

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

**ARİTMOJENİK SAĞ VENTRİKÜL KARDİYOMİYOPATİSİ
(ARVC) HASTALARINDA YENİ NESİL DİZİLEME VE
ÇOKLU LİGASYONA BAĞLI PROB AMPLİFİKASYONU
YÖNTEMLERİ İLE MUTASYONLARIN SAPTANMASI VE
OLASI FENOTİP İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYÇA YILDIZ BULUT

İZMİR

2021

Referans No: 10429550

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

**ARİTMOJENİK SAĞ VENTRİKÜL KARDİYOMİYOPATİSİ
(ARVC) HASTALARINDA YENİ NESİL DİZİLEME VE
ÇOKLU LİGASYONA BAĞLI PROB AMPLİFİKASYONU
YÖNTEMLERİ İLE MUTASYONLARIN SAPTANMASI VE
OLASI FENOTİP İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYÇA YILDIZ BULUT

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Murat Derya ERÇAL

İZMİR

2021

İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iii
TABLolar DİZİNİ	iv
KISALTMALAR	v
TEŞEKKÜRLER.....	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ:	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Tanımlar	5
2.2. Epidemiyoloji	5
2.3. Morfoloji	5
2.3.1. ARVC Anatomisi	6
2.3.2. ARVC Histolojisi	6
2.4. Etiyopatogenez	7
2.5. ARVC Genetiği	12
2.5.1. Desmozomal genler	16
2.5.2. Diğer Genler	19
2.5.3. Genotip Fenotip korelasyonu	20
2.6. ARVC Tanısı	21
2.6.1. Genetik Tanı Yöntemleri	25
2.6. Aile taraması	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Hasta Seçimi	29
3.2. Verilerin Toplanması	29
3.3. Genomik DNA İzolasyonu	30
3.4. Spektrofotometre ile DNA Konsantrasyon ve Saflığının Belirlenmesi	31
3.5. Hedefli Yeni Nesil Dizileme Paneli	31
3.5.1. YND Islak Labaratuar Aşamaları	32
3.5.2. YND Verilerinin Biyoinformatik Analizi	32
3.5.3. YND Verilerinin Klinik Analizi	32
3.6. Çoklu Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonu Analizi	33
3.6.1. MLPA Islak Labaratuar Aşamaları	35
3.6.1. Coffalyser programı ile Veri Analizi	36

3.7. VUS varyantlarının tekrar analizi.....	37
3.8. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analiz	37
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
7. KAYNAKLAR.....	74
8. EKLER.....	89
EK 1.Etik Kurul Onayı.....	89
EK 2.Veri Kayıt Formu	91



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: İntraselüler desmosomal “crosstalk” hipotezi

Şekil 2: AK ile ilişkili hücre komponentleri.

Şekil 3: Kardiyak desmosom proteinleri

Şekil 4: MLPA analiz basamakları

Şekil 5A: Kadın ve erkek ARVC olgularında patojenik mutasyon saptanma oranları

Şekil 5B: İlk şikayet yaşı ile patojenik sonuç saptama ilişkisi

Şekil 6A: Klinik önemi bilinmeyen varyantların saptandıkları gen ve değişim tipine göre dağılımları

Şekil 6B: Çalışmamızda saptanan klinik önemi bilinmeyen değişimlerin ClinGen ARVC genleri yeniden değerlendirme çalışmasına göre dağılımları

Şekil 7: Patojenik varyant saptanan olguların pedigrileri

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: ClinGen “expert panel” genleri ve kanıta dayalı sınıflandırma sonuçları

Tablo 2: Revize edilmiş ARVC Çalışma Grubu Kriterleri

Tablo 3: Varyantların patojenite olasılıklarını sınıflaması

Tablo 4: Kardiyomiyopati YND Paneli genleri

Tablo 5: P168-D1 lot numaralı SALSA® MLPA® ARVC-PKP2 kit içeriği

Tablo 6: Dozaj oranları (DQ)’ya göre MLPA sonuçlarını değerlendirirken kullanılan referans aralıklar

Tablo 7: Olguların demografik ve klinik özellikleri

Tablo 8: Olguların Çalışma Grubu Kriterleri’ne göre özellikleri

Tablo 9: Saptanan patojenik varyantların özellikleri

Tablo 10: Saptanan klinik önemi bilinmeyen varyantların

Tablo 11: Olguların aile taraması hedefli mutasyon analiz sonuçları

KISALTMALAR

ACMG	Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Derneği
AK	Aritmojenik Kardiyomiyopati
ARVC	Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi
ARVD	Aritmojenik sağ ventrikül displazisi
CK	Kreatin kinaz
EKG	Elektrokardiyografi
EKO	Ekokardiyografi
ESHG	Avrupa İnsan Genetiği Topluluğu
HBYS	Hastane Bilgi Yönetim Sistemi
HRS	Kalp Ritm Derneği
ICD	İmplant edilebilen kardiyoverter-defibrilatörler
IGV	Bütünleştirici Genomik Görüntüleyici
LOF	Fonksiyon kaybettiren
LV	Sol ventrikül
MLPA	Çoklu ligasyona bağlı prob amplifikasyonu
MI	Miyokardiyal infarktüs
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man®
RV	Sağ ventrikül
RVOT	Sağ ventrikül çıkış yolu
VT	Ventriküler taşikardi
YND	Yeni Nesil Dizileme

TEŞEKKÜRLER

Tez danışmanlığımı üstlenen ve her türlü yardım, öneri ve eleştirileriyle beni yönlendiren, sonsuz sabrı ve paylaştığı bilgi birikimiyle yanımda olan değerli hocam sayın Prof. Dr. Murat Derya Erçal'e

Bu projenin gerçekleşmesini sağlayan, projeye değerli görüşleri ile katkı veren ilgi ve desteğini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ayfer Ülgenalp'e,

Moleküler analizlerin değerlendirilmesinde değerli tecrübe ve tavsiyeleriyle bana yol gösteren sayın Prof. Dr. Ahmet Okay Çağlayan'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi, beceri ve tecrübeleriyle yanımda olan saygıdeğer hocalarım sayın Prof. Dr. Özlem Giray Bozkaya'ya, Doç. Dr. Elçin Bora'ya, Doç. Dr. Tufan Çankaya'ya,

Bilime ve araştırmaya teşviğiyle akademiye sevdiren, çok şey öğrendiğim sayın Doç. Dr. Altuğ Koç'a,

Tez savunmama katılıp değerli katkılarını sunan ERÜ Tıbbi Genetik bölümünden değerli hocam Prof. Dr. Munis Dünder'a

Tez hastalarımın belirlenmesinde desteğini esirgemeyen DEÜTF Kardiyoloji Anabilim Dalı'ndan sayın Doç. Dr. Emin Evren Özcan'a ve Dr. Oğuzhan Ekrem Turan'a

Çalışma hayatını güzelleştiren, bu yolda birlikte yürüdüğümüz Tıbbi Genetik ve Çocuk Genetik bölümlerindeki sevgili hekim arkadaşlarıma,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Tıbbi Genetik Anabilim Dalı çalışanı tüm arkadaşlarıma,

Hayatları boyunca beni destekleyen ve hep arkamda hissettiğim anneme, babama ve bu süreçte anlayış ve desteğiyle yanımda olan sevgili eşim Dr. Utku Bulut'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Dr. Ayça Yıldız Bulut

ÖZET

ARİTMOJENİK SAĞ VENTRİKÜL KARDİYOMİYOPATİSİ (ARVC) HASTALARINDA YENİ NESİL DİZİLEME VE ÇOKLU LİGASYONA BAĞLI PROB AMPLİFİKASYONU YÖNTEMLERİ İLE MUTASYONLARIN SAPTANMASI VE OLASI FENOTİP İLİŞKİSİ

Dr. Ayça YILDIZ BULUT

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İZMİR

Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi (ARVC), iyi karakterize edilmiş kalıtsal bir hastalıktır. Erişkin popülasyondaki prevalansı 1/2000-1/5000'dir. Hastalarda en sık *PKP2*, *DSP* ve *DSG2* gen mutasyonları tespit edilmektedir. Ancak klinik tanı kriterini karşılayan hastaların yaklaşık %40-50'sinde genetik neden tespit edilememektedir. Mutasyon saptanmayan hastalarda, ARVC'den kopya sayısı değişikliklerinin veya henüz bilinmeyen gen mutasyonlarının sorumlu olabileceği düşünülmektedir. ARVC hastalarının ülkemizdeki durumu hakkındaki veriler ise çok kısıtlıdır.

Bu tez çalışmasına ARVC tanısı ile yönlendirilen 24 hasta ve 10 aile yakını dahil edilmiştir. Hastaların 54 geni içeren Kardiyomiyopati Yeni Nesil Dizileme (YND) panel ve *PKP2*, *DSG2*, *DSC2*, *JUP*, *DSP*, *TGFB3* ve *RYR2* genleri çoklu ligasyona bağlı prob amplifikasyonu (MLPA) sonuçları ile klinik özellikleri retrospektif olarak incelenmiştir.

Çalışma popülasyonunda YND analizi ile 3 patojenik, 6 olası patojenik ve 86 klinik önemi bilinmeyen değişiklik saptanmıştır. Buna göre 54 genden oluşan Kardiyomiyopati YND panel analizinin ARVC olgularında tanısal değeri %37,5 olarak bulunmuştur. En sık mutasyon saptanan gen *PKP2* genidir. Varyantlardan *PKP2* geni c.939delC ve c.713del ile *DSP* geni c.803del değişimleri daha önce bildirilmemiş yeni değişimlerdir. Saptanan *PKP2* c.939delC değişimi birbiri ile ilişkisiz 3 olguda saptanmıştır ve bölgemiz için kurucu mutasyon olabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla ileri tetkiklere ihtiyaç vardır. Olgularda MLPA analizi sonucunda delesyon ya da duplikasyon saptanmamıştır.

