	rs879255062	E 13	c.1867_1869delATC	p.Ile623del	HET	çerçeve içi delesyon	0.00001/ 0.0000	P	PM1, PM2, PS3	NA	32
LDLR	chr19:11233924	rs370018159	E 15	c.2215C>T	p.Gln739Ter	HET	dur kodonu	0.0004 / 0.0000	P	PVS1, PM2, PP5	NA	8, 46
LDLR	chr19:11240210	rs773618064	E 17	c.2411_2412insG	p.Val806GlyfsTer11	HET	çerçeve kayması	0.0001/ 0.0000	P	PVS1, PM1, PM2	NA	26
LDLR	chr19:11223944	rs765696008	İ 8	c.1187-10G>A	–	HET	intronik / SS	0.00002/ 0.0000	P	PS3, PP3	ADA Score: 1.0000 RF Score: 0.9880	42

APOB	chr2:21229160	rs5742904	E 26	c.10580G>A	p.Arg3527Gln	HET	M	0.0002/ 0.0000	P	PS3, PS4, PM2, PM5, PP3	RS: 0.7350 MlrS: 0.7018 / D	48(aile IX-1), 50(aile IX-3), 25
LDLRAP1	chr1:25889134	–	İ 4	c.460-1G>A	–	HOM	alıcı SS	0.0007 / 0.0002	P	PVS1, PP5, PM2	ADA Score: 1.0000 RF Score: 0.9260 MaxEntScan: 10.225 (1.475)	54
LDLRAP1 *APOB*	chr1:25880427 chr2:21232059	rs756980694 rs748303489	E 2 E 26	c.103T>C c.7681C>T	p.Trp35Arg p.Leu2561Phe	HET HET	M M	0.0005/ 0.0000 0.0001/ 0.0000	VUS VUS	PM2, PP3 PM2, BP4	RS: 0.7380 MlrS: 0.3325 / T RS: 0.1330 MlrS: 0.0030 / T	45
PCSK9	chr1:55509585	rs151193009	E 2	c.277C>T	p.Arg93Cys	HET	M	0.0003/ 0.0007	VUS	PM2, BP4	RS: 0.2300 MlrS: 0.2490 / T	56
ABCG8	chr2:44102356	-	E 11	c.1560C>A	p.Asn520Lys	HET	M	0.0001/ 0.0000	VUS	PM2, BP1	RS: NA MlrS. NA	35
ABCG5	chr2:44052105	rs368800131	E 7	c.827C>T	p.Thr276Met	HET	M	0.0009 /0.0000	VUS	PM2, BP4	RS: 0.1420 MlrS.: 0.1001	35
APOA5	chr11:11666240	rs3135506	E 3	c.56C>G	p.Ser19Trp	HET	M	0.0566/ 0.0684	polimorfizm /risk faktörü			47
LPL	chr8:19813529	rs268	E 6	c.953A>G	p.Asn318Ser	HET	M	0.045/ 0.0128	VUS	PS3, PP2, PP5, BP4	RS: 0.3120 MlrS: 0.4181 / T	49(aile IX-2)
Varyant saptanmamış olgular: 6, 11(aile II-3), 12, 18(aile IV-4), 22(aile V-4), 24(aile V-6), 29, 33, 34, 41(aile VIII-4), 44, 55, 56												

E: Ekzon, İ: İntron, M: Missense, HET: Heterozigot, HOM: Homozigot, SS: Splice site/kırpılma bölgesi, RS: Revel skoru, MlrS: MetaLR skoru, MAF: Maksimum allel frekansı, Seq: Seq genomize analiz platformu VUS: Klinik önemi bilinmeyen

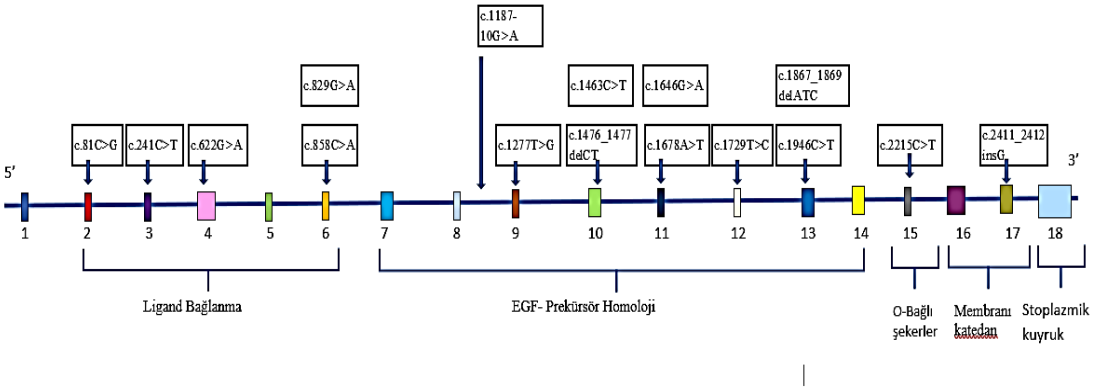
Tablo 9 *Etkilenen LDLr protein domainleri (LOVD[3] veri tabanından yararlanılarak hazırlanmıştır.)*

** VKGL veri paylaşım girişimi Hollanda*

*+ c.1476_1477insAGAG (p.Ser493Argfs*44) patojenik bildirimi mevcut.*

^İle624del LP olarak bildirilmiş.

Ekzon/İntron no:	Nükleotid değişimi	Protein Domaini	ACGS sınıflaması		Enzim aktivitesi	REFERANS
2	c.81C>G	LDL-receptor class A1	LP		%15-30 LDLR aktivitesi(heterozigot); Hobbs 1992	Miltiadous 2001, wang 2001, Hoobs 1992, Fouchier 2005, Day 1997, Bertolini 2013
3	c.241C>T	LDL-receptor class A2	LP, P			Alonso 2009, Bertolini 2013, Fouchier 2001
4	c.622G>A	LDL-receptor class A5	LP, P	AH Kudüs	%5-15 LDLR aktivitesi (heterozigot); Hobbs 1992	Hobbs 1992, Ekstrom 1998, Kotze 1989
6	c.858C>A	LDL-receptor class A7	LP, P	AH Greece-2	c.517T> C ile Heterozigot olduğunda %5-15 LDLR aktivitesi, p.(Cys173Arg),(AH Greece 1);Hobbs 1992	Hobbs 1992, foucher 2001, Bertoloni 2013
	c.829G>A	LDL-receptor class A7	LB			Vaca 2011, Mollaki 2014, Sözen 2005
9	c.1277T>G		LP*			
10	c.1476_1477delCT	Bildirim yok */+				
	c.1463T>C	LDL-receptor class B3	LP			Fouchier 2001
11	c.1678A>T	LDL-receptor class B3	P*			
	c.1646G>A	LDL-receptor class B4	LP, P	AH Genova, AH Palermo-1	Homozigotlarda %2 LDLR aktivitesi; c.662A>G, p.(Asp221Gly), FH Padova-1 ile Heterogiot olduğunda %5 LDLR aktivitesi; Hobbs 1990	Hobbs 1990, Leren 2004, Fouchier 2001
12	c.1729T>C	LDL-receptor class B5	LP, P			Schmitd 2008, Foucher 2001, Sözen 2005
13	c.1946C>T	LDL-receptor class B6	VUS, LP*			Day 1997
	c.1867_1869delATC	Veri yok ^				
15	c.2215C>T	Kümelenmiş O- bağlı oligosakkaritler	P			Yu 2002, Chiou 2010, Bertoloni 2013
17	c.2411_2412insG	Transmembran helix	P			Fouchier 2001, Yu 2002, Bertoloni 2013, Ekstrom 1998
İntron 8	c.1187-10G>A		P			Wang 2011, Punzallan 2005



Şekil 12 *Ekzon/İntron yerleşimine göre saptanan LDLR değişimleri*

Çalışmamızda yer alan olguların kliniklerine ait örnekler:

Olgu 3, babasında hiperkolesterolemi öyküsü bulunması nedeniyle 15 aylıkken yapılan tetkiklerinde LDL-K: 203 mg/dL, T-Kolesterol: 271 mg/dL saptanan, tarafımıza genetik analizi yapılmak üzere yönlendirilmiş olan olgudur. Olgunun babaannesinde hiperkolesterolemi öyküsü mevcuttur. Şu anda 5 yaşında olan kız hastanın o dönem yapılan ekokardiyografi (EKO) bulguları normaldir. En son 4 yıl önce hastanemize başvurusu olan hastanın takipleri hastanemizde devam etmemektedir.

Olgu 4, 25 yaşında karın ağrısı şikayeti ile tetkik edilirken hiperkolesterolemi saptanan 35 yaşındaki olgudur. Ara ara göğüs ağrısı ve çarpıntı şikayeti ile acil servis başvuruları bulanan olgunun EKO'sunda sol ventrikül konsantrik hipertrofisi (LVKH) saptanmıştır. Konjenital tek böbrek öyküsü olan olgu statin grubu ilaç ve ezetimib kullanmaktadır.

Olgu 5, dış merkezde 5 yaşında yapılan tetkiklerinde hiperkolesterolemi saptanması ve obezite nedeniyle hastanemize başvuran kız hastadır. O dönem VKİ:21,63 (SDS:2,87; Percentil: 99,79)'dir. Ek hastalık ve düzenli kullandığı ilaç bulunmayan hastanın diyetle yeterli kolesterol düşüşü sağlanamamıştır. Ailede 50 yaş öncesinde MI, ani kardiyak ölüm öyküsü bulunmayan olgunun 34 yaşında olan

babasının diabetes mellitus ve hiperkolesterolemi öyküsü mevcuttur. Çarpıntı, çabuk yorulma, bayılma gibi semptomlar tariflemeyen olgunun kontrol EKO'su ve batın ultrasonografisi (USG) normaldir.Olgunun babasına ait moleküler genetik test bulunmamaktadır.

Olgu 7, 28 yaş erkek olgudur. Dış merkezde yapılan tetkiklerinde LDL-K: 240 mg/dL saptanan, ailede babada hiperkolesterolemi ve erken yaş MI öyküsü olan olgu statin grubu ilaç tedavisi almaktadır. Aktif KVH ile ilişkili semptom tariflemeyen olgunun hastanemizde hiç Kardiyoloji poliklinik başvurusu bulunmamaktadır. Olgunun 2 paket/gün (paket /yıl verisi bulunmamaktadır) sigara kullanım hikayesi mevcuttur.

Olgu 9(aile II-1), Olgu 10(aile II-2), Olgu 11(aile II-3)

Olgu 9 (aile II-1), 23 yaşında kadın olgudur. Fibromusküler displazi -sol hemiparezi nedeniyle takipli olgu 8 yaşında yapılan tetkiklerinde T-Kolesterol düzeylerinin yüksek tespit edilmesi nedeniyle Çocuk Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalında izleme alınmıştır (LDL: 221mg/dL, Total kolesterol: 303 mg/dL). Ailede 50 yaş altı KAH öyküsü bulunmamaktadır. KVH'la ilişkili şikayeti olmayan hastanın EKO ve EKG değerlendirilmelerinde patolojik bulgu saptanmamış olup statin grubu ilaç ve antiagregan tedavi almaktadır. Tedavi ile LDL-K: 133 mg/dL ve T-Kolesterol: 216 mg/dL'dir. Diyet ve egzersizine uyumu suboptimaldir. Aynı varyant olgunun annesi olan **Olgu 10'da (aile II-2)** da saptanmıştır ve LDL değeri 188 mg/dL, T-Kolesterol değeri ise 269 mg/dL'dir. Ailede probandın 60 yaşında ex olan babaannesinde, 40 yaşında saptandığı belirtilen kalp kapak hastalığı öyküsü mevcuttur.

Olgu 13(aile III-1), Olgu 14(aile III-2)

Olgu 13(aile III-1), konstipasyon şikayeti nedeniyle tetkik edilirken hiperlipidemi saptanan ve Çocuk Metabolizma polikliniğine yönlendirilen 11 yaş kız olgudur. LDL-K: 196 mg/dL, T-Kolesterol: 256 mg/dL olan olgunun aynı genetik değişime sahip annesi **Olgu 14(aile III-2)**'ün LDL-K: 199 mg/dL, T-Kolesterol: 225 mg/dL'dir. Olgunun annesinin, anneannesinin, annesinin teyze ve dayısının önceden bilinen hiperkolesterolemi öyküsü mevcuttur. Kademeli genetik test kapsamında annesinden genetik test çalışılmıştır. Diğer aile bireylerinin Tıbbi Genetik poliklinik başvuruları bulunmamaktadır. İndeks olgunun EKO ve abdominal USG sonuçları

normal olup statin grubu ilaç tedavisi almaktadır. Olgu 14(aile III-2) ilaç kullanmamaktadır.

Olgu 15(aile IV-1), Olgu 16(aile IV-2), Olgu 17(aile IV-3), sırasıyla 18 yaş kız, 16 ve 15 yaş erkek olgudur. Okul taramaları sırasında 13, 11 ve 10 yaşlarında tanı almışlardır. Annelerinin babasında kalp hastalığı(?) öyküsü vardır. Babalarında hiperlipidemi öyküsü tariflenmektedir. Anne–baba arasında 3. dereceden akrabalık mevcuttur. Annelerinin ve bir kız kardeşlerinin hiperlipidemi açsısından bakılan biyokimyasal tetkikleri normal sınırlardadır. **Olgu 17**'nin **(aile IV-3)** EKO'sunda eser mitral yetmezlik saptanmıştır. Anne babasının genetik testi bulunmamaktadır.

Olgu 19(aile V-1), Olgu 20(aile V-2), Olgu 21(aile V-3), Olgu 22(aile V-4), Olgu 23(aile V-5), Olgu 24(aile V-6)

Olgu 19(aile V-1), 13 yaş kız olgudur. Ailedeki indeks vakadır. Dokuz yaşında yapılan tetkiklerinde hiperkolesterolemi saptanması nedeniyle Çocuk Metabolizma polikliniği tarafından takip edilmekte olan hastadır. Kademeli genetik tarama sonucunda 1 erkek kardeşinde, 1 kız kardeşinde ve annesinde patojenik *LDLR* gen değişimi saptanmıştır. Babasında (**Olgu 24(aile V-6))** ve kız kardeşinde (**Olgu 22(aile V-4)**) mutasyon saptanmamıştır. Annesi olan **Olgu 23(aile V-5)'ün** sistemik lupus eritematozus, sjögren sendromu, primer biliyer siroz ön tanıları ile Romatoloji polikliniğinde takip edilmekte olan olgunun metilprednisolon kullanım öyküsü bulunmaktadır. İndeks vakanın EKO bulguları normaldir. Patojenik değişimi bulunan kız kardeşi **Olgu 20'nin (aile V-2)** EKO değerlendirmesinde hafif pulmoner stenoz ve trivial mitral yetmezlik görülmüştür. Annesinin babası 49 yaşında MI nedeniyle ex olmuştur. İndeks vaka ve kız kardeşi statin grubu ilaç kullanmaktadır, diyet ve egzersiz uyumunun orta düzeyde olduğu belirtilmiştir.

Olgu 25, 10 yaşında iken dış merkezde saptanan hiperkolesterolemi nedeniyle Çocuk Metabolizma polikliniğinde takip edilmektedir. Babasında ve dedesinde hiperkolesterolemi öyküsü mevcuttur. Ailede erken yaş ASKVH yoktur. EKO bulguları normaldir. Olguya 11 yaşında statin grubu ilaç başlanmıştır.

Olgu 26, 13 yaşında kız olgudur. 3 yaşında klinik AH tanısı almıştır. Anne-baba arası akrabalık bulunmayan olgunun babasının hiperkolesterolemi öyküsü bulunmaktadır. Aktif şikayeti olmayan olgunun EKO bulgusu normaldir. Statin grubu ilaç ve ezetimib kullanmaktadır.

Olgu 27(aile VI-1), Olgu 28(aile VI-2)

Olgu 28(aile VI-2), 17 yaş kız olgu 13 yaşındayken hiperkolesterolemi saptanmasıyla Çocuk Metabolizma polikliniği tarafından takip edilmektedir. Babasında, amcasında ve babaannesinde hiperkolesterolemi hikayesi mevcuttur. Ailede erken yaş ASKVH hikayesi bulunmamaktadır. EKO'sunda düzleşme tipi mitral kapak prolapsusu, minimal mitral yetmezlik olan olgunun 9 yaşında tanı alan şu an 13 yaşında olan kız kardeşi **Olgu 27(aile VI-1)**'nin EKO sonucu normal olarak değerlendirilmiştir. Anne babasının genetik testi bulunmamaktadır.

Olgu 31, 20 yaşında kadın hastadır. *LDLR* geni homozigot, VUS, c.829G>A varyantını taşımaktadır. Beş yaşından beri HoAH tanısıyla dış merkezde izlenmektedir. Hipertansiyon, DM gibi ek patolojileri olmayan olguya aort darlığı nedeniyle kapak replasmanı yapılmıştır. EKO'sunda valvuler aort stenozu, aort yetmezliği (1^0-2^0), sol ventrikül konsantrik hipertrofisi, triküspit yetmezlik (1^0), hafif valvüler pulmoner stenoz, sol koroner arter ostium bölgesinde mozaiklenme görülen hastaya 3 yıl önce aort kapak replasmanı yapılmıştır. Olgunun son yapılan EKO'sunda (2022) prostetik kapakta orta derecede darlık, minimal aort yetmezliği, sol ventrikül konsantrik hipertrofisi, mitral valve prolapsusu ve 1^0-2^0 mitral yetmezlik mevcuttur. Ellerinde ve dirseklerinde ksantomları bulunmaktadır. LDL-K ve T-Kolesterol değerleri sırasıyla 539 ve 653 mg/dL'dir. Kumadin, asetil salisilik asit, karvedilol, statin grubu ilaç ve ezetimib kullanım öyküsü bulunmaktadır. Ayrıca yoğun lipid aferezi tedavisine ihtiyaç duymaktadır. Anne-baba arası akrabalık bulunmayan olgunun anneannesi ve dedesinin hiperkolesterolemi öyküsü bulunmaktadır.

Olgu 32, 10 yaş erkek çocuktur. Babası ve halası hiperkolesterolemi nedeniyle takip edilen olgunun babaannesinin 36 yaşında koroner bypass operasyon öyküsü mevcuttur. Aktif şikayeti olmayan olgunun EKO sonucu normaldir ve statin grubu ilaç kullanmaktadır.

Olgu 36(aile VII-1), Olgu 37(aile VII-2)

Olgu 36(aile VII-1), 14 yaşında taramada ortaya çıkan hiperlipidemisi olan 16 yaş erkek olgudur. Anne ve anneannesinde hiperlipidemi, annede anjiografi, annesinin babasında 63 yaşında MI ve anne tarafında MI nedenli ex hikayeleri bulunmaktadır. Aynı şekilde 13 yaş erkek kardeşinin **(Olgu 37(aile VII-2))** 11 yaşında taramada saptanan hiperkolesterolemisi bulunmaktadır. Olgu 36(aile VII-1)'nın ilk saptanan

LDL-K: 237 mg/dL, Olgu 37(aile VII-2)'nin ise LDL-K: 276 mg/dL'dir. Olguların hastanemizde kardiyoloji takipleri bulunmamaktadır.

Olgu 38 (aile VIII-1), Olgu 39 (aile VIII-2), Olgu 40 (aile VIII-3), Olgu 41 (aile VIII-4)

Olgu 38 (aile VIII-1), okul taramasında 7 yaşında iken tespit edilen hiperlipidemi nedeniyle Çocuk Metabolizma polikliniğine yönlendirilen 10 yaş erkek olgudur. Bakılan LDL-K: 197 mg/dL ve T-Kolesterol: 271 mg/dL'dir. Babasının, dedesinin ve babaannesinin kolesterol yükseklik öyküsü bulunan olgunun babasının 46 yaşında MI ve anjiografi öyküsü mevcuttur. Kardeşi olan **Olgu 39 (aile VIII-2)** 20 yaşındadır ve LDL-K: 215 mg/dL ve T-Kolesterol: 304 mg/dL'dir ve AH tanısını kademeli tarama sonucunda almıştır. Elli yaşında olan babası **Olgu 40'ın (aile VIII-3)** statin grubu ilaç kullanıyorken bakılan LDL-K: 162 mg/dL ve T-Kolesterol: 237' mg/dL'dir ve genetik tanısını 48 yaşında kademeli tarama sonucunda almıştır. Olgunun annesinin kademeli genetik değerlendirme kapsamında yapılan moleküler analizinde patojenik değişim bulunmamaktadır ve biyokimyasal lipid profili normal sınırlardadır.

Olgu 43, 9 yaşında obezite nedeniyle takip edilen kız olgu hiperlipidemi saptanması sonucu Tıbbi Genetik polikliniğine yönlendirilmiştir. Ailede babada hiperlipidemi ve dedede erken yaş MI öyküsü bulunmaktadır.

Olgu 48(aile IX-1), Olgu 50(aile IX-3), Olgu 25

Olgu 48(aile IX-1), 8 yaşında kız olgudur. Beş yaşında rutin kontrolleri sırasında tesadüfen saptanan hiperkolesterolemi nedeniyle takip edilen hastanın babasında ve ablasında hiperlipidemi öyküsü bulunmaktadır. Babası (42 yaş) **Olgu 50(aile IX-3)**'nin genetik tanısı bulunmaktadır ancak ablasının ve hiperkolesterolemi öyküsü olan diğer aile bireylerinin Tıbbi Genetik poliklinik başvurusu bulunmamaktadır. Statin tedavisi alan Olgu 48'in aktif şikayeti bulunmamaktadır ve EKO sonucu normaldir. Hiperkolesterolemisi bulunan ablası 14 yaşındadır, genetik testi bulunmamaktadır. Babasının ise hastanemizde çalışılmış biyokimyasal tetkiki ve kardiyoloji poliklinik başvurusu bulunmamaktadır. Annesinin **(Olgu 49(aile IX-2))** biyokimyasal lipid değerleri normaldir**.** Babaannesinde, halasında ve halasının iki erkek çocuğunda hiperkolesterolemi öyküsü mevcuttur ancak hastanemizde çalışılmış genetik testi bulunmamaktadır.

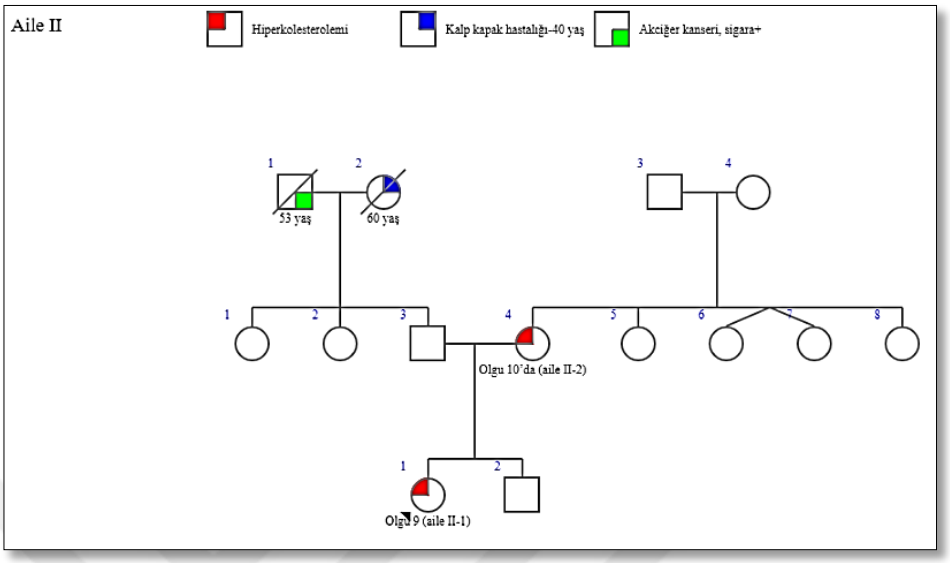
Olgu 51, 5 yaş kız olgudur. Dört yaşında rutin taramalarda hiperkolesterolemi saptanmıştır. Ailede annesinde tipII-a hiperkolesterolemi tanısı mevcuttur. EKO bulguları normaldir.

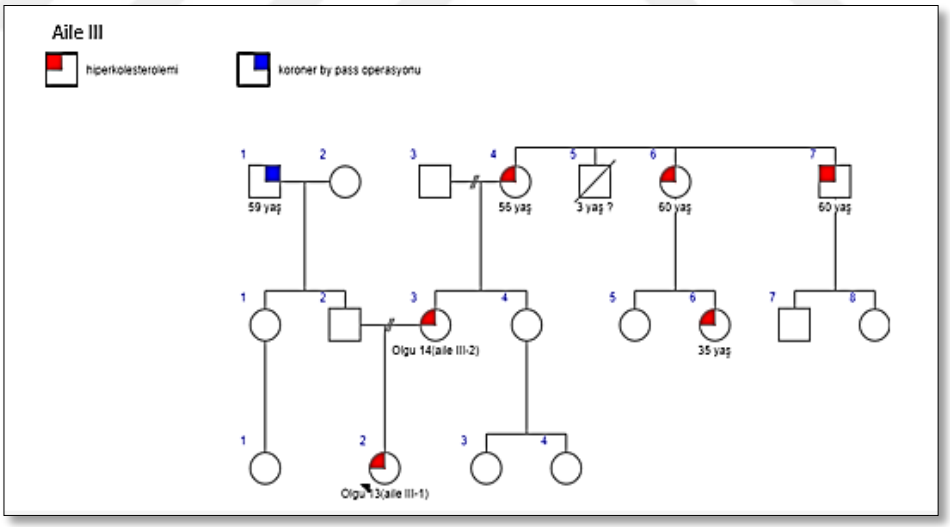
Olgu 52, 15 yaşında erkek olgudur. Olgu 31'de homozigot saptanan c.829G>A değişimi bu olgumuzda heterozigot olarak görülmektedir. Ağız içi yaralar(?) nedeniyle tetkik edilirken tesadüfen saptanan hiperkolesterolemisi bulunan olgu genetik moleküler tetkikleri için tarafımıza yönlendirilmiştir. Kardiyovasküler semptom tariflemeyen olgunun kardiyolojik muayenesini normaldir. Ailede dayısında ve anneannesinde koroner by-pass cerrahi öyküsü bulunmaktadır. Aileye tarama önerilmiştir ancak başvuruları bulunmamaktadır.

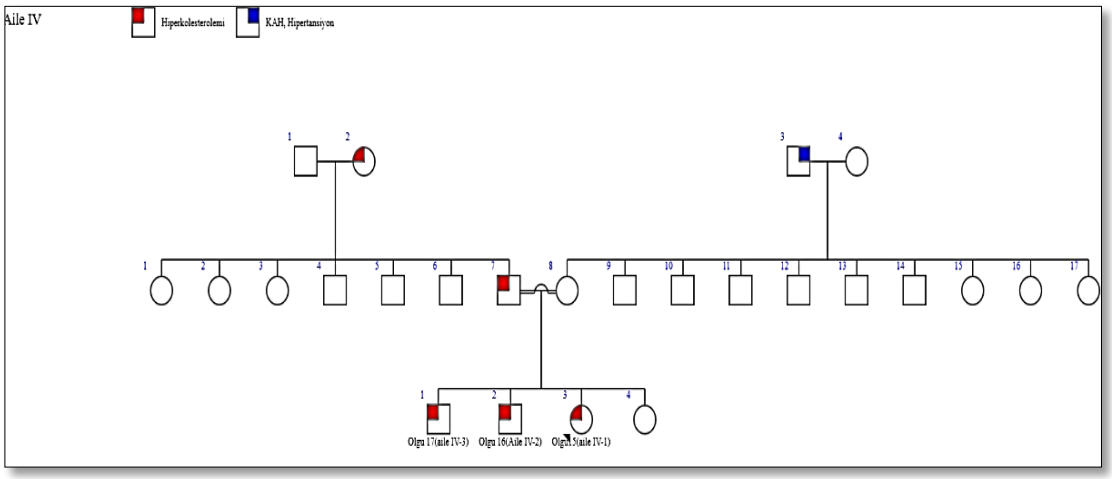
Olgu 53, dış merkezde 8 yaşındayken kolesterol yüksekliği saptanması nedeniyle takip edilen olgudur. Hastanemizde bakılan LDL-K: 230 mg/dl, T-Kolesterol değeri: 312 mg/dl'dir. *LDLR* geni 4.ekzonda patojenik değişim bulunan tek olgudur.

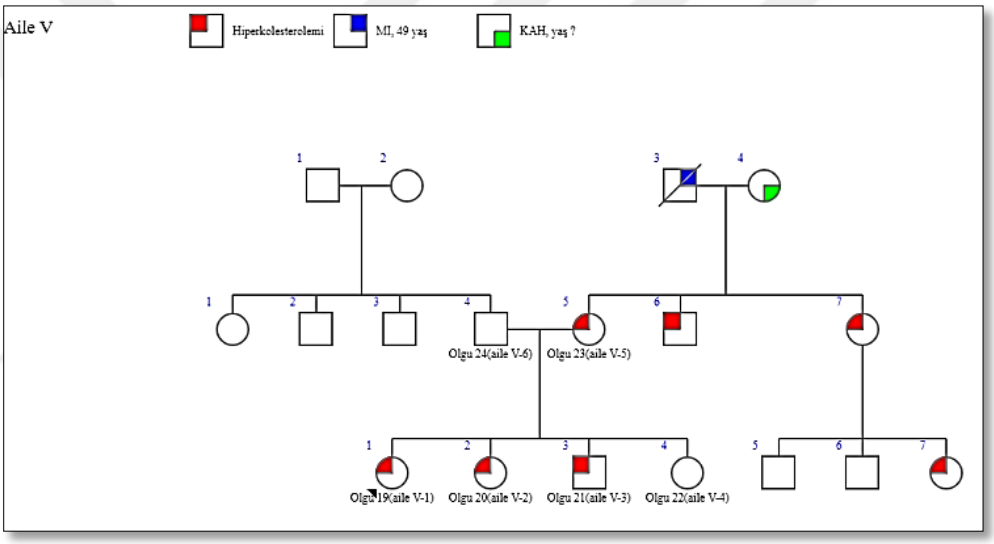
Olgu 54, 19 yaşında kadın olgudur. *LDLRAP1* geninin 4. intron "Splice Acceptor" bölgesinde patojenik, homozigot c.460-1G>A (chr1:25889134) mutasyonu saptanmıştır. Öncesinde bilinen kronik bir hastalığı olmayan olgu akut apandisit operasyonu geçirmiştir. Böbrek fonksiyon değerlerinde yükseklik saptanması nedeniyle çocuk nefroloji polikliniğinde takip edilmiş; yapılan böbrek biyopsisi C3 glomerulonefriti ile uyumlu gelen olgu hastalığına yönelik tedaviler ve pulse steroid tedavisi almıştır. Altı aydır kilo kaybı, iştahsızlık ve sedimantasyon yüksekliği de bulunan olgudan istenen batın BT sonucu abdominal aorta çapında çölyak arter çıkım düzeyinde hafif dilatasyon ve bu düzey distalinde duvarda kalsifik ve nonkalsifiye plak ve mural trombüs formasyonları görülmüş ve hastanın yapılan tetkiklerinde hiperlipidemi saptanması nedeniyle Çocuk Metabolizma polikliniği tarafından takibe alınmıştır. Olgunun tedavi öncesi ilk bakılan LDL-K: 510 mg/dL ve T-Kolesterol: 604 mg/dL'dir. Anne-baba arasında 3. derece akrabalık bulunan olgunun 15 ve 17 yaşlarında sağ /sağlıklı 2 kız kardeşi bulunmaktadır. Ailede erken yaş ASKVH ve hiperlipidemi tariflemeyen olgunun EKG sonuçları normaldir. Transtorasik EKO'sunda hafif aort stenozu saptanmıştır. Olgu statin grubu ilaç ve ezetimib tedavisi almaktadır. Son bakılan LDL-K ve T-Kolesterol değerleri sırasıyla 219 mg/dL ve 286

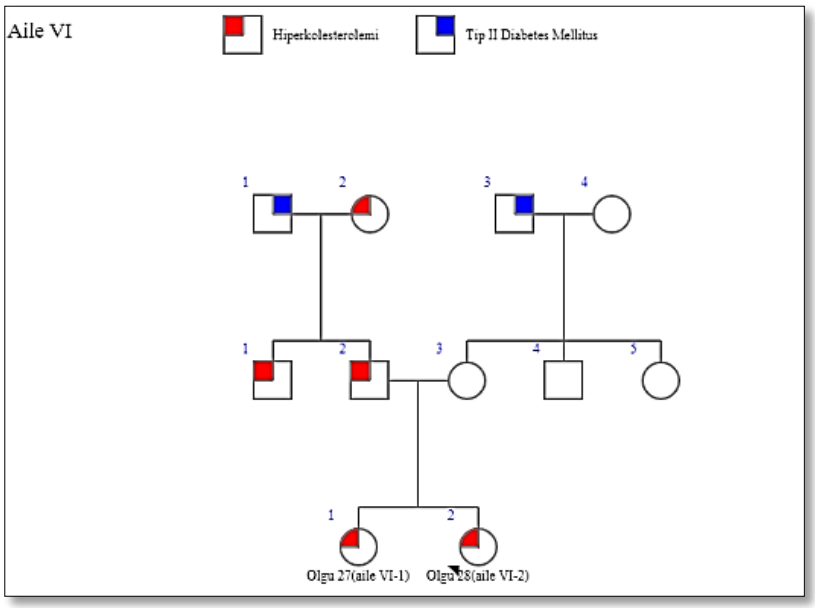
mg/dL'dir. Genetik danışmanlık eşliğinde sonucu teslim edilen olguya aile taraması önerilmiştir.