Bu çalışma ülkemizde yapılmış YND ve MLPA yöntemlerini kullanan ilk ARVC olgu serisidir. ARVC'de genetik testler, saptanan patojenik sonuç ile aile taraması yapılmasına ve risk altındaki aile bireylerinin tespit edilebilmesine olanak sağlamaktadır. Çalışmalar arttıkça ARVC'nin genotip-fenotip ilişkisi daha iyi anlaşılacak ve klinikte kişiselleştirilmiş yaklaşımlar mümkün olacaktır.

Anahtar kelimeler: ARVC, yeni nesil dizileme, MLPA, genotip-fenotip ilişkisi

SUMMARY

TARGETED NEXT GENERATION SEQUENCING AND MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION ANALYSIS RESULTS IN PATIENTS WITH ARRHYTHMOGENIC RIGHT VENTRICULAR CARDIOMYOPATHY (ARVC) AND THE POSSIBLE LINK WITH PHENOTYPE

Dr. Ayça YILDIZ BULUT

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

Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) is a well-defined hereditary disorder. Its prevalence in the adult population is 1/2000-1/5000. The most common disease causing mutations related to ARVC phenotype are reported in *PKP2*, *DSP* and *DSG2* genes. However, approximately 40-50% of cases that meet the diagnostic criteria, the genetic cause cannot be identified. It has been suggested that copy number variations or yet unknown gene mutations may be responsible for these patients. Furthermore, genetic status of patients with ARVC in our country is very limited.

The study cohort consists of 24 ARVC index patients and their 10 relatives. Cardiomyopathy Next Generation Sequencing (NGS) panel containing 54 genes and *PKP2*, *DSG2*, *DSC2*, *JUP*, *DSP*, *TGFB3*, and *RYR2* genes' multiple ligation-induced probe amplification (MLPA) results and clinical features of the patients were analyzed retrospectively.

Three pathogenic (P), six likely pathogenic (LP) and eighty six VUS (variant of unknown significance) changes were found in the study cohort with 37,5% (P, OP) detection rate. *PKP2* gene mutations were found to be the most frequent pathogenic changes. *PKP2* gene c.939delC, c.713del and, *DSP* gene c.803del mutations were novel. The *PKP2* c.939delC mutation was detected in 3 unrelated cases and it was thought that it might be a founder mutation effect for our region. For this purpose, further studies are needed. No deletion or duplication was found in the MLPA analysis of index patients.

This study is the first ARVC case series in our country using the NGS and MLPA methods. Genetic testing in ARVC allows family screening and to identify family members at risk. As studies increase, the genotype-phenotype correlation of ARVC will be understood better and personalized approaches in the medical practice will be possible.

Keywords: ARVC, NGS, MLPA, genotype-phenotype relationship

1. GİRİŞ VE AMAÇ:

Kardiyomiyopati, uygunsuz ventriküler hipertrofi veya dilatasyon gibi yapısal ve/veya elektriksel bozukluğa neden olan kalp kasının heterojen bir grup hastalığı için kullanılan tanımlamadır. Amerikan Kalp Cemiyeti'nin (AHA) 2006 yılında yayınlamış olduğu kardiyomiyopati sınıflamasında, "primer" tanımı sadece miyokardial dokunun tutulduğu kalbe özgü hastalıkları tanımlarken, "sekonder" tanımı miyokardial hastalığın bir sistemik hastalık sonucunda oluştuğunu belirtmektedir. Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi [Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)] ise primer olanlar içinde genetik sınıfta yer almaktadır.¹

ARVC kliniğinden ilk olarak 1736'da Giovanni Maria Lancisi tarafından yayınlanan "De Motu Cordis et Aneurysmatibus" isimli kitapta bahsedilmiştir.² Sonrasında, sağ ventrikülün iskemik olmayan dilatasyonu, trabekülasyonu ve ventriküler aritmilerin gözlemlendiği hastalar üzerinden tanımlanmıştır.³⁻⁵ Literatürde başlangıçta aritmojenik sağ ventrikül displazisi [Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia (ARVD)] olarak adlandırılmıştır.⁶ Ancak zamanla miyokardın gelişim bozukluğu olan displazi olmadığı ve patogenezinin doğumdan sonra başlayan ilerleyici bir süreç olduğunun anlaşılması ile, hastalık kardiyomiyopati olarak gruplanmıştır.^{7,8}

Sağ ventrikül (RV) giriş yolunu (subtriküspit bölge), çıkış yolunu (infundibular bölge) ve RV apeksi etkileyen ARVC'ye özgü yapısal anomali paterni literatürde "displazi üçgeni" şeklinde ilk olarak 1982'de adlandırılmış.⁴ Primer olarak sağ ventrikülün hastalığı olarak bilinse de literatürde sol ventrikül tutulumu olan hastalar nadir değildir.⁷ Bu nedenle hastalığın "Aritmojenik Kardiyomiyopati (AK)" olarak adlandırılması da önerilmiştir.⁹

Özellikle sağ ventrikül serbest duvarında parsiyel veya yaygın miyokard kaybı ile ventriküler dilatasyon ARVC'nin tipik morfolojik bulgularıdır. Bu durum, ilerleyici bir süreç olan yağlı veya fibroz-yaglı değişimin sonucudur.^{10,11} Yağlı ve fibröz değişime neden olan mekanizma halen net olmasa da şimdiye kadar birçok teori ortaya atılmıştır. İnfiltratif ve dejeneratif süreçler ile ilgili teoriler halen güncelliğini korumaktadır.¹²⁻¹⁵

Genetik çalışmalar sonrasında desmozomal gen mutasyonlarının ortaya çıkarılması ise ARVC patogenezinde yeni bir sayfa açılmıştır.¹⁶ Şu anda OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man®) veri tabanında tanımlanmış 14 farklı ARVC fenotipi, 11 gen ve 3 lokus ile ilişkilendirilmiştir. Bunların 5'i desmozomal proteinleri kodlayan genlerdir.¹⁷ OMIM veri

tabanında desmozomal *DSC2*, *DSP*, *DSG2*, *JUP*, *PKP2* genleri ile desmozomal olmayan *DES*, *TGFβ3*, *TMEM43*, *LMNA*, *TTN*, *PLN*, *CTNNA3*, *SCN5A*, *CDH2* genlerinin ARVC ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

ClinGen tarafından bildirilen “expert panel” ise ARVC kliniği ile ilişkilendirilmiş toplam 26 gen içermektedir.¹⁸ ARVC ile ilişkilendirilmiş bu genlerin uluslararası kanıta dayalı yeniden değerlendirme çalışmasında ise desmozomal genler ile birlikte sadece *TMEM43* geni güçlü kanıt ile, *DES* ve *PLN* genleri ise orta kanıt düzeyinde ARVC ile ilişkili bulunmuş, diğer genler için ise küçük ailelerde bildirildiği yada literatürde 2010 Çalışma Grubu Kriterleri’ne uymayan olgular üzerinden bildirildiği için yeterli kanıt düzeyine ulaşılamamıştır.¹⁹

ARVC’nin klinik prezentasyonu, genellikle 2. ile 5. dekad arasında ventriküler aritmi ilişkili semptomlarla kendini belli eder.²⁰ Çarpıntı, senkop/presenkop, göğüs ağrısı, dispne ve kalp yetmezliği diğer sık semptomlardır. Ancak olgularda ilk bulgu da olabilen ani kardiyak ölüm (AKÖ) erken tanının önemini arttırmaktadır. ARVC hastaları egzersizle tetiklenen ventriküler aritmiler açısından da büyük risk altındadırlar. Literatürde genç atletlerdeki ani kardiyak ölümlerde %4 ile 22 arasında ARVC en sık neden olarak saptanmıştır.^{21,22}

ARVC tanısı 2010 yılında güncellenen Çalışma Grubu Kriterleri’ne [Task Force Criteria (TFC)] göre konulmaktadır. Tanısal değerlendirmede 6 farklı kategoride majör ve minör kriterler bulunmaktadır. Kesin tanı, 2 majör veya 1 majör ve 2 minör veya 4 minör kriterin bulunmasıyla konulmaktadır. Sınırdaki veya olası tanı kriterlerini karşılayan olgularda ARVC ile ilişkili genlerde patojenik mutasyon saptanması ile kesin tanı konulabilmektedir.⁹

ARVC olgu serilerinde en sık *PKP2*, *DSP* ve *DSG2* gibi desmozomal gen mutasyonları tespit edilmektedir.²³ Bunun yanında ARVC ilişkili gen mutasyon spektrumunda etnik farklılıklar gözlenebilmektedir.²⁴⁻²⁶

ARVC ilişkili gen mutasyonlarının %90’dan fazlasını nokta mutasyonları oluşturmaktadır.²⁷ Ayrıca *PKP2* geni delesyon/duplikasyon analizinin tanıyı %5,7 arttırdığı bildirilmiştir.²⁸ *DSP* gen delesyonu da büyük ARVC serilerinde saptanmıştır.²⁹ Bu nedenle desmozomal genlerde delesyon/duplikasyon analizi literatürde önerilmiştir.³⁰

Literatürde birden fazla desmozomal gende mutasyon saptanan yani dijenik kalıtım gösteren ARVC olguları da bildirilmiştir. Bu olgular aritmi semptomları ve ani kardiyak ölüm açısından daha büyük risk altındadır.^{20,31} Bunun dışında *DSP* gen varyantlarının daha çok sol ventriküler disfonksiyonla, *PKP2* gen varyantlarının ise daha sık ventriküler aritmilerle giden ARVC olgularında görülebileceği gibi genotip-fenotip ilişkileri literatürde bildirilmiştir.²³

Literatürde kesin kanıta dayalı olarak ARVC ile ilişkisi bildirilen kısıtlı sayıda gen olmasına karşılık kardiyomiyopatilerin heterojen bir grup hastalık olması, ileri dönem kardiyomiyopati olgularında görüntüleme yöntemleri ile spesifik bulgu tespitinin zorlaşması ve örtüşen klinikler nedeniyle merkezimizde kardiyomiyopati olgularına sık rastlanan genleri içeren geniş bir YND paneli çalışılmaktadır.³²⁻³⁴ ARVC olgularında digenik kalıtım ve aritmojenik kardiyomiyopati olgularında dual fenotip literatürde bildirilmiştir.^{35,36} Bu nedenle ARVC ön tanısı ile başvuran tüm olgulara desmozomal genlere yönelik delesyon/duplikasyon analizi yapılmaktadır.