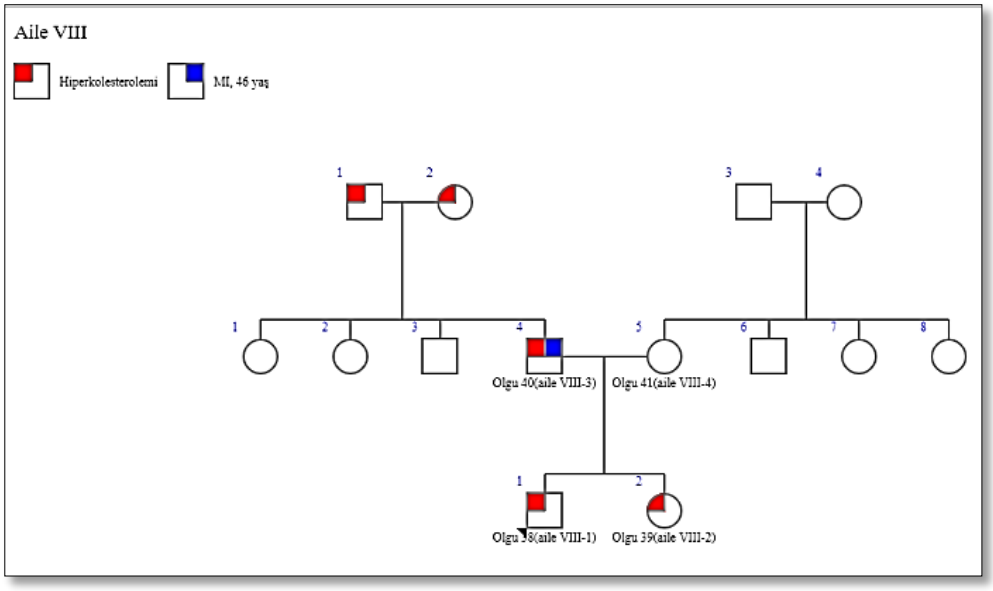


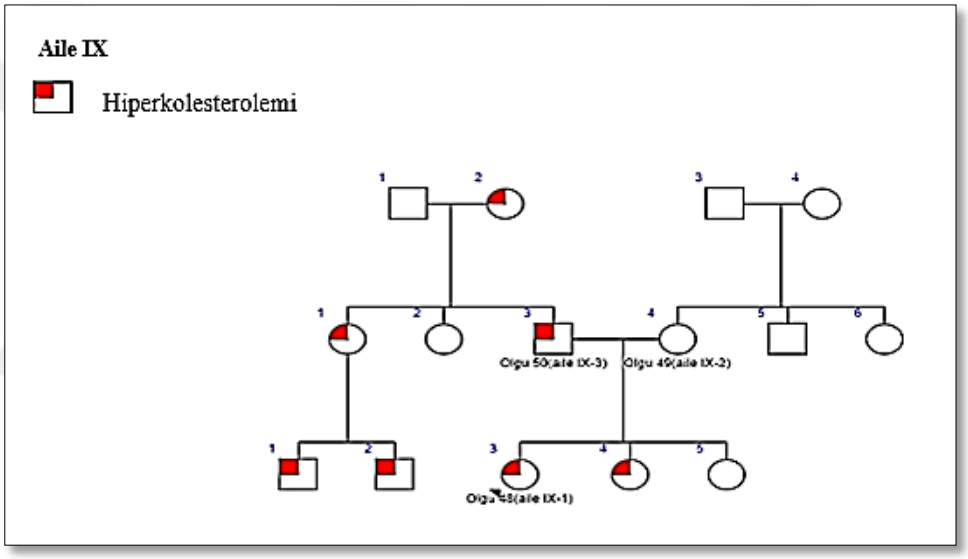


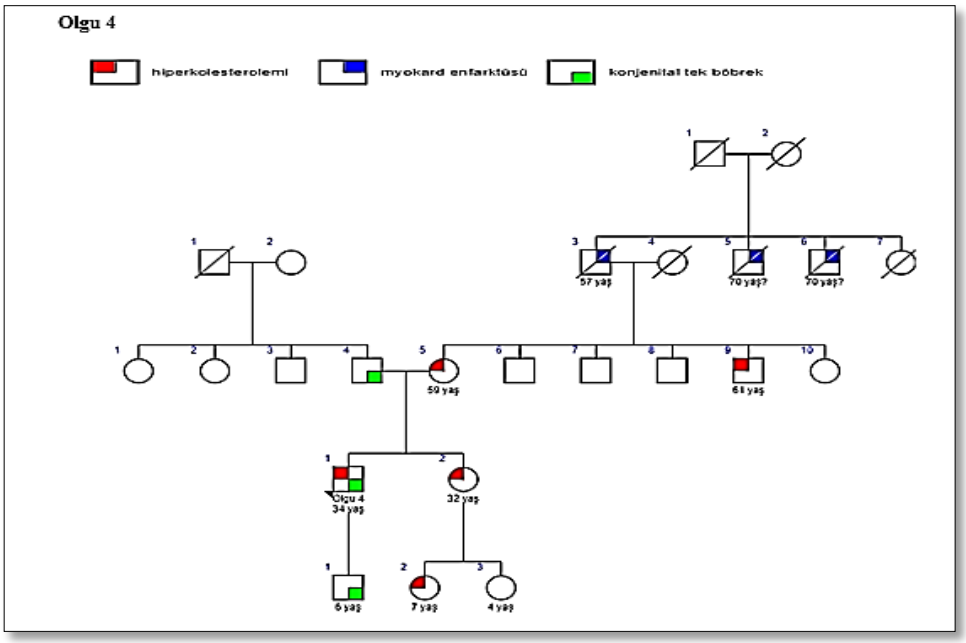

Aile IV
Hiperkolesterolemi
KAH, Hipertansiyon
Olgu 17(aile IV-3)
Olgu 16(Aile IV-2)
Olgu 15(aile IV-1)

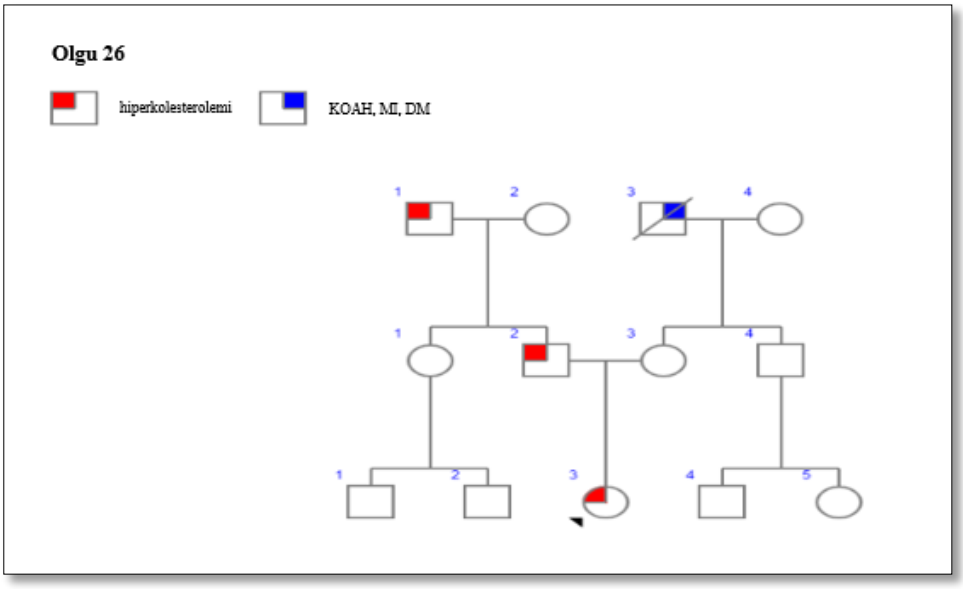

Aile V
Hiperkolesterolemi
MI, 49 yaş
KAH, yaş ?
Olgu 24(aile V-6)
Olgu 23(aile V-5)
Olgu 19(aile V-1)
Olgu 20(aile V-2)
Olgu 21(aile V-3)
Olgu 22(aile V-4)

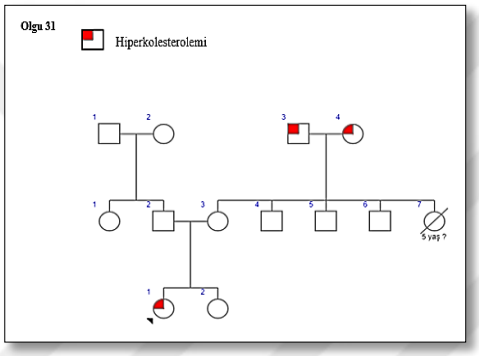

Aile VI
Hiperkolesterolemi
Tip II Diabetes Mellitus
Olgu 27(aile VI-1)
Olgu 28(aile VI-2)

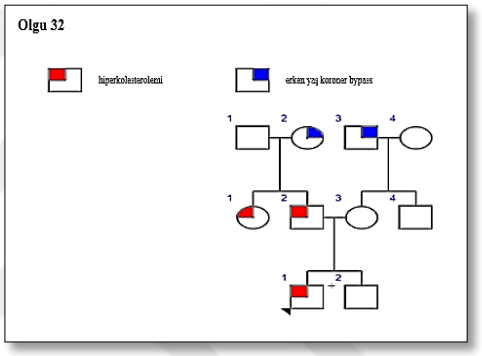

Aile VIII
Hiperkolesterolemi
MI, 46 yaş
Olgu 40(aile VIII-3)
Olgu 41(aile VIII-4)
Olgu 38(aile VIII-1)
Olgu 39(aile VIII-2)

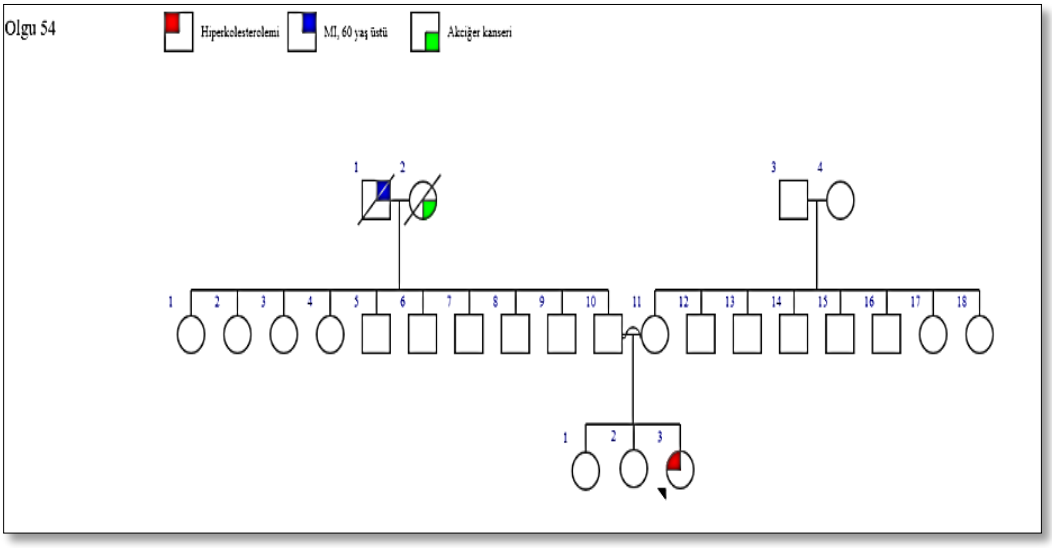

Aile IX
Hiperkolesterolemi
Olgu 50(aile IX-3)
Olgu 49(aile IX-2)
Olgu 48(aile IX-1)


Olgu 4
hiperkolesterolemi
myokard enfarktüsü
konjenital tek böbrek
57 yaş
70 yaş?
70 yaş?
59 yaş
61 yaş
Olgu 4
34 yaş
32 yaş
6 yaş
7 yaş
4 yaş


Olgu 26
hiperkolesterolemi
KOAH, MI, DM


Olgu 31
Hiperkolesterolemi
5 yaş ?


Olgu 32
hiperkolesterolemi
erkek yaş koroner bypass


Olgu 54
Hiperkolesterolemi
MI, 60 yaş üstü
Akciğer kanseri

5. TARTIŞMA

Tarihsel olarak AH sıklığı heterozigot taşıyıcılar için 1:500, homozigot taşıyıcılar için 1:1.000.000 olarak bildirilse de kurucu etkilere bağlı olarak Fransız kökenli Kanadalılar, Güney Afrikalı Afrikalılar ve Hristiyan Lübnanlılar gibi bazı spesifik toplumlarda çok daha yüksek olduğu düşünülmektedir. Dutch Lipid kriterleri kullanılarak yapılan genel popülasyon çalışmalarıyla HeAH için sıklık 1:200 ve moleküler olarak tanımlanmış HeAH için ise sıklık 1:244 gibi yüksek bir değerde saptanabilmektedir. Bu verilere göre HoAH 1:160.000-300.000 kişiyi etkiliyor olabilir(59,82). Avrupa'da 60 yaşından önce MI geçiren ve hayatta kalan 500 olgu üzerinde yapılan bir çalışmada hastaların %4-5'nin HeAH olduğu bildirilmiştir(138).

Gerçek AH tanılı hastaların HeAH için bildirilen 1/200 ve 1/500 arasındaki prevalans oranlarının karşılaştırılmasına dayanarak yapılan bir analizde aşağıda belirtilen birkaç istisna ülke haricinde çoğu ülkede AH vakalarının %1'inden azına teşhis konulduğu tahmin edilmektedir. Hollanda'da %71, Norveç'te %43, İzlanda'da %19, İsviçre'de %13, Birleşik Krallık'ta %12 ve İspanya'da %6'sı tanı almıştır(139).

Nadir varyant ilişkilendirme çalışmalarında (RVAS), LDLr proteinini inaktive eden yanlış anlamlı, kırpılma bölgesi yada indel çerçeve kayması varyantları gibi fonksiyon kaybettirici değişimlerin missense alel taşıyıcılarındaki 1,7 katlık MI risk artışına karşılık MI riskini 18,1 kat arttırdığı görülmüştür(140). Deneysel veriler dikkate alındığında, nadir *LDLR* aleli taşıyıcılarının riski, yüksek LDL-K için 4,5 ila 25,3 kat ve erken başlangıçlı MI için 2,1 ila 20 kat arasında tanımlanmaktadır(141).

LDLR gen mutasyonlarında gen ve fonksiyonu arasında bir doz yanıt ilişkisi olduğundan reseptör aktivitesini bozan ancak tamamen ortadan kaldırmayan mutasyonlar daha orta derecede artmış LDL-K, daha geç görülen MI ve tedavilere daha iyi yanıt veren bir fenotiple sonuçlanır, ancak AH mutantlarını karakterize etmek için biyokimyasal testler düşük verimlidir ve klinik bakımda rutin olarak uygulanamamaktadır(142,143).

HeAH ve sıklıkla da HoAH genç yaşlardan itibaren kişinin yaşam beklentisini kısaltmaktadır. Kalıtsal doğası , erken semptomlarının olmaması ,uzun vadeli yaşam tarzı değişikliklerine ve uzun süreli farmakoterapiye ihtiyaç duyulması nedeniyle aileler ve kişiler için AH maddi ve manevi zorlayıcı bir hastalıktır(127). Erken tanı ve

yaşam tarzı değişikleriyle birlikte uygun tedavi ve düzenli takip LDL-K'nin yaratacağı tahribat ve hastalığın yaşam boyu yükünü azaltmak için en uygun yaklaşım olacaktır.

Avrupa Ateroskleroz Topluluğu AH Çalışmaları İş birliği (EAS-FHSC) AH'nin halen tanı ve tedavisinin yetersiz olduğunu bildirmekte ve AH hastaları için standartlaştırılmış bir kayıt sisteminin ve tek tip bir kanıta dayalı bakım standardının oluşturulmasını; AH'nin taranması takip ve tedavisi için küresel sağlık politikalarında gerekli düzenlenmelerin yapılmasını teşvik etmeyi amaçlamaktadır.

Moleküler değişiminin özelliğinin hiperkolesteroleminin ciddiyeti üzerinde bir miktar etkisi olsa da, aynı *LDLR* mutasyonuna sahip AH heterozigotları, çok farklı plazma LDL-K seviyelerine sahip olabilir(76).

AH hastalarının tespiti için geliştirilmiş olan çeşitli tanı kriterleri (Dutch lipid klinik kriterleri, Simon Broome kriterleri, Med-Ped kriterleri gibi…) genetik testlere erişim sınırlı olduğunda moleküler testlerden en çok yararlanabilecek kişileri belirlemek için ilk adım olarak kullanılabilirler. Tüm bu tanı kriterlerinin tahmin değerleri genel olarak nispeten benzerdir. Yüksek özgüllüğe ancak düşük duyarlılığa sahip olma eğilimindedirler ve birbirlerine üstünlükleri konusunda fikir birliği yoktur(144).

Genetik testlere erişim dünyanın birçok yerinde kısıtlıdır. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki "AH Farkındalık ve Tespiti için Kademeli Tarama" verileri, klinik AH tanılı bireylerin yalnızca %3,9'unda genetik testlerin yapıldığını göstermiştir(145).

Genetik kademeli taramanın oldukça başarılı olduğu Hollanda'da ise indeks başına düşen AH tanısı alan akraba sayısı 2 ile 8 kişi arasında değişmektedir(146).

Sadece LDL-K seviyeleri kullanılarak yapılan kademeli taramada, *LDLR* mutasyonları olan ancak orta derecede yüksek LDL-K'ye sahip akrabaların yaklaşık %20'sinin atlanabileceği tahmin edilmektedir(147).

AH probandının teşhisinde kullanılan T-Kolesterol ve LDL-K eşikleri, birinci derece bir akrabada AH'ye sahip olma olasılığının daha yüksek olması nedeniyle, aile taramasında akrabalar için kullanılmaz. Genetik temelin bilinmediği AH ailelerinde akrabaların tanısında yaşa ve cinsiyete özgü geliştirilen LDL-K eşikleri kademeli taramada kullanılabilir(148). Etkilenen ebeveynde bir genetik bozukluk

tanımlanmışsa, çocuk için ve genetik test için önerilen tanısal LDL-K düzeyi ≥135 mg/dL'dir (3,5 mmol/L).

AH hastaları arasında genetik tanının konmasının kişinin motivasyonunu ve tedaviye bağlılığını artırdığı gösterilmiştir. Hollanda' da yapılan bir çalışmada 237 heterozigot AH hastasının 5442 akrabası kolesterol değerleri ve moleküler genetik testler kullanılarak taranmıştır. Çalışma sonucunda sadece kolesterol değerleri baz alınarak taranmış olsalardı bu hastaların %18'lik kısmının tanısının atlanabileceği sonucu çıkarılmıştır. İndeks olgu başına yaklaşık 20 akrabaya ulaşılmış ve 8 akrabada patojenik genetik değişim tespit edilmiştir (147). Çalışmamızda yer alan 9 aileden aile başına genetik test için başvuran ortalama kişi sayısı 2'dir. Çekirdek aile grubu göz önüne alındığında aile başına ortalama 4 bireyin başvurması beklenmektedir. Başvurunun yetersizliği biyokimyasal değerlerin normal olması nedeniyle test istenmemesinden, danışanların test yaptırmayı reddetmesinden, genetik danışmanın yetersiz kalmasından ya da pandemi nedeniyle hastane başvurularının aksamasından kaynaklanıyor olabilir.

Tarda ve ark'nın çalışmasında 636 ciddi hiperkolesterolemili olgunun AH ilişkili genlerinin (*LDLR, APOB, PCSK9, LDLRAP1)* dizilemesi yapılmıştır. Hastalar farklı gruplar altında değerlendirildiğinde; mutasyonu olmayan ve klinik olarak da AH olmayan referans grupla karşılaştırıldığında AH kliniği olan ya da mutasyonu olanlarda KAH geliştirme riski 3-4 kat iken; hem klinik bulguları olan (ksantom ve /veya aile hikayesi) hem de mutasyonu olanlarda bu risk 11 kat olarak bildirilmiştir (Odds oranı [OR], 4.6; %95 güven aralığı [CI], 1,5–14,5; p= 0.0011 ve OR, 3.4; %95 CI, 1.0–10.9; p = 0.0047, sırasıyla)(149).

Yapılan çalışmalarda KAH riskinin LDL-K seviyelerinden bağımsız olarak *LDLR* mutasyon taşıyıcılarında anlamlı olarak ek bir risk artışına neden olduğu bildirilmektedir. Nordestgaard ve ark'nın yaptığı bir çalışmada *LDLR* gen mutasyonu taşıyıcılarının KAH açısından 3.3 kat risk artışına sahip olduğu bildirilirken başka bir çalışmada LDL-K seviyeleri 190-220 mg/dL aralığında olan ve mutasyon taşımayan ve taşıyan grup arasındaki koroner hastalığı risk artışı sırasıyla 5,2 kat ve 17 kat olarak bildirilmiştir(150).

AH hastalarında mutasyon saptama oranları %30-70 aralığında değişmektedir. Çalışmanın yapılacağı hasta grubunun şeçimi mutasyon saptama oranlarının geniş bir

aralığa yayılmasına neden olmaktadır. Bizim çalışmamızda da mutasyon saptama oranı %66,1'dir. Aile taraması kapsamında çalışılan fenotip ve genotip negatif grubu hariç tuttuğumuzda bu oran %74'e çıkmaktadır. Mutasyon saptama oranının yüksekliğinin hasta grubunun biyokimyasal verilerine ve aile öykülerine göre seçilmesinden ayrıca kademeli genetik tarama ile aile bireylerinin çalışmaya dahil edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

2005 yılında İngiliz Kalp Birliğinin 1707 AH hastasının *LDLR* mutasyonlarını incelediği bir çalışmada mutasyon saptanma oranları 4. ve 9. ekzonlarda daha yüksek olarak görülmüştür(151). Türkiye'den yapılan iki çalışmada en sık mutasyon görülen ekzon 12. ekzon olarak bildirilmiştir(133,136). Bizim çalışmamızda en sık varyantlar *LDLR* geninin 11 ve 12. ekzonlarında bulunmaktadır.

AH hastalarında mutasyonlar *LDLR* geninde %75-90 oranında heterozigot olarak görülmektedir. Bizim olgu grubumuzun çelişkili bildirimleri olan 1 VUS varyantı hariç tamamı heterozigottur.

Çalışmamızda olguların %33,9'unda LP/P değişim saptanmamıştır. Olguların %23'ü genotip negatif ancak fenotip pozitiftir. Mutasyon saptanamayan bu grubun %15'lik *LDLR* gen kopya sayısı varyantları açısından MLPA gibi farklı bir yöntemle ile değerlendirilmesi uygundur. Del/dup saptanmaması durumunda poligenik kalıtım, henüz keşfedilmemiş yeni genler, sitosterolemia veya lizozomal asit lipaz eksikliği gibi fenokopik durumların düşünülmesi önerilmektedir. Çalışmamızda kullandığımız hiperlipidemi panelinde ilişkili fenokopik durumlarla ilgili *LIPA, ABCG5* ve *ABCG8* genleri bulunmaktadır ve bu genlerde LP/P değişim bulunmamaktadır. *ABCG5* geninde 2 olguda, *ABCG8* geninde 1 olguda heterozigot VUS değişim saptanmıştır. Bu hastalıkların kalıtım paterni resesiftir ve bu genler için şu an için bildirilmiş del/dup'a sahip vaka bulunmamaktadır.

Çalışmamızda LP/P değişimi olan olguların %67'si kolesterol düşürücü ilaç kullanırken %33'ü ilaç kullanmamaktadır. Mutasyon saptanmayan ve kolesterol değerleri yüksek olan olguların %54'ü ilaç kullanmamaktadır. LP/P değişim saptanan ve ilaç kullanmayan gruptaki 3 olgu henüz ilaç başlama yaşına gelmemiştir. Bu grup hariç tutulduğunda LP/P değişimi olan olguların %76'sının ilaç kullandığı görülmektedir. Hastaların genetik tanılarının konmasının ilaca uyum sağlamada pozitif yönde etkisinin olduğu bilinmektedir. Çalışmamız da bu veriyi destekler niteliktedir.

Diğer olguların pandemi nedeniyle takiplerini aksattıkları için ya da kendilerinin ilaç kullanmak istemedikleri için tedavi olmadıkları bilgisi bulunmaktadır.

İki olgumuzun lipid değerleri klinik homozigot AH ile uyumludur. Olgu 34, 2 yaşında klinik tanı almış 5 yaşındaki erkek çocuktur, aktif KVH şikayeti bulunmamaktadır ve EKO bulgusu normaldir. Olgu 31 ise 5 yaşında tanı almış olan 19 yaşındaki olgudur ve aort stenozu nedeniyle opere olmuştur ve şu anda prostetik kapağında da darlık mevcuttur. Olgu 34'ün hiperlipidemi panel sonucu normaldir. Olgu 31 ile ilgili tartışma aşağıda varyant tartışmaları bölümünde yer almaktadır. Olgu 34 ve 31 için del/dup varlığı, poligenik nedenler ya da keşfedilmemiş yeni genlerin olasılığı düşünülse de Olgu 31 için del/dup varlığı lehine şüphelerimiz ağır basmaktadır. Olgulara genetik danışmaları verilmiş ve eksik olan genetik testleri açısından diğer genetik değerlendirme merkezlerine başvurmaları önerilmiştir.

Çocuklarda 2 yaşında lipid değerlerinin ölçülmesi öneriliyor olsa da akraba olmayan 2 bağımsız indeks olgumuzda **(Olgu 2 ve Olgu 3)** 9 ay ve 15 aylık iken yapılan ölçümlerinde hiperkolesterolemi saptanmış, ailelerinde hiperkolesterolemi öyküsü de bulunan olgular AH tanısı ile takibe alınmıştır. Şu an 5 yaşında olan olguların ikisinin de muhtemel patojenik *LDLR* değişimleri mevcuttur.

Finlandiya'dan yayınlanan bir vaka raporu AH hastalığı ile ilgili ilginç bir duruma dikkat çekmiştir. Hepatik epiteloid hemanjiyoblastom nedeniyle allograft karaciğer transplantasyonu yapılan, öncesinde normal karaciğer fonksiyonları olan, 42 yaşındaki kadın hastanın plazma T-Kolesterol seviyeleri altı aylık izlem sürecinde 217 mg/dL'den 452 mg/dL'ye çıkmıştır. Önceleri bu artış transplantasyon sonrası kullanılan immunsupresif tedaviye bağlansa da ikili lipid düşürücü tedaviye direnç göstermesi nedeniyle hastadan önce periferal kanından, ardından da karaciğer biyopsisi ile elde edilen DNA'dan *LDLR* geni sekanslanmış ve intron 9'da (IVS9-1, hg-19, kromozom 19:11224210, rs1396117694) heterozigot, patojenik kırpılma bölgesi mutasyonu tespit edilmiştir. Donörün daha önce sağlıklı olan ve travmatik beyin içi kanamadan ölen 25 yaşındaki bir erkek olduğu, tek tıbbi kaydının ise önceki bir pilonidal sinüs ameliyatı olduğu; makrovasküler hastalık belirtisinin olmadığı ve kalbinin de nakil için kullanıldığı bildirilmiştir. Bu vaka genetik testlerin tıbbın her alanındaki önemine ve uygulanabilirliğine dikkat çekmesi açısından da önemlidir(152). Bu vaka az karşılaşılacak bir örnek olsa da kolesterol yüksekliğinin

kullanılan medikal tedavilere bağlanmadan önce hekimlerin AH'i akıllarında tutmaları açısından yol gösterici olabilir. Çalışmamızda 2 olgunun **(Olgu 54 ve Olgu 23(aile V-5)** hiperkolesterolemiye neden olabilecek medikal tedavi aldıkları, dislipidemilerin sekonder nedenlerinden olan nefrotik sendrom ve kronik enflamatuvar hastalıklar açısından takip edildikleri bilgisi mevcuttur. **Olgu 54**'ün *LDLRAP1* geninde homozigot patojenik, **Olgu 23**'ün ise *LDLR* geninde heterozigot patojenik değişimi mevcuttur.

LDLR geninde saptanan değişimler ve seçili olguların genotipik özelliklerine ait tartışma aşağıda yer almaktadır.

12. ekzon, c.1729T>C(Trp577Arg) varyantı

Aynı pozisyondaki diğer varyantlar da patojenik olarak tanımlanmıştır (Trp577Cys, Trp577Gly, Trp577Ser). W556R değişimi olarak da bildirilmiştir. W556 rezidüsü, EGF domaininde oldukça korunmuş bir kalıntıdır. Daha önce Danimarkalı ve Rus hastalarda bildirilmiş olan bir değişimdir (Jensen ve ark, 1997; Hobbs ve ark, 1992). İlk kez 2000 yılında bir Türk hastada homozigot olarak bildirilmiştir. Beş yaşında tanı aldığı bildirilen hastanın T-Kolesterol ve LDL-K değerleri sırasıyla 780 ve 738 mg/dL'dir. Dört yaşında MI nedeniyle ex olan bir kız kardeşi bulunan olgunun anne babası akrabadır. Diyet, statinler, kolestipol ve LDL-aferez kombinasyonu ile yoğun tedavi müdahalelerine rağmen hastanın 16 yaşında semptomatik KAH geliştirmiş ve ciddi KAH olan olguya karaciğer transplantasyonu gerekmiştir(153).

Klinik AH tanılı *LDLR* gen varyantlarının araştırıldığı 104 vakalık bir Türk hasta grubunda 9 hastada en sık bildirilen ve kurucu etkili bir varyant olabileceği değerlendirilmiş olan bir varyanttır. Varyantı heterozigot olarak taşıyan olguların T-Kolesterol: 332,66 ± 48,12 ve LDL-K: 264,33 ± 40,49 mg/dL olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da olguların tamamı heterozigottur ve T-Kolesterol ve LDL-K düzeyleri sırasıyla 284,33 ± 51,44ve 216 ,66± 41,18 mg/dL'dir. Yine farklı iki Türk popülasyon grubunda 7 olguda ve 6 olguda en sık değişim olarak bildirilmiştir(5,133,136). Sözen ve ark.'nın çalışmasında varyant olgularda homozigot olarak bildirilmiş ve ağır KVH fenotipi gösterdikleri vurgulanmıştır.

LDLr proteini üzerindeki fenotipik etkilerine göre, *LDLR* mutasyonları beş farklı sınıfa ayrılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre Trp577Arg varyantı sınıf 2'de (defektif

LDLr transportu) yer almaktadır. Bu varyant İran'dan yapılan bir çalışmada 3 hastada homozigot olarak bildirilmiştir. Çalışmada varyantın Türk popülasyonunda sık görüldüğü vurgulanarak, coğrafi ve kültürel yakın ilişkisi olan Türk ve İran toplumlarının ortak kurucu genetik etkiler altında olabileceği çalışmada belirtilmiştir. Saptanan olguların tamamı nüfusunun %74'ü Türkmen olan (Türk kökenli) İran'ın Türkmenistan sırındaki bir bölgedendir(154).

Hem LDLr defekti sınıfının hem de mutasyonun bir yandan hiperkolesteroleminin ciddiyetini ve diğer yandan ilaç tedavisine yanıtı etkilemesi beklenebilir. Bu soruyu açıklığa kavuşturmak için *LDLR* p.W556R değişiminin etkisini araştıran bir vaka raporunda, homozigot p.W556R değişimine sahip ikizleri olan Türk kökenli bir ailede, heterozigot olarak değişimi taşıyan baba ve annenin simvastatin grubu ilaç 40 mg/ezetimib 10 mg ile tedaviye fazlasıyla iyi yanıt verdiği (LDL-K'de sırasıyla %55 ve %64 azalma) buna karşılık, ortalama olarak LDL aferezi uygulanan etkilenen iki homozigot p.W556R AH hastasında statine yanıt olmadığı, ancak ilginç şekilde ezetimib monoterapisiyle %15'lik bir LDL-K düşüşü sağlandığı bildirilmiştir(155).

Türkiye'de en sık *LDLR* gen mutasyonlarının 4, 9 ve 12. ekzonlarda görüldüğü belirtilmektedir(79). Sözen ve ark'nın 2005'te yayınladıkları çalışmalarında 37 hastanın mutasyon analizleri değerlendirilmiş ve mutasyonların %21,4 oranında 12. ekzonda kümelendiği görülmüştür. Bizim çalışmamızda 12. ekzon mutasyon saptanan ikinci en sık ekzondur ve 6 olguda bulunmaktadır. Bu olguların 3'ü birbiri ile akrabalık bağı olmayan indeks vakalardır. Olguların tamamı heterozigottur. Aktif KVH şikayetleri bulunmamaktadır. İki olgumuzun ise (olgu 17 ve 30) EKO'sunda hafif mitral yetmezlik vardır.

6. *ekzon , c.858G>A (p.Ser286Arg) varyantı*

Bu varyant FDA tarafından onaylanmış bir veri tabanı olan "Clingen AH varyant düzenlenme ve sunum uzman paneline" göre muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmaktadır (PM2, PS2 supporting, PP1, PP3, PP4). Pek çok saygın veri tabanı ve klinik tanı laboratuvarları tarafından bu varyant patojenik olarak bildirilmektedir. Yunanistan'dan 1.270 proband üzerinde yapılan bir çalışmada 41 farklı mutasyon saptanırken bu varyant en sık rastlanan 6 değişim arasında (değişimlerin %80'ni oluşturmaktadır) yer almaktadır [(c.1646G>A (p.Gly546Asp),

c.858C>A (p.Ser286Arg), c.81C>G (p.Cys27Trp), c.1285G>A (p.Val429Met), c.517T>C (p.Cys173Arg) ve c.1775G>A (p.Gly592Glu)]. Bu değişim FH-Greece-2 alleli olarak tanımlanmıştır(156).Bu missense değişimin AH olgularında gözlendiği pek çok çalışmada bildirilmektedir(157–160). Bu varyant çalışmamızda tek hastada heterozigot olarak gözlenmiştir.Olgu 8 yaşındadır. Aktif şikayeti bulunmamaktadır.

9. ekzon, c.1277T>G (p.Leu426Arg) varyantı

L405P olarak da adlandırılan bu amino asidi etkileyen p.L426P c.1277T>C değişimi daha önce AH ile bağlantılı olarak rapor edilmiştir(161). Bu aminoasid omurgalılarda yüksek oranda korunmuştur. In silico analizlerle zararlı (deleterious) olduğu tahmin edilmektedir (MetaLR: 0.888, REVEL: 0.907). Bu varyant merkezimizde tetkikin yapıldığı tarihte VUS novel bir değişim olarak raporlanmıştır. Ancak 2020 yılında yayınlanan Güney İtalya Campania Bölgesi'nden klinik AH tanısı düşünülen 263 hastanın dahil edildiği bir çalışmada bu varyant AH'ye neden olan bir değişim olarak bildirilmiştir(162).Bu varyantın reanalizinde VarSome veri tabanında PM1, PP3, PM2, PP5 kriterlerine göre muhtemel patojenik ve Franklin veri tabanında PM1, PP2, PM2, PM5, PP3, PP5 kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırıldığı görülmüştür. *LOVD*[3] *LDLR* varyant veri tabanı değişimi muhtemel patojenik olarak sınıflamaktadır. Mevcut kanıtlara göre, bu varyantın muhtemel patojenik olması olasıdır. Genetik biliminin günümüzde çok hızlı güncellenen dinamik yapısının bir göstergesi olarak bu varyant, genetik analizlerde VUS varyantların raporlanması ve reanalizi açısından önemini vurgulamaktadır. Yapılan tetkik özelinde klinik ile ilişkili VUS varyantların böylesine yüksek görülme sıklığına sahip fenotipler açısından titizlikle değerlendirmesinin doğru bir yaklaşım olduğu düşünülmektedir.

2. ekzon, c.81C>G (p.Cys27Trp) varyantı

Yunan toplumunda 6'sı çok sık olmak üzere toplamda 41 *LDLR* değişiminin bildirildiği bir çalışmada en sık varyantlar arasında yer almaktadır. Çalışmada Yunan toplumunun AH için homojen bir genetik yapı sergilediğinden kademeli genetik testler için kolay uygulanabilir olduğu ve ek hastaların tanımlanmasını kesinlikle kolaylaştıracağı bildirilmiştir. Çalışmamızda c.81C>G varyantı ikisi indekste olmak üzere toplamda 3 olgumuzda görülmüştür. Olguların doğum yerlerinin İzmir olduğu göz önüne alındığında coğrafi, kültürel ve tarihsel yakın ilişkileri olan iki toplumda ortak görülen sık varyantların çalışmamızda rastlanması olasıdır(156). Bu varyant

Romanya’da 61 klinik AH tanılı olgu üzerinde yapılan bir çalışmada 2 hastada, İsviçre'de 1 ve Slovakya'da 2 hastada heterozigot saptanmış ve Romanya’daki olguların takiplerinde inme ve periferik arter hastalığı geliştirdikleri görülmüştür(163). Olgu 9(aile II-1)’da 8 yaşında sol hemiparezi öyküsü bulunmaktadır ancak hasta kayıtlarından hastanın fibromüsküler displazi tanısı nedeniyle serebrovasküler olay hikayesi olduğu anlaşılmaktadır. Reseptörün ligand bağlayan domainini (ekzon 2) etkileyen heterozigot c.81C > G değişimi, *LDLR*'nin defektif bir mutasyonu olarak kabul edilmiştir(164).

Bu varyant Slovenya, Pakhtun ve Arnavut etnik kökenli hastaları içeren bir çalışmada Arnavutluk’tan 2 hastada homozigot olarak bildirilmiştir. Olgular sırasıyla 6,3 ve 5,5 yaşındadır; LDL-K düzeyleri ilk hastanın bilinmemekte ikici hastanın ise 293,9 mg/dL’ dir ve olguların asemptomatik oldukları bildirilmiştir(165). Varyant için rezidüel LDLr aktivitesi homozigotlarda %15-30’dir(166). Çalışmamızda bu değişim saptanan olguların tamamı heterozigottur ve LDL-K düzeyleri sırasıyla 203, 194, 188 mg/dL’dir (Olgu 3,9(aile II-1), 10(aile II-2)).

Aynı bölgedeki sinonim T değişimleri polimorfizm olarak belirtilmektedir. 2020 yılında Güney Hindistan'da yapılan bir çalışmada 200 koroner arter hastası ve 200 eşleştirilmiş sağlıklı kontrolde rs2228671 ve rs72658855'in KAH ile ilişkisi incelenmiş ve kodominant kalıtım modelinde, rs2228671 ‘deki CC > CT değişiminin KAH’a artan duyarlılık ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (OR 3.42(1.09-10.7), P<0.034)(167).

Oysa ki 2014 yılında yayınlanan Avrupa toplumundan olgular içeren 7588 vakalık 8 vaka kontrol çalışması ve 9711 kontrol grubunu içeren bir meta analizde *LDLR* rs2228671 polimorfizmi ile KKH arasındaki ilişki araştırılmış; rs2228671-T aleli, azalmış KKH riski ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur(odds ratio = 0.83, ve 95% güven aralığı (95% CI) = 0.75–0.92)(90).