ARVC klinik tanı kriterlerini sağlayan olgularının %60-65'inde bilinen genlerde patojenik mutasyon saptanmaktadır. Mutasyon saptanmayan gruptan kopya sayısı değişikliklerinin veya henüz bilinmeyen gen mutasyonlarının sorumlu olabileceği düşünülmektedir.³⁷ Genetik tetkiklerin daha yaygın kullanılmaya başlanması ve olgu serisi çalışmaları ile saptanan yeni aday genler ve kopya sayısı değişiklikleri, ARVC mutasyon spektrumu hakkındaki bilgimizi değiştirebilir.

ARVC'nin genetik ve fenotip heterojenitesi hastalara tanı koymayı güçleştirmekte ve olguların erken tedaviye ulaşmalarını engelleyebilmektedir.³⁸ Moleküler analizler ile patojenik bir varyant tanımlanması, klinik tanı kriterlerini tam karşılamayan olguların veya azalmış ve yaşa bağlı penetrans nedeniyle asemptomatik olan risk altındaki bireylerin tanı almasını sağlamaktadır. Ayrıca tanı alan olguların klinik yönetimi ve aile bireylerindeki riskin öngörülebilmesi için muayene ve görüntüleme bulgularına ek olarak hastalıktan sorumlu genetik nedenin de göz önünde bulundurulması önemlidir.

ARVC hastalarının ülkemizdeki durumu hakkındaki veriler kısıtlıdır. Olgu sunumları dışında hasta serisi bulunmamaktadır.^{39,40}

Bu tez çalışmasında Aritmojenik Sağ Ventriküler Kardiyomiyopati (ARVC) tanısı ile takip edilen ve Dokuz Eylül Üniversitesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'nde (DEGEDEM) moleküler genetik tetkikleri yapılmış hastalarda klinik bulgular ve genetik etiyoloji retrospektif olarak incelenmiştir.

Bu çalışmanın amacı ARVC tanısı ile takip edilen olgularda Yeni Nesil Dizileme yöntemi (YND) ve Çoklu Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonu (MLPA) analizi ile genetik etiyolojiyi aydınlatmak, genotip-fenotip korelasyonu kurmak ve Türkiye'deki olgulara ait klinik ve genetik tablonun bir kesitini sunmaktır. Gençlerde önemli bir ani kardiyak ölüm

nedeni olan ARVC kliniğine dikkat çekilmiştir ve saptanan mutasyonlar ile olguların klinik bulguları incelenerek ve literatüre katkı sağlanmıştır.

Çalışmanın soruları aşağıda sıralanmıştır;

- ARVC kliniği ile ilişkili genler bölgesel ve etnik farklılık göstermektedir. Türkiye’de ARVC hastalarında genetik mutasyon spektrumu farklı ülkelerdeki hasta serilerinde saptanan en sık gen mutasyonlarına uymakta mıdır?
- Literatürde yeni nesil dizileme teknolojileri ile ARVC hastalarının %60-65’ine moleküler tanı konulabilmektedir. Kliniğimizde yapılan yeni nesil dizileme analizinin bu hastalık grubu için moleküler tanıya katkısı ne kadardır?
- Literatürde MLPA analizinin *PKP2* genine ek %5,7 tanı sağladığı bildirilmiştir. Kliniğimize başvuran hastalarda MLPA analizinin tanıya katkısı ne kadardır?

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanımlar

Aritmojenik Kardiyomiyopati (AK), iskemik, hipertansif veya kalp kapak hastalığı ile açıklanamayan kalp kasının bozukluğudur. Etiyolojisi sarkoidoz gibi sistemik bir hastalık, miyokardit gibi kardiyak bir patoloji veya genetik nedenlerle açıklanmaktadır.⁴¹

Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi [Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)], sağ ventrikülde fibroz yağlı değişiklik ve ventriküler aritmiler ile karakterize, iyi tanımlanmış kalıtsal bir kardiyomiyopatidir. ARVC kliniğinden ilk olarak 1736'da Giovanni Maria Lancisi tarafından yayınlanan "De Motu Cordis et Aneurysmatibus" isimli kitapta bahsedilmiştir.² Sonrasında, sağ ventrikülün iskemik olmayan dilatasyonu, trabekülasyonu ve ventriküler aritmilerin gözlemlendiği hastalar üzerinden tanımlanmıştır.³⁻⁵

Literatürde başlangıçta aritmojenik sağ ventrikül displazisi [Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia (ARVD)] olarak adlandırılmıştır.⁶ Ancak zamanla miyokardın gelişim bozukluğu olan displazi olmadığı, patogenezinin doğumdan sonra başlayan ilerleyici bir süreç olduğunun anlaşılması ile hastalık kardiyomiyopati olarak gruplanmıştır.^{7,8}

Uluslararası çalışma grubu tarafından 1994 yılında yayınlanan⁴² ve 2010 yılında güncellenen⁹ Çalışma Grubu Kriterleri [Task Force Criteria (TFC)], hastalığın yapısal, histolojik, elektrokardiyografik, aritmik ve ailesel özellikleri üzerinde fikir birliği oluşmuş kriterleri tanımlar ve ARVC klinik yönetiminde günlük pratikte kullanılmaktadır.

2.2. Epidemiyoloji

ARVC'nin erişkin popülasyondaki prevalansı 1/2000-1/5000 arasında bildirilmiştir. Hastalık erkeklerde kadınlara göre 3 kat daha fazla saptanmıştır.⁴³ Ayrıca genç erişkinlerde ani ölümün önemli bir bölümünü oluşturmaktadır.⁴³ Bazı serilerde genç atlet ölümlerinin %20'sinde ARVC tespit edilmiş ve en sık neden olarak saptanmıştır.^{21,22} ARVC'nin genetik heterojenitesi ve farklı klinik bildirimleri nedeniyle saptanan sıklıkların gerçek prevalansın altında kaldığı tahmin edilmektedir.⁴⁴ Klinik bulgular sıklıkla 20 ile 50 yaş arasında ortaya çıkmaktadır.⁴⁴ Nadiren adölesan çağda tanı alınabilir.^{45,46 45,46}

2.3. Morfoloji

Özellikle sağ ventrikül serbest duvarında lokalize veya yaygın miyokard kaybı ile ventriküler dilatasyon ARVC'nin tipik morfolojik bulgularıdır. Bu durum ilerleyici bir süreç olan yağlı veya fibröz-yaglı değişimin sonucudur.^{10,11}

2.3.1. ARVC Anatomisi

Sağ ventrikül (RV) giriş yolunu (subtriküspit bölge), çıkış yolunu (infundibular bölge) ve apeksini etkileyen ARVC'ye özgü yapısal anomali literatürde “displazi üçgeni” şeklinde ilk olarak 1982’de adlandırılmıştır.⁴ Ancak bu tanımlama RV anjiyografisi ve otopsi verilerine dayandırılmaktadır. Sonraki yıllarda Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR) ve genetik tetkikler ARVC tanısında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.^{47,48} Genotip pozitif ARVC hasta serilerinde, displazi üçgeninin bir köşesi olarak tanımlanan RV apeks tutulumunun aslında geç dönem hastalık bulgusu olduğu sol ventrikül (LV) posterolateral duvar tutulumunun daha erken saptanan yaygın bir bulgu olduğu bildirilmiştir.¹⁰ Ayrıca, 5205 ani kardiyak ölüm vakasının otopsi çalışmasında %4’ünün patolojik tanısı aritmojenik kardiyomiyopati olarak saptanmış ve bunların %70’inde biventriküler tutulum gözlenmiştir.⁴⁹ Güncel bilgilerin ışığında, sol ventrikül tutulumu, sağ ventrikül kadar yaygın olmasa da görülebilmektedir ve ARVC ilerleyici bir hastalık olduğu için ileri yaşlarda daha da yaygındır denilebilir. Postmortem çalışmalarda olguların %76’sında LV tutulumun gözlenmiştir ve bu tutulum genellikle serbest duvarın subepikardiyum veya orta mural tabakaları içerir.^{20,34,50–52} Sol ventrikül tutulum derecesi genotip ile de ilişkilidir, *PKP2* mutasyonu taşıyıcılarında daha nadiren sol ventrikül tutulumu gözlenir.⁵³

Biriken veriler bize ARVC’nin izole sağ ventrikülü tutan bir hastalık olmadığını ve altta yatan genetik nedene göre oldukça heterojen bir klinik ortaya çıkarabileceğini göstermiştir.^{45,51} Bu nedenle HRS (“Heart Rhythm Society”) raporunda aslında ARVC tanımı yerine bazı olgularda aritmojenik kardiyomiyopati (AC) tanımının kullanılmasının daha doğru olabileceğinden bahsedilmiştir.⁴¹

2.3.2. ARVC Histolojisi

Histolojik çalışmalar, ARVC’de fibröz ve yağ dokusu arasında nekrotik miyositler ile düzensiz mononükleer infiltratları içeren inflamatuvar bir süreci göstermektedir.