11. ekzon c.1678A>T, (p.Ile560Phe) varyantı

Bu varyant ilk kez 2020 yılında Türkiye’den yapılan bir çalışmada 2 hastada heterozigot novel bir değişim olarak bildirilmiştir. Çalışmada genotip-fenotip ilişkisi değerlendirilemese de yayınlanacak daha fazla mutasyon raporunun yardımcı olabileceğine inandıkları vurgulanmıştır(133). 2021 yılında yine Türkiye’den

yayınlanan 30 farklı varyasyonun tespit edildiği başka bir çalışmada; vakaların yaklaşık %50'sinde genetik etiyolojiden sorumlu en yaygın 6 mutasyon (p.W577R, p.S493Cfs*42, p.V797M, p.F153_C155del, p.I560F ve p.D354G) arasında bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda tek bir olguda heterozigot olarak saptanan bu varyant açısından olguya aile taraması önerilmiştir. Olgu 37 yaşındadır, EKO'sunda LVKH saptanmıştır ve statin + ezetimib tedavisi almaktadır.

11. ekzon, c.1646G>A(Gly549Asp) varyantı

p.Gly528Asp, FH Genoa veya FH Palermo-1 olarak da bilinen bu değişim LDLr proteininin EGF öncü homoloji alanında yer alır. Özellikle İtalyan ve Yunan toplumlarında sık olarak bildirilmiştir(156,168). Pek çok popülasyon grubunda sık görülen patojenik bir varyanttır(168,169). Deneysel fonksiyonel çalışmalarda varyantın yıkıcı bir değişim olduğu ve %2-5'lik LDLr aktivitesine yol açtığı gösterilmiştir(166). Köse ve ark'nın 51 AH tanılı hasta grubunda toplamda 4 vakada en sık ikinci varyant olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda bu varyant 3'ü indeks olmak üzere 7 olguda saptanan sık görülen bir değişimdir.

17. ekzon, c.2411_2412insG varyantı

Çalışmamızda çerçeve kaymasına yol açan bu patojenik varyant Olgu 26'da heterozigot olarak saptanmıştır. Protein seviyesinde 806 pozisyonunda valinin glisine değişimiyle protein sentezinin erken sonlanmasına yol açmaktadır(170). *LDLR* geninin 17. ekzonu, reseptörün transmembran kısmıyla, sitoplazmik domaininin bir kısmını kodlar(142). LDLr'nün sitoplazmik alanı, LDLr'nün hücre yüzeyine geri dönüşümü, LDLr-LDL-K kompleksinin endositozu, reseptörlerin klatrin kaplı çukurlarda kümelenmesi gibi süreçlerde görevlidir(171). LDLr'nün sitoplazmik kuyruğundan 45 amino asit kalıntısının çıkarılmasına neden olan bu mutasyon sınıf 3 defektif *LDLR* değişimine yol açar(92). Sonuçta içselleştirmede yer alan sitoplazmik kuyruk motifi ile tüm yardımcı proteinlerin etkileşimleri bozulur ve kolesterol biyosentezinin geri bildirim inhibisyonu sonucunda kanda T-Kolesterol ve LDL-K düzeyleri yükselir. Bu varyant 34 kişilik geniş bir Pakistanlı ailenin değerlendirildiği bir çalışmada heterozigot ve homozigot bireylerde bildirilmiştir. Heterozigot bireylerin T-Kolesterol düzeyleri 300-500 mg/dl arasında ve tipik ksantomalara sahip tek homozigot bireyin 900 mg/dl'yi aşan T-Kolesterol seviyelerine sahip olduğu çalışmada proband olarak başvuran erkek olgunun T-Kolesterol ve LDL-K

düzeylerinin >300 mg/dL olduğu ve 36 yaşında koroner bypass cerrahi operasyonu geçirdiği belirtilmektedir(170). *LDLR* mutasyonlarının heterojenliğine rağmen, AH'den sorumlu olan bazı yaygın mutasyonlar hala mevcuttur. Dünya genelinde bu varyant çok çeşitli ülkelerden (Rusya, İran, Norveç gibi) pek çok kez patojenik olarak bildirilmiştir(154,172).

Bizim çalışmamızda bu varyant 3 yaşında tanı alan kız olguda heterozigot olarak bulunmaktadır. Pakistan çalışmasıyla benzer şekilde T-Kolesterol ve LDL-K düzeyleri 504 ve 430 mg/dL gibi oldukça yüksek düzeylerdedir. Onüç yaşında olan olgunun aktif şikayeti bulunmamaktadır ve statin kullanmaktadır. Genetik danışma eşliğinde sonucu teslim edilen aileye aile taraması önerilmiştir.

6. Ekzon, c.829G>A (p.Glu277Lys) varyantı

Bu varyant çalışmamızda Olgu 31'de homozigot, Olgu 52'de heterozigot olarak saptanmış ve VUS değişim olarak raporlanmıştır.

Pereira ve ark'nın 1995 yılında yayınlanan çalışmalarında bu varyantı novel olarak bildirmiştir. Varyantı taşıyan aile bireylerinden birinin MI geçirdiği bildirilmiştir(173). Sınıf A tekrar bölgesinde bulunan c.829G>A değişimi, ağırlıklı olarak sırasıyla 0.0016 ve 0.0012 sıklıkta Güney Asya ve Güney Avrupa alt popülasyonlarında olmak üzere 251.484 kontrol kromozomunda 0.00054 sıklıkta bulunduğu (gnomAD), bu alt popülasyonlarda gözlenen değişken frekansı, AH fenotipine neden olan *LDLR*'deki bir patojenik varyant için beklenen alel frekansına yakın veya bundan yüksek olduğundan varyantın polimorfizm olduğu düşünülmektedir(ClinVar, SCV000917586.1). Literatürde AH'den etkilenen bireylerde ve aynı zamanda kontrollerde de bildirilmiştir(174). Ayrıca cis pozisyonda yer alan diğer patojenik varyantlarla birlikte bildirilmesi (örn. c.12G>A (p.Trp4X), c.460C>T(p.Gln154X), c.1326C>G(p.Tyr442X), c.2393_2401del9) benign bir varyant olduğuna dair destekleyicidir(175). Varyantın protein için normal ifade düzeyi ve LDL alımını gösteren fonksiyonel çalışmalar da mevcuttur(141).

Bu varyant Sözen ve ark'nın Türkiye'den 36 çocuk hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada intron 15'te IVS15-47 G-A ve IVS15-136 A-G intronik varyantları ile birlikte bildirilmiştir. Genin başka herhangi bir bölgesinde farklı sekans varyantları tespit edilmediğinden, bu intronik değişikliklerin mRNA kırpılması üzerindeki rolleri

açısından araştırılması gerektiğini düşünmektedirler. Bu değişiklikler kırpılma noktalarında veya bilinen dallanma (branching) noktalarında olmasa da kriptik kırpılma bölgelerini etkinleştirebileceği ve kırpılma hatalarına neden olabileceği şeklinde yorumlanmıştır(5).

2014 yılında 561 olgu üzerinde Yunanistan'dan yapılan bir çalışmada bu değişimin daha önce İtalyan ve İspanyol olgularda bildirilmiş olsa da ilk kez Yunan toplumunda *LDLR* gen mutasyonu olarak bildirildiği belirtilmiştir(164).

Farklı bir çalışmada bu varyantın ne LDL alımı ne de bağlanmasına etkisi olmadığı belirtilerek diğer bir tespit edilememiş varyantla bağlantı dengesizliğinden kaynaklı gözlenmesi ihtimalinden bahsedilmiştir(176).

Çalışmamızda yer alan Olgu 31'in YND analizinde 20x okuma derinliğinde 9, 11, ve 12. ekzonlarının kaplamı %0, 10. ekzonun kaplamı %52,86 olarak görülmüş ve Sanger sekanslama için tüm bu ekzonlar Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR: Polymerase Chain Reaction) ile amplifiye edilmeye çalışılmıştır. Aynı koşumdan seçilen ve 20x okuma derinliğinde %100 kaplama sahip 2 kontrol grubuyla birlikte yapılan PCR reaksiyonunun jel check değerlendirilmesinde olguda sadece 10. ekzonun PCR ürünün elde edilebildiği ancak diğer 3 ekzon için PCR ürününün elde edilemediği görülmüştür. Kontrol grubunda ise 4 ekzonun da PCR ürünü elde edilebilmiştir. Bu olgunun delesyon açısından MLPA gibi farklı bir yöntemle analiz edilmesinin ugun bir yaklaşım olacağı düşünülmektedir. Laboratuvarımızda *LDLR* genini del/dup açısından değerlendirebileceğimiz uygun MLPA kiti olmadığından olguya bu test çalışılamamıştır. Literatürde *LDLR* geni için del/dup oranı ~%15 olarak bildirilmektedir.

13. ekzon, c.1867_1869delATC varyantı

Bu varyant 623. kodondaki izolösin amino asitinin çerçeve içi delesyonuna neden olmaktadır. LDLr proteininin β-propeller bölgesinde yer alan bu değişim sınıf 2a LDL reseptör mutasyonlarındandır. Yapılan fonksiyonel bir çalışmada bu varyantın vahşi tipe kıyasla *LDLR* ekspresyonu, LDL bağlanması ve LDL alımını azalttığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada 4 hastada heterozigot saptanan bu değişim için T-Kolesterol ve LDL-K değerleri sırasıyla 383±56 ve 305±59.5mg/dL'dir(177).

Çalışmamızda yer alan olgumuzunda da literatürle uyumlu olarak T-Kolesterol ve LDL-K değerleri sırasıyla 400 ve 306 mg/dL'dir.

10. ekzon, c.1476_1477delCT varyantı

Prematür terminasyon kodonu oluşturan bu varyant ya anormal kesilmiş bir protein ürünüyle ya da anlamsız aracılı mRNA bozunması (non sense mediated decay) yoluyla bu allelden protein kaybıyla sonuçlanması beklenir. AH olgularında pek çok kez literatürde bildirilmiştir. Varyantın protein işlevi üzerindeki etkisini değerlendirilen fonksiyonel bir çalışmada normal LDL alım aktivitesinin %10-30'unu karşıladığı gösterilmiştir(178). Değişim literatürde FH-Sydney 2, FH-Frosinone ve FH-Yrmeih gibi çeşitli isimlerle yayınlanmıştır(179). LDLr sınıf B3 domainini etkilemektedir. Etkilenen bireyler Hollandalı, İtalyan, Alman, Danimarkalı ve Rus gibi çeşitli etnik kökenlere sahiptirler(174,179,180).

10. ekzon, c.1463T>C varyantı

Kesin ve olası AH klinik tanısı olan AH hastalarında mutasyon spektrumunu karşılaştıran İngiltere'deki altı merkezden 635 probandın katıldığı ve bir amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi (ARMS) kiti kullanılarak 18 *LDLR* gen mutasyonu, *APOB* p.Arg3527Gln ve *PCSK9* p.Asp374Tyr değişimlerinin analiz edildiği bir çalışmada, c.1463T>G (p.Ile488Ser) değişimi kesin AH tanısı alan bir olguda novel olarak bildirilmiştir. Reseptör fonksiyonunu etkileyeceği ve bu nedenle bir veya daha fazla tahmin algoritması tarafından AH'ye neden olduğunun tahmin edildiği belirtilmiştir (CoO, polyphen, sift, Refined sift)(181). İtalya'dan, klinik olarak heterozigot AH tanısı alan 725 ilişkisiz hasta grubunu (indeks vakalar) içeren bir çalışmada 1463T>A (Ile467Asn) değişimi bir aileden 3 kişide bildirilmiş ve AH Piacenza olarak tanımlanmıştır(174). Hollanda'da, klinik olarak teşhis edilmiş 1641 AH hastasında denatüre gradyan jel elektroforezi ve sekanslama yoluyla yapılan mutasyon analizinde, 159 farklı *LDLR* gen değişimi tespit edilmiş ve bu varyant Hollanda için novel olarak bildirilmiştir(182).

3.ekzon, c.241C>T p.Arg81Cys varyantı

Bu varyant ilk kez 1998 Danimarka'dan novel bir mutasyon olarak bildirilmiştir(183). 2019 yılında 225 prematür MI tanısı alan hasta ve 56 kontrol

grubuyla yapılan bir çalışmada bu varyant patojenik olarak bildirilmiştir(184). Varyantı *LOVD* veri tabanı muhtemel patojenik olarak sınıflamaktadır.

2022 yılında *LDLR* gen varyantlarının değerlendirilmesine yönelik yapılmış fonksiyonel bir çalışmada LDLr eksikliği olan CHO-ldlA7 hücreleri bölgeye yönelik mutagenezle üretilen farklı *LDLR* varyantları taşıyan plazmidlerle transfekte edilerek LDLr aktivitesi ve ekspresyonu değerlendirilmiş ve bu varyantın ACMG klasifikasyonunda önceden muhtemel patojenik olarak değerlendirmesine rağmen varyantın ekspresyon bağlanma ve hücre içine alınma seviyeleri%70 ila %90 arasında tespit edilmiş ve AH VCEP (Variant Curation Expert Panel) kılavuzlarına göre belirsiz olarak kabul edilmiştir ancak bu varyantı taşıyan indeks vakanın ciddi bir klinik gösterdiği fakat aynı varyantı bulunduran 15 yaşındaki oğlunun LDL-K değerlerinin AH açısından düşük olduğu belirtilmiştir. Bu durum varyantın LDLr aktivitesini etkilememesinden kaynaklanıyor olabileceği gibi olgunun yaşının genç ve yüksek metabolik hız nedeniyle de olabileceği ve olgunun takip edilmesi gerektiği vurgulanmıştır(185). Bizim olgumuzun LDL-K ve T-Kolesterol değerleri sırasıyla 196 ve 270 mg/dL'dir. Ailede birinci derece akrabasında hiperlipidemi ve ikinci derece akrabasında KVH hikayesi vardır. Kolesterol düşürücü tedavi almayan olgunun ilk yapılan biyokimyasal testinde 364 mg/dL olan TG düzeyi ikinci bakısında 115 mg/dL'ye gerilemiştir; LDL-K ve T-Kolesterol düzeylerinin (sırasıyla 196 mg/dL ve 270 mg/dL) yüksekliği devam etmektedir. Aile taramasının yapılarak biyokimyasal ve genetik analiz sonuçlarının karşılaştırılması varyantın patojenitesi açısından bilgi verici olabilir.

4. ekzon, c.622G>A(p.Glu208Lys) varyantı

Bu dizideki değişimle polar ve asidik bir amino asit olan glutamik asit polar ve bazik bir amino asit olan lizine dönüşür. E187K(AH Kudüs) olarak bildirilen bu varyantın LDL bağlanma afinitesi üzerinde zararlı etkisi olduğunu gösteren yayınlanmış fonksiyonel çalışmaları bulunmaktadır(166,186). Bu varyant gnomAD popülasyon veri tabanında yer almamaktadır. In silico tahmin araçları bu değişimin protein işlevi üzerindeki etkisi ile ilgili çelişkili veriler sunsa da pek çok yayında AH tanısı olan olgularda bildirilmiştir(166,182,187).

APOB genine ait değişim ve olguların genotipik özelliklerine ait tartışma aşağıda yer almaktadır.

APOB geni, 26. ekzon, c.10580G>A varyantı

p.Arg3500Gln olarak da bilinen bu varyant ApoB'nin beta 2 domaininde yer almaktadır. En sık görülen "Ailesel defektif hiperkolesterolemi" ile ilişkili *APOB* varyantıdır. Çalışmamızda görülen tek patojenik *APOB* değişimidir. Bu varyantın ApoB proteinin yapısını bozarak LDL'nin reseptöre bağlanmasını bozduğunu gösteren fonksiyonel çalışmalar bulunmaktadır(104). Avrupa kökenli bireylerde AH ile ilişkili en yaygın varyantlardan biridir ve Bulgaristan'dan yüksek sıklıkta bildirilen bir varyanttır(188).Clinvar veri tabanında (Variation ID:17890) 35 kez patojenik bildirimi mevcuttur.

LDLRAP1 genine ait değişim ve olgunun genotipik özelliklerine ait tartışma aşağıda yer almaktadır.

LDLRAP1 geni, 4.intron, c.460-1G>A, Splice Acceptor bölge değişimi

Dizi değişikliklerinin RNA kırpılması üzerindeki etkisini tahmin etmek için geliştirilen algoritmalara göre bu varyantın konsensus kırpılma bölgesini bozarak protein fonksiyon kaybına yol açabileceği düşünülmektedir. Alıcı kırpılma bölgesini etkileyen varyantın hastalık için bilinen bir mekanizma olan fonksiyon kaybına yol açan bir null varyant oluşumuna neden olduğu (Clinvar'da *LDLRAP1* geni için 31 tane patojenik null varyant bildirimi mevcuttur.), ayrıca son ekzonda ya da ön ekzonun son 50 bç'de yer almadığından transkriptinin anlamsız aracılı mRNA bozunmasına (Nonsense-mediated mRNA decay: NMD) uğradığı öngörülmektedir. Varyantın yakın tarihli biri muhtemel patojenik ve biri de patojenik olmak üzere iki Clinvar bildirimi mevcuttur. Varsome, Franklin, NGS-Cloud veri tabanlarının tamamında patojenik olarak sınıflandırılmıştır ve varSEAK kırpılma bölgesi tahmin programında 3' kırpılma bölgesinin(ss) 1 nükleotidlik aşağı bölgesinde (downstream) kriptik kırpılma bölgesi oluşumuyla patojenik olarak (class 5 splice effect) değerlendirilmektedir. Bu varyant bizim olgumuzda homozigot olarak saptanmıştır.

ARH hastalarının fenotipik prezantasyonun HoAH hastalarıyla örtüşecek şekilde çok yüksek LDL-K (>500mg/dL) seviyeleri, prematür ASKVH ve aort stenozu şeklinde olduğunu bildiren çalışmalar olsa da doğal seyri çok iyi tanımlanmış değildir.

Bizim olgumuzun da LDL-K ve T-Kolesterol değerleri sırasıyla 510 mg/dL ve 604 mg/dL'dir. ARH hastalarında KAH riskinin, özellikle reseptör sıfır HoAH hastalarındakinden daha düşük olduğu yönünde yayınlar olsa da ARH'nin geleneksel tedavilere rağmen kardiyovasküler prognozunun kötü olduğu ve HoAH'ninkine çok benzer olduğu bildiren çalışmalar da vardır(118,189). Sardinya'lı hastalarda yapılan bir çalışmada, 28 hastadan 11'inde koroner ateroskleroz; 3'ünde MI kliniği bildirilmiştir. Yine İtalyan'dan yapılan farklı bir çalışmada ARH'de erken ASKVH sıklığının %40 olduğu belirtilmektedir(189,190).