Başlangıçta hasta serilerinde saptanan histolojik bulgularla hastalık iki farklı gruba ayrılmıştır. Bunlar, fibröz-yagli değişiklik ve yağlı değişiklik yapısıdır. Fibröz-yagli değişim yapısı miyokardiyal atrofi, fibröz ve yağlı doku birikimi ile miyokardiyal incelme ve inflamatuvar infiltratlar ile karakterizedir. Sağ ventrikülün incelmış duvarında anevrizma oluşumu ve sol ventrikül etkilenmesi olguların yarısından fazlasında vardır. Ventriküler septum ise daha az bir kısmında etkilenmiştir. Sağ ventrikül tutulumu çoğunlukla diffüzken çok az bir kısmında segmentaldir. Yağlı değişim ise normal veya artmış miyokardiyal kalınlık ve yağlı birikim ile karakterizedir. Birikim daha çok sağ ventrikül anterolaterali ve infundibulumda

gözlenir. Yağlı değişim epikard veya miyokardın orta kısmından başlayarak ilerler ve endokardı tutarak transmural olur. Bu aşamada inferoposterior duvar korunur ve ventrikül duvar kalınlığı artar. İnflamasyon, anevrizma ve sol ventrikül etkilenmesi daha az gözlenir.^{11,54,55}

Sonraki kalp kası biyopsi çalışmalarında, sadece yağlı değişimin ARVC'den farklı bir patolojik süreç sonucu olabileceği ileri sürülmüştür. Bu seride sadece yağlı infiltrasyon gözlenen olguların hiçbirinde aritmi öyküsü veya ailede ani kardiyak ölüm öyküsü saptanmamıştır. Ayrıca epikardiyal yağlı infiltrasyonun normal yaşlanma sürecinin bir parçası olduğu bilinmektedir. Bu nedenle otopsi veya biyopsi verilerine dayanarak ARVC tanısı koymada dikkatli olunmalıdır.^{56,57}

Literatür tartışmalı olsa da, Tabib ve ark. 200 ARVC'li olgu serisi yayınlamışlar ve histolojik olarak saptanan izole yağlı birikim eğer düzensiz miyosit lifleri ile ilişkili ise patolojik olabilir diye yorumlamışlardır.⁵²

2.4. Etiyopatogenez

ARVC'de gözlenen tipik patolojik ve histolojik bulgulara neden olan mekanizma halen belirsiz olsa da şimdiye kadar birçok teori ortaya atılmıştır. Sağ ventrikül miyokardının fibröz-yağlı değişimi üç temel mekanizma ile açıklanabilmektedir. Bunlar;

- Apoptozis veya programlı hücre ölümü,⁵⁸⁻⁶⁰
- Farklı prezentasyonlarda ortaya çıkabilen inflamatuvar kalp hastalığı,⁸
- Miyokarditten bağımsız olarak atrofiye neden olacak bir miyokardiyal distrofidir.⁵⁴

Tarihsel sırayla incelendiğinde ilk olarak 1952 yılında Dr. Henry Uhl sağ ventrikülde total miyokard yokluğu saptadığı 8 aylık bir hastası üzerinden Uhl's anomalisini tanımlamıştır.⁶¹ Bu yıllarda saptanan ARVC olguları da Uhl's anomalisi gibi kardiyak yapısal defekt olarak düşünülmüş ve literatürde konjenital kalp hastalığı altında ARVD tanımı ile incelenmiştir.⁶² **Disontogenetik teoriye** göre miyokardiyum kaybı konjenital bir displazi veya hipoplazi sonucudur ve parşömen benzeri görünüme neden olur.^{63,64}

Önceki bölümde bahsedildiği gibi ARVC histolojik bulguları inflamatuvar süreçleri göstermektedir ve bu durum aslında önceden sanıldığı gibi miyokardiyal atrofinin konjenital olmayıp postnatal ilerleyici bir süreç sonrasında oluştuğunu göstermektedir. Histolojik incelemeler ve genetik etiyolojinin aydınlatılmasıyla beraber disontogenetik teori tamamen terkedilmiştir.¹⁵

ARVC, 1996'da Dünya Sağlık Örgütü (WHO)/Uluslararası Kardiyoloji Derneği Çalışma Grubu'nun raporunda kardiyomiyopatiler içinde sınıflandırılmıştır. Epikardın doğrudan endokarda komşu olduğu total yada parsiyel sağ ventrikül miyokard yokluğu ile giden konjenital kalp hastalığı olan Uhl's anomalisi ile ayrı sınıflanmaları gerektiği bildirilmiştir.^{65,66}

ARVC'nin farklı yaş gruplarında gözlenebilmesi epikard ve endokardın birbirleriyle yapışmamış olup aralarında korunmuş bir aralık olması ve miyositlerin apoptotik sürecinin farklı aşamalarında inflamatuvar hücreler ve fibroadipöz doku ile birlikte görülmesi, bu hastalığın edinsel olduğunu desteklemektedir. Histolojik incelemelerde saptanan inflamatuvar infiltratlar CD43+ ve CD45+ lenfositlerden oluşmaktadır. Otopsi serilerinde miyokardiyal infiltrasyon %75 gibi yüksek oranlarda bildirilmiştir.^{51,54,55} Bu süreç etkilenen sağ ventrikülde epikarttan başlayıp endokarda doğru ilerleyen bir yara iyileşme sürecine benzemektedir.^{51,54,55} Disontogenetik teori dışında bahsedilecek diğer hastalık mekanizmalarının birbirini dışlama olasılığı düşüktür ve tümü, son ortak yol olan dezmozomal fonksiyon bozukluğu sonucunda ARVC'nin patogeneze katkıda bulunabilir.¹⁵

İnflamatuvar teoriye göre fibröz yağlı birikim kronik miyokardit sürecinin sonucudur.¹²⁻¹⁴ Bu inflamasyonun enfektif mi yoksa ölen miyositlerden salgılanan proinflamatuvar sitokinler sonucu oluşan immün bir mekanizma ile mi ortaya çıktığı bilinmemektedir.^{12,58 12,58}

Daha önceki yayınlarda kalp dokusuna, özellikle de sağ ventrikül miyokardına afinitesi olan enterovirüs, adenovirüs, hepatit C ve parvovirüs B19 gibi virüsler bilinmektedir ve bazı ARVC hastalarında da saptanmıştır. Bu durum enfektif bir patogeneze olasılığını düşündürmüştür.^{67,68} Enfektif bir nedenle tetiklenebilmesi genetik etiyolojiyi dışlamaz çünkü viral enfeksiyonlara karşı oluşan immün yanıtı da genetik yatkınlık belirleyebilir.^{54,68} Ancak sonraki çalışmalarda transgenik fare modellerinde çok erken dönemde inflamasyonun saptanması ve miyokardit bulguları saptanan dilate kardiyomiyopati ve AK hastalarında viral genoma rastlanmaması, nonenfektif miyokardit hipotezini öne çıkarmıştır ve enfeksiyonların süreci hızlandırabilecek bir neden olabileceği ama başlatıcı neden olmadığı düşünülmüştür.^{69,70}

Aktif nekroz sürecine eşlik eden bir inflamatuvar yanıtın, hastalığın klinik başlangıcının veya periyodik alevlenmelerinin altında yatabileceği ileri sürülmüştür.⁶⁹ Bu görüş literatürle de desteklenmiştir. ARVC hastalarının, ventriküler gerilimin arttığı adolesan dönemde miyokardiyal infarktüs (MI) hastalarına benzer şekilde göğüs ağrısı, elektrokardiyografi (EKG) bulguları ve kreatin kinaz (CK) yüksekliği ortaya çıkardıkları bildirilmiştir.⁷¹ İdiyopatik sağ

ventrikül çıkış yolu taşikardisi olan hastalara göre ARVC olgularında ventriküler taşikardi (VT) sonrası C reaktif protein (CRP) düzeyleri yüksek saptanmıştır.⁷² Bunun yanında hastalarda IL-1 β , IL-6, ve tümör nekrozis faktör gibi proinflamatuvar sitokinlerin arttığı saptanmıştır.⁷³ Sarkoidoz, miyokardit ve ARVC hastalarında artan sitokinlerin hücresel düzeyde desmozomal proteinlerdeki bozulma yoluyla aritmogeneze neden olduğu gösterilmiştir.⁷⁴

Dejeneratif teori (Miyokardiyal distrofi) ise miyokardiyum kaybını yapısal veya metabolik bir süreç sonunda miyokardiyal hücre ölümü ile açıklamaktadır. Hastalık ile ilişkilendirilen gen mutasyonlarının yayınlanmasından çok önce 1996 yılında ortaya atılan bu görüş halen en kapsamlı teoridir.^{15,54} Yaşamın ilerleyen yıllarında ortaya çıkan ve ilerleyici musküler atrofi ve yağlı-fibroz değişiklik gözlenen histolojik bulguların konjenital musküler distrofiler ile benzerliği kardiyak kas hücre apoptozu veya nekrozunun distrofik olabileceğini düşündürmüştür.^{58,59} Deneysel verilerse fibröz yağlı değişimi başlatan olayın miyosit nekroz olabileceğini desteklemiştir.^{69,70} Yayınlanan ailesel vakalar da bu hastalığın genetik geçişli bir distrofi olabileceği ve eksik penetrans ve değişken ekspresivite gösterdiği düşündürmüştür.⁷⁵⁻

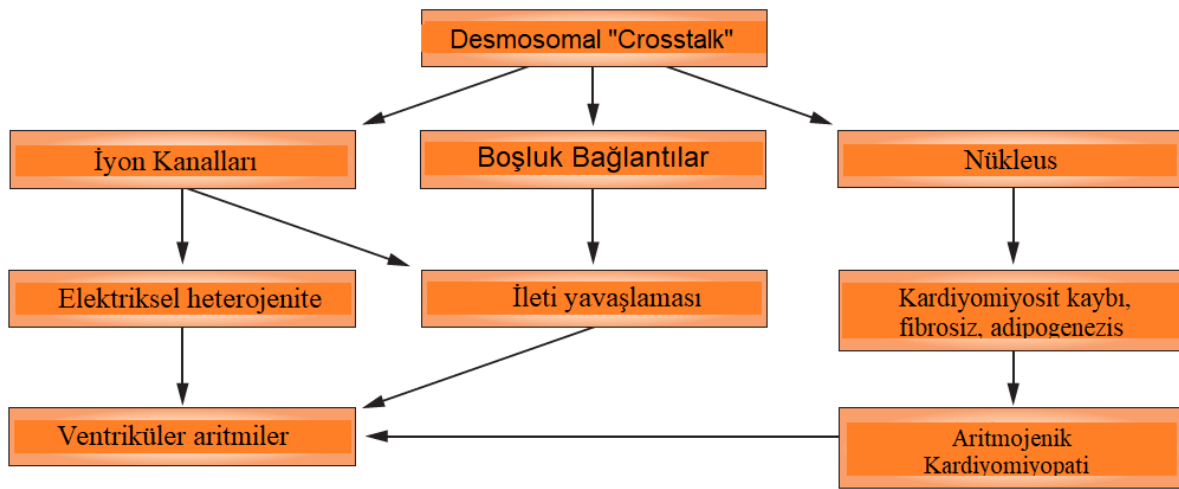
78

Ayrıca ARVC’de gözlenen miyosit ölümünün apoptotik mekanizma ile olabileceği de ileri sürülmüştür.⁶⁰ Normal postnatal kardiyak gelişimin bir parçası olan sağ ventriküler involüsyon, apoptozis ile düzenlenmektedir. Bu yeniden modelleme dışında devam eden apoptosiz ve anormal iyileşme sonucu ARVC’nin ortaya çıkabileceği ileri sürülmüştür. Bu apoptotik alanlar elektriksel iletimi bozarak hayatı tehdit eden aritmilere neden olabilir ve farklı virüs enfeksiyonları da bu süreci tetikleyebilir. Bu teori ARVC’nin sağ ventrikül tutulumunu açıkladığı için oldukça popüler olmuştur.^{54,79}

Genetik çalışmalar sonrasında desmozomal gen mutasyonlarının ortaya çıkarılması ile ARVC patogenezinde yeni bir hipotez ortaya çıkmıştır.¹⁶ Ultrastruktürel çalışmalar ile ARVC hastalarının miyosit biyopsilerinde desmozomların anomalisi veya kaybı ile “intercalated disc” (hücreler arası iletişim bölgesi) yapısında yeniden düzenlenme saptanmıştır.⁶⁸ Bu bulgu desmozomal gen mutasyonları sonucunda interselüler bağlantıların bozulmasına bağlı hücre ölümü teorisini desteklemektedir. Bu teoriye göre kalp içi basıncı , duvar gerilimini ve “afterload” (kalbin son yükü)’nü arttıran egzersiz, mekanik ayrılmayı ağırlaştırmaktadır. Bunun sonucunda klinik bulgular, dirence sol ventriküle göre daha az dayanıklı ve daha ince olan sağ ventrikülde ortaya çıkmaktadır⁸⁰ ve klinik çalışmalarda egzersize bağlı ani kardiyak ölümün önemli bir sebebi olarak karşımıza gelen ARVC açıklanmaktadır.⁸¹⁻⁸⁴ Ancak mutant plakoglobin veya plakofilin genlerini eksprese eden transgenik fare modellerinde hücreler arası

adezyonda bir azalma tespit edilmemiştir. Bu durum araştırmacıları desmozomal mutasyonlar ve ARVC ilişkisini açıklamak için farklı yolları araştırmaya yöneltmiştir.^{68,85}

Desmozomlar, hücre-hücre bağlanmasını sağlayan özel yapılar olmanın yanı sıra, hücre içi ve hücreler arası sinyal iletiminin önemli araçlarıdır.²⁰ ARVC genetiği bölümünde ayrıntılı olarak bahsedilen desmozomal genlerin ürünleri ve etkileşimde olduğu birçok protein ARVC’de altta yatan patolojiyi açıklamak için incelenmiştir. Desmozomal gen mutasyonları çekirdeğe, “gap junction” kompleksine ve iyon kanallarına giden sinyal yollarını etkileyebilir.¹⁵



Şekil 1: İntraselüler desmozomal “crosstalk” hipotezi. Olası hedefler: “Intercalated disc” proteinleri [İyon kanalları veya boşluk bağlantı (gap junctional) proteinleri] ve nükleer sinyal proteinleri. Basso ve ark.¹⁵ makalesinden alıntıdır.

Desmozom ve nükleer sinyal yolları ilişkisi:

Desmozomal proteinler hücre içi ve hücreler arası sinyal yollarının da önemli birer düzenleyicisidirler. ARVC’ye neden olan desmozomal mutasyonlar plakoglobin hücre yüzeyinden ayrılmasına ve hücre içinde ve nükleusda miktarının artmasına yol açar. Plakoglobin diğer adıyla γ -katenin, nükleer translokasyon ve kanonik Wnt sinyalinin aktivasyonu için β -katenin ile rekabet eder.²⁰

Wnt- β -katenin sinyal yolağı aktivasyonu adipogenik transkripsiyon faktörlerini [CEBPA (CCAAT/enhancer-binding protein α), adiponektin, ve PPAR γ ’yı (peroxisome proliferator-activated receptor γ) gibi] baskılayarak pre-adipositleri farklılaşmamış aşamada tutar. Bu sinyalin baskılanması ise adipogenez tetikler. Eduardo Garcia-Gras ve ark. 2006 yılında yayınladıkları hücre kültürü ve transgenik fare çalışması ile bu mekanizmadan

bahsetmişlerdir. Bu çalışmada kalp kası hücre kültüründe desmoplakinin siRNA (short interfering RNA) kullanılarak azaltılmasıyla kanonik Wnt sinyal yolunun baskılandığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada *DSP* geni mutant fare modellerinde mutasyon homozigot durumda ise embriyonel dönemde letal olurken, heterozigot durumda iken insandaki Aritmojenik Kardiyomiyopati (AK)'ye benzer şekilde ventrikülde miyokardiyal fibrozis ve yağlanma artışı oluşmuştur ve bu miyositlerde artmış nükleer plakoglobin ekspresyonu gösterilmiştir.^{86 86}

2009 yılına kadar Wnt sinyal yolağı baskılanması sonucu artan adipöz dokunun kaynağı bilinmemekteydi. Lombardi ve ark. hücre soy takibi çalışmaları ile AK fare modellerindeki adipositlerin kardiyak kök hücrelerden kaynaklandığını göstermişlerdir.^{87,88} Bu hücreler daha önce iskelet kasında gösterilen ve hücre yüzeyi belirteci PDGF- α (platelet kaynaklı büyüme faktörü reseptörü- α) varlığı ile karakterize bir progenitör hücre alt grubuna benzemektedir ve miyojenik kök hücrelere, fibroblastlara, veya adipositlere dönüşebilmektedirler.⁸⁹ Daha ileri çalışmalar bahsedilen özelliklerinden dolayı bu hücreler fibro/adipogenik progenitör hücreler (FAP) olarak adlandırmıştır. Bu hücrelerde desmozomal protein ekspresyonunun ve Wnt sinyal yolak inhibisyonun adiposit dönüşümünü tetiklemesinin gösterilmesi ile de teori desteklenmiştir.⁹⁰ Ayrıca Wnt sinyal yolağı sağ ventrikül gelişiminde de önemli rol oynamaktadır ve ARVC'de sağ dominant tutulumu açıklayabilir.⁹¹

Sonraki yıllarda plakoglobini kodlayan *JUP* geni mutant fare modellerindeki çalışmalarda da beklendiği gibi Wnt- β -katenin sinyal yolak aktivasyonu gözlenmemiştir. Aksine artmış TGFR β (transforming growth factor β) sinyali, bozulmuş hücre hücre mekanik eşleşmesi nedeniyle artmış hücre duvar stresini göstermektedir. Bu strese bağlı hücre ölümü, inflamasyon ve fibrosiz, *JUP* mutant ARVC'de patogeneze açıklık getirebilir.^{70,92}

Desmozom ve boşluk bağlantı (gap-junction) proteinleri ilişkisi:

Naxos veya Carvajal hastalığı tanısı olan hastalarda yapılan immünohistokimyasal ve elektron-mikroskopik çalışmalar, plakoglobinin hücre-hücre bağlantılarına lokalizasyonunun bozulmasının, connexin-43 (gap junction $\alpha 1$ proteini) ekspresyonunu düşürerek boşluk bağlantı sayı ve boyutunu azalttığını ortaya koymuştur.^{93,94} Bu durum iletimin yavaşlamasına neden olabilir ve böylece miyosit hasarı meydana gelmeden önce aritmilere yatkınlık yapabilir. Bu hipotezin hayvan modellerinde ve insanlarda kanıtlanması için daha fazla çalışma gerekmektedir.¹⁵

Desmozom ve iyon kanalları ilişkisi:

Bağlantı proteinleri ile diğer proteinlerin olası ilişkisi hücreler arası bağlantılar seviyesinde incelenmiştir. Desmozomlar, sodyum kanalları ve boşluk-bağlantı proteinleri, miyositlerin adezyonunu, uyarılabilirliğini ve hücreler arası bağlantıyı düzenlemek için sinerjistik olarak çalışırlar. Birbirine bağlı disklerde bulunan koordineli protein ağı, “konneksom” olarak adlandırılmıştır. Özellikle *SCN5A* ve *PKP2* gen ürünü proteinler aynı moleküler kompleks içinde bir arada bulunur ve plakofilin-2 ekspresyonunun kaybı, sodyum kanal akımının genliğini ve kinetiğini etkileyerek ventriküler miyositlerdeki aksiyon potansiyellerinin yayılma hızını değiştirir. Yine Brugada sendromu da sodyum kanal bozukluğuna bağlı aritmi bozukluğudur ve ARVC ile benzer klinik bulgular verebilir.⁹⁵⁻⁹⁷

Hücreler arası bağlantılar seviyesindeki incelemeler desmozomal mutasyonların, Hippo yolağını da etkileyebileceğini öne sürmüştür. Nörofibromin 2 (diğer adıyla Merlin) düzeyini değiştirerek kalpteki fibroadipöz doku gelişimine katkıda bulunabilir. *PKP2*, *JUP* ve *DSP* mutant fare modellerinde Hippo yolak aktivasyonu birçok belirteç üzerinden gösterilmiştir. Hippo yolak aktivasyonu daha önce bahsedilen Wnt sinyal yolağını da baskılar.^{98,99}

Desmozomlar, sodyum iyon kanalları ve bağlantı proteinleri ayrı olarak değerlendirilmemelidir, birinde ortaya çıkan bozukluğun diğerlerinin işlev ve bütünlüğünü etkilediği bir kompleks gibi davranırlar.¹⁰⁰

2.5. ARVC Genetiği

ARVC genetik olarak oldukça heterojen bir hastalıktır. Günümüze kadar ARVC ile ilişkilendirilmiş gen listesi tablo 1 ‘de verilmiştir. 2000 yılına kadar ARVC nedeni olan genler ile ilgili çok az bilgi elde edilebilmiştir. Özellikle sağ ventrikülü etkileyen bu kardiyomiopatiye ilgi artmış ancak eksik penetrens, ani kardiyak ölümün gözlenmesi ve etkilenen ailelerin küçüklüğü nedeniyle bağlantı analizleri sınırlı olarak yapılabilmektedir.¹⁰¹⁻¹⁰³

ARVC genetiği için dönüm noktası Naxos hastalığı ve desmozomal gen ilişkisinin tanımlanmasıdır. Yunan adası olan Naxos’da palmoplantar keratoderma, belirgin yünsü saç ve aritmojenik kardiyomiopatinin gözlendiği bir hasta grubunda resesif kalıtılan plakogloblin (*JUP*) gen mutasyonlarının tanımlanması sonrasında diğer desmozomal genler de hızla tanımlanmış ve ARVC bir kalp desmozom hastalığı olarak düşünülmüştür.¹⁰⁴⁻¹⁰⁸ Sonraki çalışmalarda ARVC tanılı olguların %60’ında desmozomal genlerde patojenik veya olası patojenik varyant saptandığı bildirilmiştir.¹⁰⁹

Şu anda OMIM veri tabanında tanımlanmış 14 farklı ARVC fenotipi, 11 farklı gen ve 3 lokus ile ilişkilendirilmiştir. Bunların 5'i desmozomal proteinleri kodlayan genlerdir.¹⁷ OMIM veri tabanında desmozomal *DSC2*, *DSP*, *DSG2*, *JUP*, *PKP2* genleri ile non desmozomal *DES*, *TGFβ3*, *TMEM43*, *LMNA*, *TTN*, *PLN*, *CTNNA3*, *SCN5A*, *CDH2* genleri ARVC ile ilişkili bildirilmiştir.

ClinGen tarafından bildirilen “expert panel” ise ARVC kliniği ile ilişkilendirilmiş toplam 26 gen (Tablo 1) içermektedir.¹⁸ ARVC ile ilişkilendirilmiş bu genlerin uluslararası kanıta dayalı yeniden değerlendirme çalışmasında ise desmozomal genler ile birlikte sadece *TMEM43* geni güçlü kanıt ile *DES* ve *PLN* genleri ise orta kanıt düzeyinde ARVC ile ilişkili bulunmuştur. Diğer genler için ise küçük ailelerde bildirildiği yada literatürde 2010 Çalışma Grubu Kriterleri'ne uymayan olgular üzerinden bildirilmediği için yeterli kanıt düzeyine ulaşılamamıştır.¹⁹ Yine bu çalışmada literatürde *RYR2* gen mutasyonu gösterilen olguların ARVC fenotipinden daha çok katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi (CPVT) fenotipini taşıdığı ve bu gen için yeterli kanıtın olmadığı bildirilmiştir.¹⁹

Sendromik olmayan ARVC, klasik olarak otozomal dominant kalıtılırken,¹¹⁰ Naxos ve Carvajal sendromu gibi kardiyokutanöz hastalıklar ise otozomal resesif kalıtım yapısına uyarlar.¹⁰⁴ Bunun yanında literatürde birden fazla desmozomal gen mutasyonu (Aynı gende “compound heterozigot” veya farklı iki gende “digenik heterozigot” şeklinde) %4 ile 16 arasında bildirilmiştir.^{111–114} İkinci bir patojenik varyant saptama olasılığı özellikle *DSG2* ve *DSC2* gen mutasyonlarında sıktır.²⁶

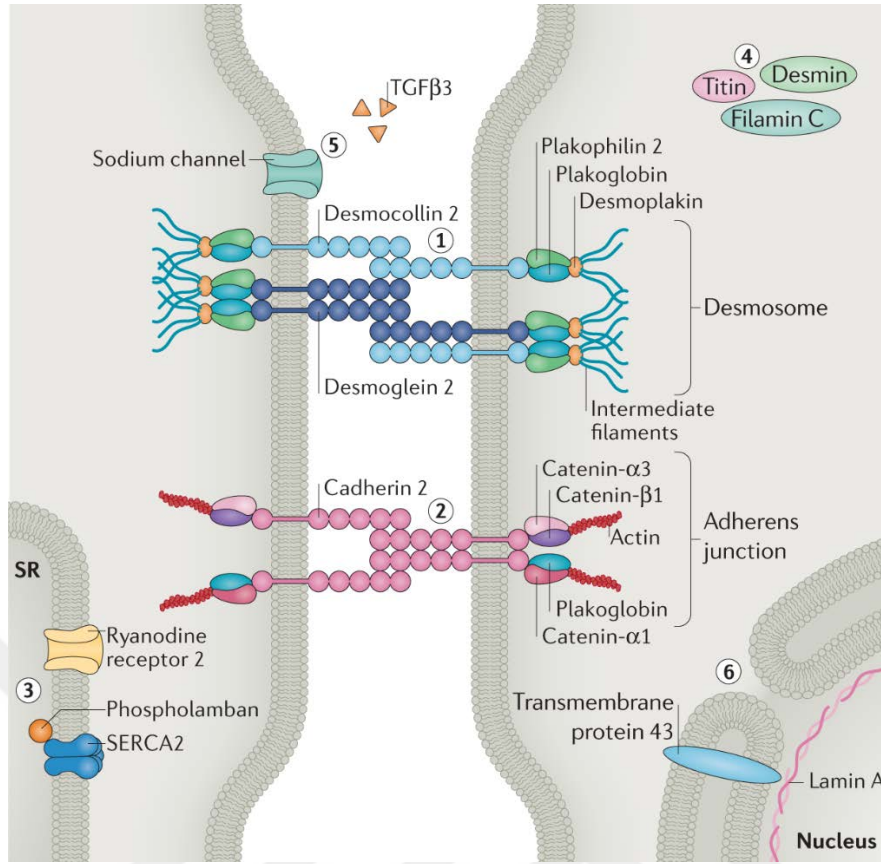
Otozomal dominant kalıtım ve yaşa bağlı azalmış penetrans ile değişken ekspresivite ARVC'nin tipik prezantasyonu olsa da Naxos sendromu gibi otozomal resesif formlarda adolesan çağdan sonra tam penetrans bilinmektedir.¹⁰⁴ Desmozomal gen mutasyonu saptanan otozomal resesif ARVC olgularında penetrans %40 ile 50 arasında bildirilmiştir.^{109,114,115} Literatürde patojenik desmozomal gen mutasyonu saptanan olguların mutasyon taşıyıcısı birinci derece akrabalarının %27 ile %41'nin Çalışma Grubu Kriterleri'ni karşıladığı ek olarak %17 ile 27'sinin ise olası tanı kriterlerine uyduğu saptanmıştır.^{109,114,116} Groeneweg ve ark. 1001 ARVC olgusunun klinik takibini yaptıkları çalışmada mutasyon saptanan aile üyelerinde penetransın probandlarda düşük olduğunu bildirmiştir.¹⁰⁹ Sonraki bazı çalışmalarda ise penetransın sanılandan düşük olabileceği belirtilmiştir.^{117,118}