Çok nadir görülen bir AH formu (1:1.000.000 prevalans-Sardinya adası (1:40.000) hariç) olan ARH 'de erken teşhisin ve agresif LDL-K düşürücü tedavilerin hemen başlatılması önemlidir. Yapılan bir çalışmada ARH'li erkeklerin 6, kadınların ise 19 kat daha yüksek ASKVH riski taşıdığı vurgulanmaktadır(118). Statin grubu ilaç, ezetimib, PCSK9 inhibitörleri gibi lipid düşürücü tedavilere orta düzeyde yanıt verir ve lipid aferizine ihtiyaç duyulabilir. ARH'de statinlerle LDL-K azalması değişkendir. Bazı seriler, yüksek etkili statinlerin ezetimib ile kombine edildiğinde %60 ila %80 arasında değişen düşüşler bildirmiştir(189,191). Olgumuz statin+ezetimib tedavisi almaktadır ve LDL-K ve T-Kolesterol değerleri sırasıyla 219 mg/dL ve 286 mg/dL'ye gerilemiştir.

PCSK9 inhibitörleri ise ARH'de LDL-K 'de orta düzeyde (%15-30) bir azalma sağlar(192). Lomitapid, karaciğer ve bağırsakta mikrozomal trigliserid transferaz proteinini (MTTP) inhibe ederek etki gösteren küçük bir moleküldür. LDL düşürücü etkisi LDLr'nin verimli çalışması üzerine kurulu olmadığından, VLDL ve şilomikron toplanması ve üretimini azaltarak etki ettiğinden ARH hastalarında kullanımı önerilmektedir. İtalya'dan 5 ARH hastası ile yapılan bir çalışmada lomitapide ile LDL-K'de % 68.2 ± 24.8'lik düşüş sağlanmıştır(193,194).

ARH'nin otozomal resesif kalıtılan bir hastalık olduğu ve heterozigot bireylerin LDL-K düzeylerinin normal olduğu belirtilse de İspanya'da yapılan bir çalışmada bazı geniş etkili varyantların heterozigot formda da hiperkolesterolemiye neden olduğu bildirilmiştir(195).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Pediyatrik yaş grubu HeAH hastalarında çocukluk çağında lipid düzeylerinin daha düşük seyretmesi, ailede hiperkolesterolemisi olan ebeveyn nedeniyle düşük kolesterollü diyetle beslenme ya da ksantom, ksantalezma vb. bulguların heterozigot olgularda geç ortaya çıkması nedenleriyle AH tanısını koymak bazen zor olabilmektedir. Genç aile bireylerinde, ebeveynlerde KVH henüz ortaya çıkmamış olabilir. Bu nedenle genetik testler tanıyı doğrulamak ve aile taraması için yardımcı olur. Klinik tanı sırasında gözden kaçabilen bu grup için lipid düzeyleri sınırda olan ve ailede hiperkolesterolemi öyküsü olan çocuklar moleküler tanı için düşünülmelidir.

Genetik testler risk altındaki bireyleri tespit ettiği gibi risk altında olmayan bireyleri de saptayarak danışan aileler için rahatlatıcı bir etkiye de sahiptir. Bu çalışmada genetik danışmaları verilerek test için başvurmuş aileler kademeli genetik testlerle değerlendirilmiştir. Kademeli genetik test çalışılan hiçbir ailede "de novo" varyant görülmemiştir.

LDLR mutasyon analizleri ile AH ilişkili genetik varyantların karakterizasyonun belirlenmesi devam etmektedir. Böylelikle indeks vaka üzerinden aile bireyleri için yönetilecek kademeli tarama programları ile kısa sürede ASKVH için risk altındaki olguların hızlı tanı ve tedaviye ulaşmasıyla morbidite ve mortalite en aza indirilebilir.

Aile içindeki kalıtımı açısından ve de KVH bakımdan poligenik form ile monogenik form farklılık gösterdiğinden bu ayrım genetik danışma ve ailelere kademeli genetik tarama testlerinin yapılmasının gerekliliği açısından önemlidir.

Ailede ASKVH'nin ya da hiperkolesterolemi öyküsünün sorgulanması düzenli bir kayıt sistemi olmadığından genellikle hasta beyanına göre yapılmaktadır. Ailenin durumlarının farkında olmamasından (hiç biyokimyasal testleri olmayabilir), hastanın eksik bilgi vermesinden ya da aile içi dinamikler nedeniyle akrabalarının klinik durumlarından haberdar olmamalarından ötürü güvenilir olmayabilir. Bu objektif olmayan değerlendirme aile hikayesini baz alan tanı kriterleri uygulandığında olguların AH ön tanısı almalarına ve genetik tanı için Tıbbi Genetik polikliniklerine yönlendirilmelerine engel olabilir. Bu nedenle sık görülen bir fenotip olması nedeniyle bu hastaların yakın takip edilmeleri ve genetik testlerinin yapılması aydınlatıcı bir yaklaşım olacaktır.

Kademeli genetik tarama kapsamında aile bireylerinin genetik testlerle taranması ailede indeks vakada mutasyon belirlenmesi halinde etkili bir yöntemdir. Ancak çalışmamızda mutasyon tespit edilen aile bireylerinin gerek biyokimyasal değerlendirmelerinin gerekse de kardiyolojik muayene ve tetkiklerinin yeterince verimli olmadığı görülmektedir. Bu durum AH hastaları için düzenli ve bütünleşmiş bir kayıt sistemi olmaması nedeniyle hastanemiz dışında hastaların takip edilmeleri durumunda verilerine ulaşamamamızdan kaynaklanıyor olabileceği gibi, olguların gerçekten ilgili bölümlere hiç başvurmamalarından da kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle Tıbbi Genetik ve Çocuk Genetik hekimlerinin aile taraması kapsamında mutasyon tespit edilen olgulara detaylı bir genetik danışma vererek biyokimyasal tetkiklerini istemeleri ve ilgili polikliniklere bu hastaları konsülte etmeleri tedavilerine ivedilikle başlanması adına koruyucu hekimliğin önemli bir basamağını teşkil etmektedir.

Biyokimyasal ve klinik veriler temelinde AH düşünülmeden önce hiperkolesteroleminin sekonder nedenlerinin dışlanması önerilmektedir. Ancak zaman zaman bu durum olguların hiperkolesterolemik durumlarının sekonder nedenlere bağlanması nedeniyle tanının atlanmasına neden olabilmektedir. Bu gibi durumlarda genetik testler primer- sekonder hiperlipidemi ayrımının yapılması açısından tanının konmasının en hızlı çözümü olarak ön plana çıkmaktadır.

Klinik ve moleküler tabanlı tekniklerle genotip fenotip korelasyonu kurmayı amaçlayan bu tarz çalışmalarla, Türk toplumundaki AH heterojenitesini ve mutasyon spektrumunun aydınlatılması amaçlanmaktadır. Bu tür bilgilerin hastalık yönetimi ve maliyet tasarrufu için literatüre katkı sağladığı düşünülmektedir.

AH açısından aile hikayesi ARH hastalarında resesif kalıtım kalıbı nedeniyle görülmeyebilir.

Klinik önemi bilinmeyen değişimlerin belli aralıklarla reanalizleri varyant sıklığı yüksek *LDLR* geni için önemlidir.

Çalışmamızın sınırlılıkları şu şekilde sıralanabilir: Küçük örneklem boyutu nedeniyle Türkiye'deki AH hastalarında tespit edilen mutasyonların genel prevalansı hakkında bilgi verici değildir. AH hastalarının %15'i, *LDLR* geninde del/dup taşır ancak şu anda uygun bir yöntemle bu tetkik laboratuvarımızda çalışılamadığından

popülasyon taramasında mutasyon spektrumunun tam karakterizasyonu yapılamamıştır. Bazı proband olguların, ülkenin farklı yerlerinde yaşayan akrabalarına ulaşamama ya da pandemi nedeniyle hastane başvurularındaki aksaklıklar sonucu kademeli genetik taramalarını ve segregasyon analizlerini yapmanın mümkün olmadığı görülmektedir.

Yeterli ve sağlıklı veriye ulaşılamadığından olguların tedaviye yanıtlarının geneotip profilleri ile ilişkisi değerlendirilememiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Youngblom E, Pariani M, Knowles JW. Familial Hypercholesterolemia. GeneReviews® [İnternet]. 08 Aralık 2016 [a.yer 02 Haziran 2022]; Erişim adresi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK174884/
2. Maio A, Dowd FJ. Familial Hypercholesterolemia. XPharm Compr Pharmacol Ref. 01 Ocak 2010;1-6.
3. Slack J. Risks of ischaemic heart-disease in familial hyperlipoproteinaemic states. Lancet Lond Engl. 1969;2(7635):1380-2.
4. Stone NJ, Levy RI, Fredrickson DS, Verter J. Coronary artery disease in 116 kindred with familial type II hyperlipoproteinemia. Circulation. 1974;49(3):476-88.
5. Sözen MM, Whittall R, Öner C, Tokatli A, Kalkanoğlu HS, Dursun A, vd. The molecular basis of familial hypercholesterolaemia in Turkish patients. Atherosclerosis. 2005;180(1):63-71.
6. Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia | CDC [İnternet]. [a.yer 04 Nisan 2022]. Erişim adresi: https://www.cdc.gov/genomics/disease/fh/testing_FH.htm
7. NICE | The National Institute for Health and Care Excellence [İnternet]. [a.yer 30 Mayıs 2022]. Erişim adresi: https://www.nice.org.uk/
8. Finding Family Members with Familial Hypercholesterolemia | CDC [Internet]. 2022 [a.yer 13 Aralık 2022]. Erişim adresi: https://www.cdc.gov/genomics/disease/fh/finding_FH.htm
9. Gidding SS, Ann Champagne M, de Ferranti SD, Defesche J, Ito MK, Knowles JW, vd. The Agenda for Familial Hypercholesterolemia. Circulation. Aralık 2015;132(22):2167-92.
10. Knowles JW, Rader DJ, Khoury MJ. Cascade Screening for Familial Hypercholesterolemia and the Use of Genetic Testing. JAMA. 25 Temmuz 2017;318(4):381-2.
11. Migliara G, Baccolini V, Rosso A, D'Andrea E, Massimi A, Villari P, vd. Familial Hypercholesterolemia: A Systematic Review of Guidelines on Genetic Testing and Patient Management. Front Public Health [İnternet]. 25 Eylül 2017 [a.yer 03 Haziran 2022];5. Erişim adresi: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28993804/

12. Familial hypercholesterolaemia: identification and management | Search results | NICE [İnternet]. [a.yer 22 Eylül 2022]. Erişim adresi: https://www.nice.org.uk/search?q=Familial+hypercholesterolaemia%3a+identification+and+management+

13. Lázaro P, Pérez de Isla L, Watts GF, Alonso R, Norman R, Muñiz O, vd. Cost-effectiveness of a cascade screening program for the early detection of familial hypercholesterolemia. J Clin Lipidol. 01 Ocak 2017;11(1):260-71.

14. Cockcroft S. Mammalian lipids: structure, synthesis and function. Essays Biochem. 02 Kasım 2021;65(5):813-45.

15. Fahy E, Subramaniam S, Brown HA, Glass CK, Merrill AH, Murphy RC, vd. A comprehensive classification system for lipids. J Lipid Res. 2005;46(5):839-61.

16. Liebisch G, Vizcaíno JA, Köfeler H, Trötzmüller M, Griffiths WJ, Schmitz G, vd. Shorthand notation for lipid structures derived from mass spectrometry. J Lipid Res. Haziran 2013;54(6):1523.

17. Fahy E, Cotter D, Sud M, Subramaniam S. Lipid classification, structures and tools. Biochim Biophys Acta. Kasım 2011;1811(11):637.

18. Huff T, Boyd B, Jialal I. Physiology, Cholesterol. StatPearls [İnternet]. 09 Mart 2022 [a.yer 15 Eylül 2022]; Erişim adresi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470561/

19. B. RV, B. AV. Overview About Lipid Structure. Lipid Metab [İnternet]. 23 Ocak 2013 [a.yer 15 Eylül 2022]; Erişim adresi: undefined/state.item.id

20. Craig M, Yarrarapu SNS, Dimri M. Biochemistry, Cholesterol. StatPearls [İnternet]. 18 Ağustos 2021 [a.yer 15 Eylül 2022]; Erişim adresi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513326/

21. Lipids, lipoproteins and cardiovascular disease | Basicmedical Key [İnternet]. [a.yer 16 Eylül 2022]. Erişim adresi: https://basicmedicalkey.com/lipids-lipoproteins-and-cardiovascular-disease/

22. Ordovas JM. Lipoproteins. Encycl Hum Nutr. 01 Ocak 2013;3-4:80-6.

23. Feingold KR, Grunfeld C. Lipids: a key player in the battle between the host and microorganisms. J Lipid Res. Aralık 2012;53(12):2487.

24. Segrest JP, Jones MK, De Loof H, Dashti N. Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins. J Lipid Res. 01 Eylül 2001;42(9):1346-67.

25. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function - PubMed [İnternet]. [a.yer 19 Eylül 2022]. Erişim adresi: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6099394/

26. Mehta A, Shapiro MD. Apolipoproteins in vascular biology and atherosclerotic disease. Nat Rev Cardiol 2021 193. 08 Ekim 2021;19(3):168-79.

27. Walldius G, Jungner I. The apoB/apoA-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy – a review of the evidence. J Intern Med. 2006;259(5):493-519.

28. Nakajima K, Nagamine T, Fujita MQ, Ai M, Tanaka A, Schaefer E. Apolipoprotein B-48: a unique marker of chylomicron metabolism. Adv Clin Chem. 2014;64:117-77.

29. Entry - *608083 - APOLIPOPROTEIN C-II; APOC2 - OMIM [İnternet]. [a.yer 11 Ocak 2023]. Erişim adresi: https://omim.org/entry/608083

30. Mahley RW. Apolipoprotein E: Remarkable Protein Sheds Light on Cardiovascular and Neurological Diseases. Clin Chem. Ocak 2017;63(1):14-20.

31. Koopal C, Marais AD, Visseren FLJ. Familial dysbetalipoproteinemia: an underdiagnosed lipid disorder. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. Nisan 2017;24(2):133-9.

32. Axmann M, Plochberger B, Mikula M, Weber F, Strobl WM, Stangl H. Plasma Membrane Lipids: An Important Binding Site for All Lipoprotein Classes. Membranes. 17 Kasım 2021;11(11):882.

33. Lehninger Biyokimyanın İlkeleri.

34. Harper'ın Biyokimyası (1993).

35. Feingold KR, Grunfeld C. Introduction to Lipids and Lipoproteins. Endotext [İnternet]. 19 Ocak 2021 [a.yer 19 Eylül 2022]; Erişim adresi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/

36. Brown MS, Goldstein JL. Cholesterol feedback: from Schoenheimer's bottle to Scap's MELADL. J Lipid Res. 01 Nisan 2009;50:S15-27.

37. Goldstein JL, Brown MS. The LDL Receptor. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Nisan 2009;29(4):431-8.

38. Goldstein JL, Brown MS. A Century of Cholesterol and Coronaries: From Plaques to Genes to Statins. Cell. Mart 2015;161(1):161-72.

39. Brown MS, Radhakrishnan A, Goldstein JL. Retrospective on Cholesterol Homeostasis: The Central Role of Scap. Annu Rev Biochem. 20 Haziran 2018;87(1):783-807.

40. Benito-Vicente A, Uribe K, Jebari S, Galicia-Garcia U, Ostolaza H, Martin C. Validation of LDLr Activity as a Tool to Improve Genetic Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia: A Retrospective on Functional Characterization of LDLr Variants. Int J Mol Sci. 05 Haziran 2018;19(6):1676.

41. Basatemur GL, Jørgensen HF, Clarke MCH, Bennett MR, Mallat Z. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. Nat Rev Cardiol. Aralık 2019;16(12):727-44.

42. Moore KJ, Freeman MW. Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Ağustos 2006;26(8):1702-11.

43. Tabas I, Lichtman AH. Monocyte-Macrophages and T Cells in Atherosclerosis. Immunity. 17 Ekim 2017;47(4):621-34.

44. Zhao Y, Van Berkel TJ, Van Eck M. Relative roles of various efflux pathways in net cholesterol efflux from macrophage foam cells in atherosclerotic lesions. Curr Opin Lipidol. Ekim 2010;21(5):441-53.

45. Lee-Rueckert M, Escola-Gil JC, Kovanen PT. HDL functionality in reverse cholesterol transport--Challenges in translating data emerging from mouse models to human disease. Biochim Biophys Acta. Temmuz 2016;1861(7):566-83.

46. Zhang L, Reue K, Fong LG, Young SG, Tontonoz P. Feedback regulation of cholesterol uptake by the LXR-IDOL-LDLR axis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Kasım 2012;32(11):2541-6.

47. Paththinige C, Sirisena N, Dissanayake V. Genetic determinants of inherited susceptibility to hypercholesterolemia – a comprehensive literature review. Lipids Health Dis. 02 Haziran 2017;16(1):103.

48. TANGI DrF, ÖKTENLİ ProfDrÇ. Hiperlipidemi Tanısı. Türkiye Klin Endokrinol - Özel Konular. 2012;5(1):20-3.

49. Dislipidemi Tanımı, Etiyolojisi ve Sınıflandırması [İnternet]. [a.yer 20 Eylül 2022]. Erişim adresi: https://www.atifdizini.com/detail/140840

50. Nelson Textbook of Pediatrics (18th ed), Elsevier-Saunders Press, Philadelphia, 2007, pp: 580-592.

51. Fredrickson DS. An international classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. Ann Intern Med. 1971;75(3):471-2.

52. DİSLİPİDEMİ DİSLİPİDEMİ TANI ve TEDAVİ TANI ve TEDAVİ KILAVUZU KILAVUZU. 2021 [a.yer 20 Eylül 2022]; Erişim adresi: www.temd.org.tr

53. Pirillo A, Casula M, Olmastroni E, Norata GD, Catapano AL. Global epidemiology of dyslipidaemias. Nat Rev Cardiol 2021 1810. 08 Nisan 2021;18(10):689-700.

54. GHO | By category. WHO.

55. Mohamed-Yassin MS, Baharudin N, Abdul-Razak S, Ramli AS, Lai NM. Global prevalence of dyslipidaemia in adult populations: a systematic review protocol. BMJ Open. 2021;11:49662.

56. Brown MS, Goldstein JL. Expression of the Familial Hypercholesterolemia Gene in Heterozygotes: Mechanism for a Dominant Disorder in Man. Science. 05 Temmuz 1974;185(4145):61-3.

57. Familial defective apolipoprotein B-100: low density lipoproteins with abnormal receptor binding. [Internet]. [a.yer 21 Ekim 2022]. Erişim adresi: https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.84.19.6919

58. Khachadurian AK, Uthman SM. Experiences with the Homozygous Cases of Familial Hypercholesterolemia. Ann Nutr Metab. 1973;15(1-2):132-40.

59. Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. Am J Epidemiol. 01 Eylül 2004;160(5):407-20.

60. Lee MH, Lu K, Hazard S, Yu H, Shulenin S, Hidaka H, vd. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. Nat Genet. Ocak 2001;27(1):79-83.

61. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, vd. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. Nat Genet. Haziran 2003;34(2):154-6.

62. Variation in the Prevalence of Familial Hypercholesterolemia Around the World - American College of Cardiology [İnternet]. [a.yer 22 Eylül 2022]. Erişim adresi: https://www.acc.org/latest-in-cardiology/articles/2015/07/17/08/23/variation-in-the-prevalence-of-familial-hypercholesterolemia-around-the-world

63. The official website of the Nobel Prize - NobelPrize.org [İnternet]. [a.yer 22 Eylül 2022]. Erişim adresi: https://www.nobelprize.org/

64. Russell DW, Yamamoto T, Schneider WJ, Slaughter CJ, Brown MS, Goldstein JL. cDNA cloning of the bovine low density lipoprotein receptor: feedback regulation of a receptor mRNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 1983;80(24):7501-5.

65. MULLER C. Nutrition classics. Archives of Internal Medicine, Volume 64, October 1939: Angina pectoris in hereditary xanthomatosis. By Carl Müller. Nutr Rev. 27 Nisan 1987;45(4):113-5.

66. Khachadurian AK. THE INHERITANCE OF ESSENTIAL FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA. Am J Med. 1964;37(3):402-7.

67. Najam O, Ray KK. Familial Hypercholesterolemia: a Review of the Natural History, Diagnosis, and Management. Cardiol Ther. 20 Haziran 2015;4(1):25.

68. Sturm AC, Knowles JW, Gidding SS, Ahmad ZS, Ahmed CD, Ballantyne CM, vd. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia: JACC Scientific Expert Panel. J Am Coll Cardiol. 07 Ağustos 2018;72(6):662-80.

69. Fahed AC, Safa RM, Haddad FF, Bitar FF, Andary RR, Arabi MT, vd. Homozygous familial hypercholesterolemia in Lebanon: A genotype/phenotype correlation. Mol Genet Metab. 2011;102(2).

70. Lehrman MA, Schneider WJ, Brown MS, Davis CG, Elhammer A, Russell DW, vd. The Lebanese allele at the low density lipoprotein receptor locus. Nonsense mutation produces truncated receptor that is retained in endoplasmic reticulum. J Biol Chem. 1987;262(1).

71. Meiner V, Landsberger D, Berkman N, Reshef A, Segal P, Seftel HC, vd. A common Lithuanian mutation causing familial hypercholesterolemia in Ashkenazi Jews. Am J Hum Genet. 1991;49(2).

72. Kotze MJ, Warnich L, Langenhoven E, Du Plessis L, Retief AE. An exon 4 mutation identified in the majority of South African familial hypercholesterolaemics. J Med Genet. 1990;27(5).

73. How Common is Familial Hypercholesterolemia? | Blogs | CDC [İnternet]. [a.yer 29 Eylül 2022]. Erişim adresi: https://blogs.cdc.gov/genomics/2021/01/25/how-common-is-fh/

74. FH Europe - The Familial Hypercholesterolaemia Network [İnternet]. [a.yer 29 Eylül 2022]. Erişim adresi: https://fheurope.org/?gclid=CjwKCAjwhNWZBhB_EiwAPzlhNqk9okgWNVSEzhud-t2f0jr0g8XxwtxKG7XuneedkuyWW-xAB5PYARoCqkEQAvD_BwE

75. Ison HE, Clarke SL, Knowles JW. Familial Hypercholesterolemia. GeneReviews® [İnternet]. 07 Temmuz 2022 [a.yer 22 Eylül 2022]; Erişim adresi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK174884/

76. Familial Hypercholesterolemia | The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease | OMMBID | McGraw Hill Medical [İnternet]. [a.yer 04 Ekim 2022]. Erişim adresi: https://ommbid.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2709&sectionid=225539965

77. Francis GA, Johnson RL, Findlay JM, Wang J, Hegele RA. Cerebral cholesterol granuloma in homozygous familial hypercholesterolemia. CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can. 15 Şubat 2005;172(4):495-7.

78. Björkhem I. Cerebrotendinous xanthomatosis. Curr Opin Lipidol. Ağustos 2013;24(4):283-7.

79. Devlet Hastanesi V, Kliniği K, Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü İ, Anabilim Dalı K, Ümit Yaşar Sinan İ, Sansoy V. Ailevi hiperkolesterolemi: Epidemiyoloji, genetik, tanı ve tarama Familial hypercholesterolemia: epidemiology, genetics, diagnosis, and screening. Türk Kardiyol Dern Arş-Arch Turk Soc Cardiol. 2014;42(2):1-9.

80. Tomlinson B, Chan JCN, Chan WB, Chen WWC, Chow FCC, Li SK, vd. Guidance on the management of familial hypercholesterolaemia in Hong Kong: An expert panel consensus viewpoint. Hong Kong Med J. 01 Ağustos 2018;24(4):408-15.

81. Cuchel M, Meagher EA, du Toit Theron H, Blom DJ, Marais AD, Hegele RA, vd. Efficacy and safety of a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. Lancet Lond Engl. 05 Ocak 2013;381(9860):40-6.

82. Sjouke B, Kusters DM, Kindt I, Besseling J, Defesche JC, Sijbrands EJG, vd. Homozygous autosomal dominant hypercholesterolaemia in the Netherlands: prevalence, genotype–phenotype relationship, and clinical outcome. Eur Heart J. 01 Mart 2015;36(9):560-5.

83. Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, Raal FJ, Santos RD, Hegele RA, vd. Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. Eur Heart J. 21 Ağustos 2014;35(32):2146.

84. Entry - #143890 - HYPERCHOLESTEROLEMIA, FAMILIAL, 1; FHCL1 - OMIM [İnternet]. [a.yer 29 Eylül 2022]. Erişim adresi: https://www.omim.org/entry/143890

85. Talmud PJ, Shah S, Whittall R, Futema M, Howard P, Cooper JA, vd. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolaemia: a case-control study. The Lancet. 13 Nisan 2013;381(9874):1293-301.

86. Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM, Deng X, vd. Diagnostic Yield and Clinical Utility of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. J Am Coll Cardiol. 07 Haziran 2016;67(22):2578-89.

87. Dullaart RPF. PCSK9 Inhibition to Reduce Cardiovascular Events. N Engl J Med. 04 Mayıs 2017;376(18):1790-1.

88. Naoumova RP, Tosi I, Patel D, Neuwirth C, Horswell SD, Marais AD, vd. Severe Hypercholesterolemia in Four British Families With the D374Y Mutation in the PCSK9 Gene: Long-Term Follow-Up and Treatment Response. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Aralık 2005;25(12):2654-60.

89. Entry - *606945 - LOW DENSITY LIPOPROTEIN RECEPTOR; LDLR - OMIM [İnternet]. [a.yer 27 Ekim 2022]. Erişim adresi: https://www.omim.org/entry/606945

90. Ye H, Zhao Q, Huang Y, Wang L, Liu H, Wang C, vd. Meta-Analysis of Low Density Lipoprotein Receptor (*LDLR*) rs2228671 Polymorphism and Coronary Heart Disease. BioMed Res Int. 12 Mayıs 2014;2014:e564940.

91. umd [İnternet]. [a.yer 27 Ekim 2022]. Erişim adresi: http://www.umd.be/LDLR/

92. hobbs1990 THE LDL RECEPTOR LOCUS.pdf.

93. Davis CG, Elhammer A, Russell DW, Schneider WJ, Kornfeld S, Brown MS, vd. Deletion of clustered O-linked carbohydrates does not impair function of low density lipoprotein receptor in transfected fibroblasts. J Biol Chem. 25 Şubat 1986;261(6):2828-38.

94. Leigh S, Futema M, Whittall R, Taylor-Beadling A, Williams M, Dunnen JT den, vd. The UCL low-density lipoprotein receptor gene variant database: pathogenicity update. J Med Genet. 01 Nisan 2017;54(4):217-23.

95. Madar L, Juhász L, Szűcs Z, Kerkovits L, Harangi M, Balogh I. Establishing the Mutational Spectrum of Hungarian Patients with Familial Hypercholesterolemia. Genes. Ocak 2022;13(1):153.

96. Thompson and Thompson Tıbbi Genetik.

97. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Uribe KB, Jebari S, Larrea-Sebal A, Alonso-Estrada R, vd. Mutation type classification and pathogenicity assignment of sixteen missense variants located in the EGF-precursor homology domain of the LDLR. Sci Rep. 03 Şubat 2020;10(1):1727.

98. Wang AB, Liu DP, Liang CC. Regulation of human apolipoprotein B gene expression at multiple levels. Exp Cell Res. Ekim 2003;290(1):1-12.

99. Innerarity TL, Mahley RW, Weisgraber KH, Bersot TP, Krauss RM, Vega GL, vd. Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia. J Lipid Res. Ağustos 1990;31(8):1337-49.

100. Whitfield AJ, Barrett PHR, van Bockxmeer FM, Burnett JR. Lipid Disorders and Mutations in the APOB Gene. Clin Chem. 01 Ekim 2004;50(10):1725-32.

101. Navaratnam N, Morrison JR, Bhattacharya S, Patel D, Funahashi T, Giannoni F, vd. The p27 catalytic subunit of the apolipoprotein B mRNA editing enzyme is a cytidine deaminase. J Biol Chem. 05 Ekim 1993;268(28):20709-12.

102. Segrest JP, Jones MK, De Loof H, Dashti N. Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins. J Lipid Res. 01 Eylül 2001;42(9):1346-67.

103. Flood C, Gustafsson M, Richardson PE, Harvey SC, Segrest JP, Borén J. Identification of the proteoglycan binding site in apolipoprotein B48. J Biol Chem. 30 Ağustos 2002;277(35):32228-33.

104. Borén J, Ekström U, Agren B, Nilsson-Ehle P, Innerarity TL. The molecular mechanism for the genetic disorder familial defective apolipoprotein B100. J Biol Chem. 23 Mart 2001;276(12):9214-8.

105. Schonfeld G. Familial hypobetalipoproteinemia: a review. J Lipid Res. 01 Mayıs 2003;44(5):878-83.

106. Ross RS, Gregg RE, Law SW, Monge JC, Grant SM, Higuchi K, vd. Homozygous hypobetalipoproteinemia: a disease distinct from abetalipoproproteinemia at the molecular level. J Clin Invest. Şubat 1988;81(2):590-5.

107. Linton MF, Farese RV, Young SG. Familial hypobetalipoproteinemia. J Lipid Res. Nisan 1993;34(4):521-41.

108. Fahed AC, Nemer GM. Familial Hypercholesterolemia: The Lipids or the Genes? Nutr Metab. 2011;8:23.

109. Surdo PL, Bottomley MJ, Calzetta A, Settembre EC, Cirillo A, Pandit S, vd. Mechanistic implications for LDL receptor degradation from the PCSK9/LDLR structure at neutral pH. EMBO Rep. Aralık 2011;12(12):1300-5.

110. Kwon HJ, Lagace TA, McNutt MC, Horton JD, Deisenhofer J. Molecular basis for LDL receptor recognition by PCSK9. Proc Natl Acad Sci. 12 Şubat 2008;105(6):1820-5.

111. Maxwell KN, Breslow JL. Adenoviral-mediated expression of Pcsk9 in mice results in a low-density lipoprotein receptor knockout phenotype. Proc Natl Acad Sci U S A. 04 Mayıs 2004;101(18):7100-5.

112. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. N Engl J Med. 23 Mart 2006;354(12):1264-72.

113. Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, Graham R, Garcia CK, Hobbs HH. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. Nat Genet. Şubat 2005;37(2):161-5.

114. Zhao Z, Tuakli-Wosornu Y, Lagace TA, Kinch L, Grishin NV, Horton JD, vd. Molecular characterization of loss-of-function mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote. Am J Hum Genet. Eylül 2006;79(3):514-23.

115. Iacocca MA, Wang J, Sarkar S, Dron JS, Lagace T, McIntyre AD, vd. Whole-Gene Duplication of PCSK9 as a Novel Genetic Mechanism for Severe Familial Hypercholesterolemia. Can J Cardiol. Ekim 2018;34(10):1316-24.

116. Fellin R, Arca M, Zuliani G, Calandra S, Bertolini S. The history of Autosomal Recessive Hypercholesterolemia (ARH). From clinical observations to gene identification. Gene. 15 Ocak 2015;555(1):23-32.

117. Garcia CK, Wilund K, Arca M, Zuliani G, Fellin R, Maioli M, vd. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. Science. 18 Mayıs 2001;292(5520):1394-8.

118. D'Erasmo L, Di Costanzo A, Arca M. Autosomal recessive hypercholesterolemia: update for 2020. Curr Opin Lipidol. Nisan 2020;31(2):56-61.

119. Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, Raal FJ, Santos RD, Hegele RA, vd. Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. Eur Heart J. 21 Ağustos 2014;35(32):2146-57.

120. Integrated guidance on the care of familial hypercholesterolaemia from the International FH Foundation - PubMed [İnternet]. [a.yer 15 Aralık 2022]. Erişim adresi: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24776375/

121. Genest J, Hegele RA, Bergeron J, Brophy J, Carpentier A, Couture P, vd. Canadian Cardiovascular Society Position Statement on Familial Hypercholesterolemia. Can J Cardiol. 01 Aralık 2014;30(12):1471-81.

122. Azizi F, Rahmani M, Madjid M, Allahverdian S, Ghanbili J, Ghanbarian A, vd. [No title found]. Eur J Epidemiol. 2001;17(3):281-8.

123. Dathan-Stumpf A, Vogel M, Hiemisch A, Thiery J, Burkhardt R, Kratzsch J, vd. Pediatric reference data of serum lipids and prevalence of dyslipidemia: Results from a population-based cohort in Germany. Clin Biochem. Temmuz 2016;49(10-11):740-9.

124. Balder JW, Lansberg PJ, Hof MH, Wiegman A, Hutten BA, Kuivenhoven JA. Pediatric lipid reference values in the general population: The Dutch lifelines cohort study. J Clin Lipidol. 01 Eylül 2018;12(5):1208-16.

125. Louter L, Defesche J, Roeters van Lennep J. Cascade screening for familial hypercholesterolemia: Practical consequences. Atheroscler Suppl. 01 Kasım 2017;30:77-85.

126. Galema-Boers JMH, Versmissen J, Roeters van Lennep HWO, Dusault-Wijkstra JE, Williams M, Roeters van Lennep JE. Cascade screening of familial hypercholesterolemia must go on. Atherosclerosis. 01 Ekim 2015;242(2):415-7.

127. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias_ Lipid modification to reduce cardiovascular risk | Elsevier Enhanced Reader [Internet]. [a.yer 23 Aralık 2022]. Erişim adresi: https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0021915019314595?token=590D40A13B8148A4B7ADDF14A0EC28C96599984CB5817FF4ECE4808447C1967AB01F89BC20CAA093A9DE76B5C75372F0&originRegion=eu-west-1&originCreation=20221223113928

128. Chambergo-Michilot D, Alur A, Kulkarni S, Agarwala A. Mipomersen in Familial Hypercholesterolemia: An Update on Health-Related Quality of Life and Patient-Reported Outcomes. Vasc Health Risk Manag. 21 Şubat 2022;18:73-80.

129. Lui DTW, Lee ACH, Tan KCB. Management of Familial Hypercholesterolemia: Current Status and Future Perspectives. J Endocr Soc. 21 Ağustos 2020;5(1):bvaa122.

130. Review of the scientific evolution of gene therapy for the treatment of homozygous familial hypercholesterolaemia: past, present and future perspectives | Journal of Medical Genetics [İnternet]. [a.yer 06 Ocak 2023]. Erişim adresi: https://jmg.bmj.com/content/56/11/711#ref-61

131. Omer L, Hudson EA, Zheng S, Hoying JB, Shan Y, Boyd NL. CRISPR correction of a homozygous low-density lipoprotein receptor mutation in familial hypercholesterolemia induced pluripotent stem cells. Hepatol Commun. 2017;1(9):886-98.

132. Wilemon KA, Patel J, Aguilar-Salinas C, Ahmed CD, Alkhnifsawi M, Almahmeed W, vd. Reducing the Clinical and Public Health Burden of Familial Hypercholesterolemia: A Global Call to Action. JAMA Cardiol. 01 Şubat 2020;5(2):217-29.

133. Kose E, Kose M, Ozturk SI, Ozcan E, Onay H, Ozkan B. Cascade screening and treatment of children with familial hypercholesterolemia in Turkey. J Pediatr Endocrinol Metab. 01 Ekim 2020;33(10):1251-6.

134. Okul_Sagligi_Hizmetleri_Isbirligi_Protokolu.pdf [İnternet]. [a.yer 10 Aralık 2022]. Erişim adresi: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/cocuk_ergen_db/dokumanlar/Okul_Sagligi_Hizmetleri_Isbirligi_Protokolu.pdf

135. Bebek_Cocuk_Ergen_Izlem_Protokolleri_2018.pdf [İnternet]. [a.yer 10 Aralık 2022]. Erişim adresi: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/cocuk_ergen_db/dokumanlar/yayinlar/Kitaplar/Bebek_Cocuk_Ergen_Izlem_Protokolleri_2018.pdf

136. Turkyilmaz A, Kurnaz E, Alavanda C, Yarali O, Kartal Baykan E, Yavuz Dı, vd. The Spectrum of Low-Density Lipoprotein Receptor Mutations in a Large Turkish Cohort of Patients with Familial Hypercholesterolemia. Metab Syndr Relat Disord. 01 Ağustos 2021;19(6):340-6.