Gen	Protein	Hücresel kompleks	Sınıflandırma
ACTC1	Aktin alfa kardiyak kas 1	Sarkomer	Bilinen hastalık ilişkisi yok
CDH2	Kadherin-2	Hücreler arası bağlantı	Sınırlı
CTNNA3	Katenin alfa 3	Hücreler arası bağlantı	Sınırlı
DES	Desmin	Ara filament	Orta
DSC2	Desmokolun-2	Desmozom	Kesin
DSP	Desmoplakin	Desmozom	Kesin
DSG2	Desmoglein-2	Desmozom	Kesin
JUP	Kavşak plakogloblin	Desmozom	Kesin
LDB3	LIM domain bağlayıcı 3	Sarkomer	Reddedilmiş
LMNA	Lamin A/C	Nükleer zar	Sınırlı
MYBPC3	Miyosin bağlayıcı protein C3	Sarkomer	Sınırlı
MYH7	Miyosin ağır zincir 7	Sarkomer	Sınırlı
MYL2	Miyosin hafif zincir 2	Sarkomer	Bilinen hastalık ilişkisi yok
MYL3	Miyosin hafif zincir 3	Sarkomer	Sınırlı
PKP2	Plakofilin-2	Desmozom	Kesin
PLN	Fosfolamban	Kalsiyum metabolizması	Orta
RYR2	Ryanodin Reseptör 2	Kalsiyum metabolizması	Reddedilmiş
SCN5A	Voltaj kapılı sodyum kanalı alfa subünit 5	Sodyum kanalı	Sınırlı
TGFB3	Dönüştürücü büyüme faktörü beta 3	Sinyal yolları	Sınırlı
TJP1	Sıkı bağlantı protein 1	Hücreler arası bağlantı	Sınırlı
TMEM43	Transmembrane protein 43	Nükleer zar	Kesin
TNNI3	Troponin I3	Sarkomer	Bilinen hastalık ilişkisi yok
TNNC1	Troponin C1	Sarkomer	Bilinen hastalık ilişkisi yok
TNNT2	Troponin T2	Sarkomer	Bilinen hastalık ilişkisi yok
TPM1	Tropomiyosin 1	Sarkomer	Bilinen hastalık ilişkisi yok
TTN	Titin	Sarkomer ilişkili	Sınırlı

Tablo 1: ClinGen “expert panel” genleri ve kanıta dayalı sınıflandırma sonuçları (Cynthia A. James ve ark.¹⁹ makalesinden alıntıdır)

Birleşik Devletler ve Danimarka serilerinde ailesel ARVC olgularında patojenik mutasyon saptama oranı oldukça yüksek iken, izole olgularda bu oran düşük saptanmıştır.^{109,119} Ayrıca literatürde genetik neden saptanmayan izole olguların akrabalarının Çalışma Grubu Kriterleri'ni karşılama veya ventriküler aritmi yaşama riskleri, genetik mutasyon pozitif ARVC olgularının aile yakınlarına göre 6 kat daha düşük bulunmuştur. Bu durum izole ARVC olgularında bilinmeyen genetik bir nedenin varlığını dışlamasa da, bu ailelerdeki aritmojenik kardiyomiopati kliniğinden tek gen hastalığından çok oligogenik veya multifaktöriyel kalıtımın sorumlu olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.^{110,120}

ARVC prevalansında bazı çevresel ve genetik düzenleyicilerin rolü bilinmektedir. Birden fazla desmozomal gen mutasyon taşıyıcılarının erken kalp yetmezliği ile sonuçlanan ciddi bir klinik ortaya çıkardıkları ve bu hastalarda daha sık sol ventrikül tutulumunun izlendiği gösterilmiştir.^{36,114} Egzersizin ventriküler aritmileri tetiklediği ve yapısal hastalığı kötüleştirerek ARVC prevalansını arttırdığı birçok çalışma ile kanıtlanmıştır.¹²¹⁻¹²³ Genetik neden saptanmayan ve aile öyküsü olmayan ARVC olgularında egzersizin rolü ise ailesel ARVC olgularına göre daha yüksek bulunmuştur.¹²⁴ Kardiyak enfeksiyonlar, hipertansiyon ve kronik pulmoner hastalık ise teorik olarak etkili olabilecek diğer çevresel faktörlerdir. ARVC prevalansını etkileyen tüm bu etkenler göz önüne alındığında C. James ve ark.¹¹⁰ genetik ve çevresel birçok etkenin birleşiminin ARVC patogenezi açıkladığı eşik modelini öne sürmüşlerdir.

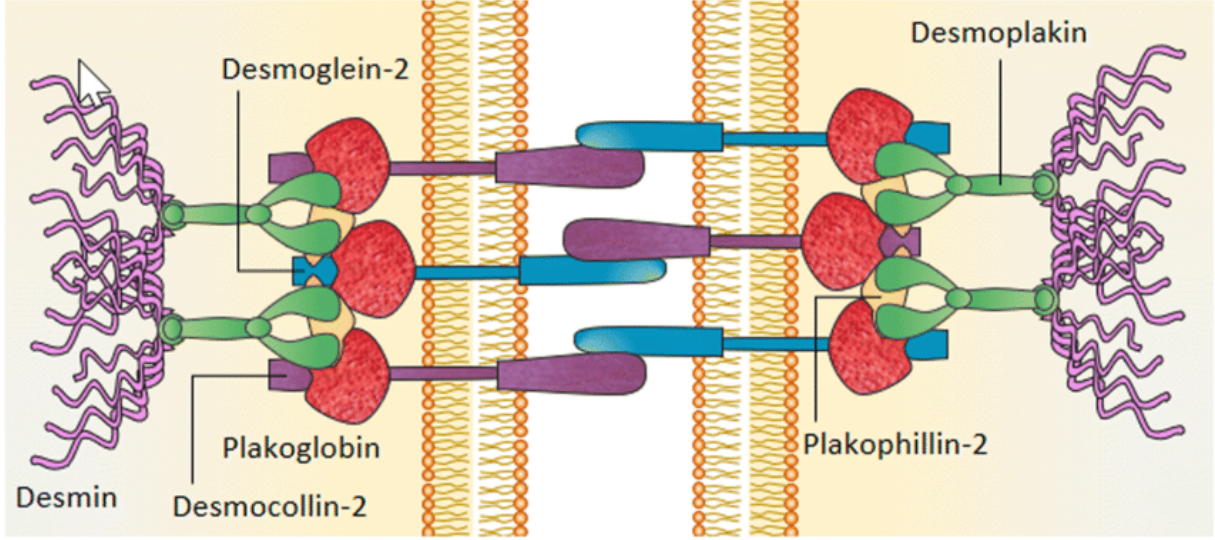


Şekil 2: AK ile ilişkili hücre komponentleri. Area komposita desmozom, adherens bağlantıları ve iyon kanallarını içerir. (1) Desmozom komponentleri (2) Adherens bağlantı komponentleri (3) Ca (Kalsiyum) transportu ile ilişkili sarkolemma komponentleri (4) İntraselüler yapısal proteinler (5) Na (Sodyum) kanalları ve TGFβ3 (6) Nükleer zarf proteinleri. Austin ve ark.¹²⁵ makalesinden alıntıdır.

2.5.1. Desmozomal genler

Desmozomlar bitişik hücrelerin ara filamentlerini birleştirerek mekanik bir hücre iskeleti ağı oluşturan hücre-hücre adezyonundan sorumlu yapı elemanlarıdır. Mekanik stresin yüksek olduğu kardiyomiyosit ve epidermis gibi dokularda bulunurlar.⁹⁵⁹⁵

Desmozom kompleksi, transmembran kadherin ailesinden desmoglein (DSG 1-4) ve desmokolin (DSC 1-3); armadillo protein ailesinden plakoglobin (PG) ve plakofilin (PKP1-3) ile plakin protein ailesinden desmoplakin (DSP) proteinlerinden oluşur. Bunlardan *DSC2*, *DSP*, *DSG2*, *JUP*, *PKP2* genleri ile kodlanan desmozomal proteinler ARVC ile ilişkili bulunmuştur.



Şekil 3: Kardiyak desmozom proteinleri (Babken Asatryan ve ark.¹²⁶ makalesinden alıntıdır.)