137. Blom DJ, Almahmeed W, Al-Rasadi K, Azuri J, Daclin V, Kayikcioglu M, vd. Low-density lipoprotein cholesterol goal achievement in patients with familial hypercholesterolemia in countries outside Western Europe: The International ChoLesterol management Practice Study. J Clin Lipidol. 01 Temmuz 2019;13(4):594-600.

138. Goldstein JL, Hazzard WR, Schrott HG, Bierman EL, Motulsky AG. Hyperlipidemia in coronary heart disease. I. Lipid levels in 500 survivors of myocardial infarction. J Clin Invest. Temmuz 1973;52(7):1533-43.

139. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, vd. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease : Consensus Statement of the European Atherosclerosis Society. Eur Heart J. 01 Aralık 2013;34(45):3478-90.

140. Do R, Stitziel NO, Won HH, Jørgensen AB, Duga S, Angelica Merlini P, vd. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction. Nature. Şubat 2015;518(7537):102-6.

141. Thormaehlen AS, Schuberth C, Won HH, Blattmann P, Joggerst-Thomalla B, Theiss S, vd. Systematic Cell-Based Phenotyping of Missense Alleles Empowers Rare Variant Association Studies: A Case for LDLR and Myocardial Infarction. PLoS Genet. 03 Şubat 2015;11(2):e1004855.

142. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science. 04 Nisan 1986;232(4746):34-47.

143. Marks D, Thorogood M, Neil HAW, Humphries SE. A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolaemia. Atherosclerosis. Mayıs 2003;168(1):1-14.

144. Haralambos K, Ashfield-Watt P, McDowell IFW. Diagnostic scoring for familial hypercholesterolaemia in practice. Curr Opin Lipidol. Ağustos 2016;27(4):367-74.

145. Degoma EM, Ahmad ZS, O'Brien EC, Kindt I, Shrader P, Newman CB, vd. Treatment gaps in adults with heterozygous familial hypercholesterolemia in the United States. Circ Cardiovasc Genet. 01 Haziran 2016;9(3):240-9.

146. Wonderling D, Umans-Eckenhausen MAW, Marks D, Defesche JC, Kastelein JJP, Thorogood M. Cost-effectiveness analysis of the genetic screening

program for familial hypercholesterolemia in The Netherlands. Semin Vasc Med. Şubat 2004;4(1):97-104.

147. Umans-Eckenhausen MA, Defesche JC, Sijbrands EJ, Scheerder RL, Kastelein JJ. Review of first 5 years of screening for familial hypercholesterolaemia in the Netherlands. Lancet Lond Engl. 20 Ocak 2001;357(9251):165-8.

148. Starr B, Hadfield SG, Hutten BA, Lansberg PJ, Leren TP, Damgaard D, vd. Development of sensitive and specific age- and gender-specific low-density lipoprotein cholesterol cutoffs for diagnosis of first-degree relatives with familial hypercholesterolaemia in cascade testing. Clin Chem Lab Med. 2008;46(6):791-803.

149. Tada H, Kawashiri MA, Nohara A, Inazu A, Mabuchi H, Yamagishi M. Impact of clinical signs and genetic diagnosis of familial hypercholesterolaemia on the prevalence of coronary artery disease in patients with severe hypercholesterolaemia. Eur Heart J. 21 Mayıs 2017;38(20):1573-9.

150. Nordestgaard BG, Benn M. Genetic testing for familial hypercholesterolaemia is essential in individuals with high LDL cholesterol: who does it in the world? Eur Heart J. 21 Mayıs 2017;38(20):1580-3.

151. Fokkema IFAC, den Dunnen JT, Taschner PEM. LOVD: easy creation of a locus-specific sequence variation database using an “LSDB-in-a-box” approach. Hum Mutat. Ağustos 2005;26(2):63-8.

152. Nikkilä K, Åberg F, Isoniemi H. Transmission of LDLR Mutation From Donor Through Liver Transplantation Resulting in Hypercholesterolemia in the Recipient. Am J Transplant. 01 Aralık 2014;14(12):2898-902.

153. Gutierrez G, Schneider A, Jobs J, Schmidt H, Korte A, Manns MP, vd. Homozygous familial hypercholesterolemia: A novel point mutation (W556R) in a Turkish patient. Hum Mutat. Ekim 2000;16(4):374-374.

154. Fairoozy RH, Futema M, Vakili R, Abbaszadegan MR, Hosseini S, Aminzadeh M, vd. The Genetic Spectrum of Familial Hypercholesterolemia (FH) in the Iranian Population. Sci Rep. 06 Aralık 2017;7(1):17087.

155. Schaefer JR, Kurt B, Sattler A, Klaus G, Soufi M. Pharmacogenetic aspects in familial hypercholesterolemia with the special focus on FHMarburg (FH p.W556R). Clin Res Cardiol Suppl. 01 Haziran 2012;7(1):2-6.

156. Mollaki V, Drogari E. Genetic causes of monogenic familial hypercholesterolemia in the Greek population: Lessons, mistakes, and the way forward. J Clin Lipidol. 01 Temmuz 2016;10(4):748-56.

157. Pećin I, Whittall R, Futema M, Sertić J, Reiner Z, Leigh SEA, vd. Mutation detection in Croatian patients with familial hypercholesterolemia. Ann Hum Genet. Ocak 2013;77(1):22-30.

158. Dedoussis GVZ, Genschel J, Bochow B, Pitsavos C, Skoumas J, Prassa M, vd. Molecular characterization of familial hypercholesterolemia in German and Greek patients. Hum Mutat. Mart 2004;23(3):285-6.

159. Wald DS, Bestwick JP, Morris JK, Whyte K, Jenkins L, Wald NJ. Child-Parent Familial Hypercholesterolemia Screening in Primary Care. N Engl J Med. 27 Ekim 2016;375(17):1628-37.

160. Gabčová D, Vohnout B, Staníková D, Hučková M, Kadurová M, Debreová M, vd. The molecular genetic background of familial hypercholesterolemia: data from the Slovak nation-wide survey. Physiol Res. 31 Mart 2017;66(1):75-84.

161. Mak YT, Pang CP, Tomlinson B, Zhang J, Chan YS, Mak TW, vd. Mutations in the low-density lipoprotein receptor gene in Chinese familial hypercholesterolemia patients. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Ekim 1998;18(10):1600-5.

162. Causative mutations and premature cardiovascular disease in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia | European Journal of Preventive Cardiology | Oxford Academic [İnternet]. [a.yer 19 Aralık 2022]. Erişim adresi: https://academic.oup.com/eurjpc/article/24/10/1051/5926664?login=true#supplementary-data

163. Vlad CE, Foia LG, Popescu R, Popa I, Aanicai R, Reurean-Pintilei D, vd. Molecular Genetic Approach and Evaluation of Cardiovascular Events in Patients with Clinical Familial Hypercholesterolemia Phenotype from Romania. J Clin Med. Ocak 2021;10(7):1399.

164. Mollaki V, Progias P, Drogari E. Familial Hypercholesterolemia in Greek children and their families: Genotype-to-phenotype correlations and a reconsideration of LDLR mutation spectrum. Atherosclerosis. 01 Aralık 2014;237(2):798-804.

165. Marusic T, Sustar U, Sadiq F, Kotori V, Mlinaric M, Kovac J, vd. Genetic and Clinical Characteristics of Patients With Homozygous and Compound Heterozygous Familial Hypercholesterolemia From Three Different Populations:

Case Series. Front Genet [İnternet]. 2020 [a.yer 18 Kasım 2022];11. Erişim adresi: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2020.572176

166. Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. Hum Mutat. 1992;1(6):445-66.

167. Jha CK, Mir R, Banu S, Elfaki I, Chahal SMS. Heterozygosity in LDLR rs2228671 and rs72658855 Gene is Associated with Increased Risk of Developing Coronary Artery Disease in India –A Case-Control Study. Endocr Metab Immune Disord - Drug Targets. 20(3):388-99.

168. Bertolini S, Pisciotta L, Rabacchi C, Cefalù AB, Noto D, Fasano T, vd. Spectrum of mutations and phenotypic expression in patients with autosomal dominant hypercholesterolemia identified in Italy. Atherosclerosis. 01 Nisan 2013;227(2):342-8.

169. Traeger-Synodinos J, Mavroidis N, Kanavakis E, Drogari E, Humphries SE, Day IN, vd. Analysis of low density lipoprotein receptor gene mutations and microsatellite haplotypes in Greek FH heterozygous children: six independent ancestors account for 60% of probands. Hum Genet. Mart 1998;102(3):343-7.

170. Ajmal M, Ahmed W, Sadeque A, Ali SHB, Bokhari SH, Ahmed N, vd. Identification of a recurrent insertion mutation in the LDLR gene in a Pakistani family with autosomal dominant hypercholesterolemia. Mol Biol Rep. Aralık 2010;37(8):3869-75.

171. Chen WJ, Goldstein JL, Brown MS. NPXY, a sequence often found in cytoplasmic tails, is required for coated pit-mediated internalization of the low density lipoprotein receptor. J Biol Chem. 25 Şubat 1990;265(6):3116-23.

172. Leren TP, Bogsrud MP. Molecular genetic testing for autosomal dominant hypercholesterolemia in 29,449 Norwegian index patients and 14,230 relatives during the years 1993–2020. Atherosclerosis. 01 Nisan 2021;322:61-6.

173. Pereira E, Ferreira R, Hermelin B, Thomas G, Bernard C, Bertrand V, vd. Recurrent and novel LDL receptor gene mutations causing heterozygous familial hypercholesterolemia in La Habana. Hum Genet. Eylül 1995;96(3):319-22.

174. Bertolini S, Cantafora A, Averna M, Cortese C, Motti C, Martini S, vd. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Eylül 2000;20(9):E41-52.

175. Mozas P, Castillo S, Tejedor D, Reyes G, Alonso R, Franco M, vd. Molecular characterization of familial hypercholesterolemia in Spain: identification of 39 novel and 77 recurrent mutations in LDLR. Hum Mutat. Ağustos 2004;24(2):187.

176. Rodríguez-Jiménez C, Pernía O, Mostaza J, Rodríguez-Antolín C, Dios García-Díaz J, Alonso-Cerezo C, vd. Functional analysis of new variants at the Low Density Lipoprotein Receptor associated with familial hypercholesterolemia. Hum Mutat. 20 Mayıs 2019;humu.23801.

177. Etxebarria A, Benito-Vicente A, Palacios L, Stef M, Cenarro A, Civeira F, vd. Functional Characterization and Classification of Frequent Low-Density Lipoprotein Receptor Variants. Hum Mutat. 2015;36(1):129-41.

178. Romano M, Di Taranto MD, Mirabelli P, D'Agostino MN, Iannuzzi A, Marotta G, vd. An improved method on stimulated T-lymphocytes to functionally characterize novel and known LDLR mutations. J Lipid Res. Kasım 2011;52(11):2095-100.

179. Cavanaugh JA, Easteal S, Simons LA, Thomas DW, Serjeantson SW. FH-Sydney 1 and 2: two novel frameshift mutations in exon 10 of the low-density lipoprotein receptor gene detected by heteroduplex formation. Hum Mutat. 1994;4(4):276-80.

180. Miroshnikova VV, Romanova OV, Ivanova ON, Fedyakov MA, Panteleeva AA, Barbitoff YA, vd. Identification of novel variants in the LDLR gene in Russian patients with familial hypercholesterolemia using targeted sequencing. Biomed Rep. 01 Ocak 2021;14(1):1-1.

181. Taylor A, Wang D, Patel K, Whittall R, Wood G, Farrer M, vd. Mutation detection rate and spectrum in familial hypercholesterolaemia patients in the UK pilot cascade project. Clin Genet. Haziran 2010;77(6):572-80.

182. Fouchier SW, Defesche JC, Umans-Eckenhausen MA, Kastelein JJ. The molecular basis of familial hypercholesterolemia in The Netherlands. Hum Genet. Aralık 2001;109(6):602-15.

183. Nissen H, Hansen AB, Guldberg P, Hansen TS, Petersen NE, Hørder M. Evaluation of a clinically applicable mutation screening technique for genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia and familial defective apolipoprotein B. Clin Genet. Haziran 1998;53(6):433-9.

184. Lee C, Cui Y, Song J, Li S, Zhang F, Wu M, vd. Effects of familial hypercholesterolemia-associated genes on the phenotype of premature myocardial infarction. Lipids Health Dis. 11 Nisan 2019;18:95.

185. Graça R, Alves AC, Zimon M, Pepperkok R, Bourbon M. Functional profiling of LDLR variants: Important evidence for variant classification. J Clin Lipidol. Temmuz 2022;16(4):516-24.

186. Zhao Z, Michaely P. The epidermal growth factor homology domain of the LDL receptor drives lipoprotein release through an allosteric mechanism involving H190, H562, and H586. J Biol Chem. 26 Eylül 2008;283(39):26528-37.

187. Huijgen R, Kindt I, Defesche JC, Kastelein JJP. Cardiovascular risk in relation to functionality of sequence variants in the gene coding for the low-density lipoprotein receptor: a study among 29,365 individuals tested for 64 specific low-density lipoprotein-receptor sequence variants. Eur Heart J. Eylül 2012;33(18):2325-30.

188. Horvath A, Savov A, Kirov S, Karshelova E, Paskaleva I, Goudev A, vd. High frequency of the ApoB-100 R3500Q mutation in Bulgarian hypercholesterolaemic subjects. J Med Genet. Ağustos 2001;38(8):536-40.

189. Pisciotta L, Oliva CP, Pes GM, Di Scala L, Bellocchio A, Fresa R, vd. Autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) and homozygous familial hypercholesterolemia (FH): A phenotypic comparison. Atherosclerosis. 01 Ekim 2006;188(2):398-405.

190. Arca M, Zuliani G, Wilund K, Campagna F, Fellin R, Bertolini S, vd. Autosomal recessive hypercholesterolaemia in Sardinia, Italy, and mutations in ARH: a clinical and molecular genetic analysis. The Lancet. 09 Mart 2002;359(9309):841-7.

191. Muntoni S, Pisciotta L, Muntoni S, Bertolini S. Pharmacological treatment of a Sardinian patient affected by Autosomal Recessive Hypercholesterolemia (ARH). J Clin Lipidol. 01 Ocak 2015;9(1):103-6.

192. Raal FJ, Hovingh GK, Blom D, Santos RD, Harada-Shiba M, Bruckert E, vd. Long-term treatment with evolocumab added to conventional drug therapy, with or without apheresis, in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: an interim subset analysis of the open-label TAUSSIG study. Lancet Diabetes Endocrinol. 01 Nisan 2017;5(4):280-90.

193. Blom DJ, Averna MR, Meagher EA, du Toit Theron H, Sirtori CR, Hegele RA, vd. Long-Term Efficacy and Safety of the Microsomal Triglyceride Transfer Protein Inhibitor Lomitapide in Patients With Homozygous Familial Hypercholesterolemia. Circulation. 18 Temmuz 2017;136(3):332-5.

194. D'Erasmo L, Cefalù AB, Noto D, Giammanco A, Averna M, Pintus P, vd. Efficacy of Lomitapide in the Treatment of Familial Homozygous Hypercholesterolemia: Results of a Real-World Clinical Experience in Italy. Adv Ther. 01 Mayıs 2017;34(5):1200-10.

195. Sánchez-Hernández RM, Prieto-Matos P, Civeira F, Lafuente EE, Vargas MF, Real JT, vd. Autosomal recessive hypercholesterolemia in Spain. Atherosclerosis. 01 Şubat 2018;269:1-5.

8. EKLER

Ek 1

<u>Veri Kayıt Formu:</u>

Olgu numarası:

Dosya numarası: Geliş tarihi:

Doğum tarihi:

Cinsiyeti / Yaş:

Mevcut Şikayet:

İlk Şikayet ve Şikayet başlangıç Yaşı:

Biyokimyasal parametreler:(LDL-K, TOTAL KOLESTEROL, HDL, TG)

Kardiyovaskuler hastalık öyküsü:

Senkop/Presenkop Öyküsü:

Ek sistem bulgusu: (ksantoma, ksantalezma, arcus kornea)

Ek hastalık Öyküsü:(hipertansiyon, diabetes mellitus …)

Beslenme, diyet öyküsü

Egzersiz öyküsü

Sigara öyküsü

Aile Öyküsü:

Varsa ailenin kademeli tarama test sonuçları:

Kullandığı ilaçlar:

Lipid aferez öyküsü:

EKG sonucu: (varsa)

EKO sonucu: (varsa)

Hedefli Yeni Nesil Dizileme Panel Sonucu:

Pedigri:

Ek 2

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Sayın Prof.Dr. Ayfer Ülgenalp

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:	7812-GOA	
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☒ MÜNFERİT ARAŞTIRMA ☐ ÖÇM ☐ YÜKSEKLİSANS ☐ DOKTORA ☐	
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**Tek Merkez Deneyimiyle Ailesel Hiperkolesterolemi ile İlişkili Genlerin "Yeni Kuşak Dna Dizi Analizi (Next Generation Sequencing – Ngs)" Yöntemi ile İncelenmesi**	
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Prof.Dr. Ayfer Ülgenalp 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

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:2023/04-42**	**Tarih:15.02.2023**
	Prof.Dr. Ayfer Ülgenalp'ın sorumlusu olduğu **"Tek Merkez Deneyimiyle Ailesel Hiperkolesterolemi ile İlişkili Genlerin "Yeni Kuşak Dna Dizi Analizi (Next Generation Sequencing – Ngs)" Yöntemi ile İncelenmesi"** 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 ☐	Katılmadı.
Prof.Dr. Suna Asilsoy	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Sefer Örytürk	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 Özgün Alpaydın	Göğüs Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Aliye Akcalı	Periodontoloji	Diş Hekimliği Fakültesi	Kadın	E ☐	H ☒	Katılamadı
Doç.Dr. Şule Özbilgin	Anestezyoloji ve Reanimasyon	DEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Tolga Şahin	Spor Yönetim Bilimleri	Necati Hepkon Spor Bilimleri Fakültesi	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Hatice Şimşek Keskin	Halk Sağlığı	DEÜ Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Dr.Öğr.Üyesi Gamze Tuna	Tıbbi Biyokimya	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Kadın	E ☐	H ☒	

Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan çalışmada yardımcı araştırmacı olduğu için çalışma görüştülürken toplantıda bulunmamıştır.