2.5.1.1. Plakofilin-2 (*PKP2*) geni

PKP2 geni (ENST00000070846), 12p11 lokusunda bulunur ve plakofilin-2 proteinini kodlar. En sık otozomal dominant ARVC fenotipi olan ARVD tip 9'dan sorumludur.¹⁰⁸ Plakofilinler armadillo proteinleridir ve desmosomal kaderinler ile desmoplakin ve ara filamenler arasında bağlantıyı sağlarlar. Bunun yanında diğer armadillo proteinleri gibi nükleusta da bulunurlar ve transkripsiyonel düzenlenmede rol oynayabilirler.¹²⁷

PKP2 geni susturulmuş fare embriyo modellerinde kardiyak morfogenezin bozulduğu ve embriyoların erken dönemde letal seyrettiği gösterilmiştir.¹²⁸ Ayrıca *PKP1* geni homozigot mutasyonları sonucu oluşan ektodermal displazi sendromunda epidermal desmozomların kötü yapılanması görülmüştür.¹²⁹ Bu bulgular, desmozom formasyonunda ve fonksiyonunda plakofilinlerin önemini desteklemektedir.¹⁰⁸

ARVC hasta serilerinde *PKP2* gen mutasyonları olguların %11 ile 50'sinde saptanmıştır. Bu oran ailesel ARVC olgularında %70'e çıkabilmektedir.¹³⁰⁻¹³² *PKP2* gen mutasyonlu olgular daha erken tanı almaktadırlar ve negatif T dalgası saptanma oranı yüksektir. Buna karşı sol ventriküler etkilenmesi ve kalp yetmezliğinin semptomları *PKP2* mutasyonsuz gruptan daha az rastlanmıştır ve prognoz daha iyi olduğu gösterilmiştir.¹³³ ClinVar veri tabanında bildirilen *PKP2* gen varyantlarından AK fenotipi ile ilişkili bildirilen 290 değişimin, ACMG (Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Derneği [American College of Medical

Genetics])’ye göre %29’u patojenik veya olası patojenik, %38’i klinik önemi bilinmeyen, %24’ü ise benign (selim) veya olası benign olarak sınıflanmıştır.¹³⁴ Bildirilen patojenik veya olası patojenik varyantların sadece %6’si yanlış anlamlı (“missense”) mutasyon iken, %25’i anlamsız mutasyon, %46’sı çerçeve kayması mutasyonu, %17’si kırılma bölgesi mutasyonları ve %6’sı büyük delesyonlardır. Otozomal dominant ARVC’nin en sık nedeni olsa da *PKP2* geninin otozomal resesif kalıtımı da literatürde bildirilmiştir.¹¹³

2.5.1.2. Desmoplakin (*DSP*) geni

DSP geni (ENST00000379802), 6p24 lokusunda bulunur ve desmoplakini kodlar. İlk olarak yünsü saç, epidermolitik palmoplantar keratoderma ve kardiyomiyopati gözlenen iki ailede otozomal resesif Carvajal sendromu geni olarak tanımlanmıştır.^{105,135–137} Sonrasında otozomal dominant ARVC olgularında bildirilmiştir.^{71,138} *PKP2* geninden sonra olgu serilerinde en sık saptanan ikinci gendir ve ARVD tip 8 fenotipinden sorumludur. ARVC olguları arasında %2 ile %39 oranında saptandığı bildirilmiştir.²³

ARVC tanısı ile takipli 541 hastadan oluşan çalışmada *DSP* mutasyon taşıyıcılarında sol ventrikül tutulumu ve kalp yetmezliği *PKP2* gen mutasyon taşıyıcılarına göre dört kat daha fazla saptanmıştır.⁵³ ARVC ile ilişkili bildirilen *DSP* gen mutasyonlarının yaklaşık yarısı anlamsız veya çerçeve kayması mutasyonları gibi yıkıcı değişimlerdir.¹³⁹ Literatürde yanlış anlamlı mutasyonlar ile fonksiyon kaybettiren (LOF) değişimler arasında aritmik risk potansiyeli eşit bulunmuştur ancak LOF varyantlarda sol ventrikül etkilenmesi daha sıktır. *DSP* geni mutasyon taşıyan probandların %41’inde ailede ani kardiyak ölüm öyküsü pozitif saptanmıştır.^{140–142} Ayrıca *DSP* gen varyantlarının %8 kadarını dizi analizi ile saptanamayan büyük delesyon ve duplikasyonlar oluşturmaktadır.^{23,53}

2.5.1.3. Desmoglein-2 (*DSG2*) geni

DSG2 geni (ENST00000261590), 18q12 lokusunda bulunur ve desmoglein-2 proteinini kodlar. Desmoglein proteinlerinden *DSG2* sadece miyositlerde bulunur.¹⁴³ Desmozomal genler ile ARVC ilişkisi saptandıktan sonra yapılan araştırmalarda hastaların %5 ile %26’sında *DSG2* varyantları saptanmıştır ve otozomal dominant ARVD tip 10 fenotipi ile ilişkilendirilmiştir.^{23,106} Saptanan değişimlerin yaklaşık yarısı yanlış anlamlı mutasyonlardır.²⁷

2.5.1.4. Plakoglobin (*JUP*) geni

JUP geni (ENST00000393931), 17q21 lokusunda bulunur ve plakoglobin proteinini kodlar. ARVD tip 12 fenotipi ile ilişkilidir ve ARVC’de tanımlanan ilk gendir. İlk olarak yünsü

saç, epidermolitik olmayan palmaplantar keratoderma ve sağ ventrikül dominant kardiyomiyopati ile karakterize otozomal resesif Naxos hastalığında tanımlanmıştır.¹⁰⁴ Bu olgularda kardiyak tutulum penetransı adölesan çağdan sonra %100'dür ve sol ventrikül tutulumu %35 oranında gözlenir.^{94,144} Otozomal dominant JUP gen mutasyonları nadir gözüktür, literatürde *JUP* geni p. S39_K40insS değişimi gözlenen bir olguda cilt bulguları olmaksızın ARVC bulguları saptanmıştır.¹⁴⁵

2.5.1.5. Desmokolın-2 (*DSC2*) geni

DSC2 geni (ENST00000280904), 18q12 lokusunda bulunur ve desmokolın-2 proteinini kodlar. İlk olarak prematür dur kodonuna neden olan bir *DSC2* gen mutasyonu ARVC ile ilişkilendirilmiştir.¹⁰⁷ Şimdiye kadar *DSC2*'nin yaklaşık 50 patojenik mutasyonu ARVD tip 11 fenotipi ile ilişkili bulunmuştur; bunların %50'si yanlış anlamlı mutasyonlar şeklindeyken, geri kalanı anlamsız mutasyon ve küçük delesyon veya insersiyonlar sonucu oluşan çerçeve kayması mutasyonlarıdır. Ayrıca hastalığa neden olan 4 kırılma bölgesi mutasyonu da tanımlanmıştır.¹³⁹

2.5.2. Diğer Genler

Desmozomal genler dışında kalan genler ARVC olgularının yaklaşık %10'nundan sorumludur. Bunlar diğer bağlantı molekülleri, hücre iskeleti elemanları, iyon kanalları ve bazı sinyal molekülleri.¹²⁵

Desmozomlar, “adherens junction” ve “gap junctions” yapıları kardiyomiyositler arasındaki yapısal ve elektriksel bağlantıyı sağlar ve “area composita” olarak tanımlanırlar.^{146,147} Desmozomal genlerin keşfi sonrası diğer bağlantı proteinleri de AK olgularında araştırılmıştır. N-kadherin proteinini kodlayan *CDH2* geni (ENST00000269141) ARVD tip 14 ve katenin- $\alpha 3$ proteinini kodlayan *CTNNA3* geni (ENST00000433211) ARVD tip 13 fenotipi ile ilişkili bulunmuştur.^{148–150}

Hücre iskelet protein bozuklukları desmozomal proteinlerden sonra ARVC olgularında bildirilen ikinci büyük mutasyon grubunu oluşturmaktadır.^{69,125} Transmembran protein 43'ü kodlayan *TMEM43* geni (ENST00000306077) p.S358L varyantı ilk olarak Newfoundland serisindeki ARVC olgularında saptanmıştır.¹⁵¹ Kurucu etkisine bağlı olarak bu mutasyon bazı küçük topluluklarda ve diğer popülasyonlarda da saptanmıştır ve ARVD tip 5 fenotipi ile ilişkilendirilmiştir.^{125,152,153} Newfoundland varyantı dışında *TMEM43* gen mutasyonları da literatürde bildirilmiştir.¹⁵⁴ Bunun dışında sırasıyla desmin, lamin A, titin ve flamin C

proteinlerini kodlayan *DES*, *LMNA*, *TTN* ve *FLNC* genlerinin literatürde ARVC ile ilişkisi bildirilmiştir.¹⁵⁵⁻¹⁵⁸

Kardiyomiyosit fonksiyonu için kalsiyum (Ca) homeostazisi oldukça önemlidir. Sarkolemmada yer alan bir transmembran proteini olan fosfolamban, *PLN* geni (ENST00000357525) ile kodlanır ve Ca pompası düzenleyicisidir. Literatürde dilate kardiyomiyopati ile sol ventrikül tutulumunun sık görüldüğü aritmojenik kardiyomiyopati ile de ilişkilendirilmiştir. Özellikle *PLN* geni p.R14del değişiminin ARVC ile birlikteliği bildirilmiştir.¹⁵⁸

RYR2 geni (ENST00000366574) ise sarkoplazmada bulunan, Ca kanalı olan ryanodin reseptör 2'yi kodlar ve literatürde ARVD tip 2 fenotipi ile ilişkilendirilmiştir.^{159,160} Ancak *RYR2* geni ile ARVC fenotipini ilişkili bulan yayınlarda bahsedilen olguların Çalışma Grubu Kriterleri'ne uymaması veya bildirilen varyantların popülasyon frekanslarının yüksek olması nedeniyle *RYR2* geni için yeterli kanıt olmadığını bildiren yayınlar, *RYR2* geni ile ARVC fenotipinin katekolaminerjik polimorfik ventriküler taşikardi (CPVT) ile ARVC'nin klinik örtüşmesinden dolayı yanlış ilişkilendirilmiş olabileceğini ileri sürmüşlerdir.¹⁸

Voltaj kapılı sodyum (Na) kanal geni olan *SCN5A* geni (ENST00000413689) esas olarak Brugada sendromu ve uzun QT sendromu ile ilişkilidir. ARVC tanılı bir olgunun ekzom analizinde saptanan varyantın hücre kültürü çalışmasında Na akımını bozduğu ve hücreler arası iletişim bölgesinde ("intercalated disc") *SCN5A* ve *CDH2* protein miktarını azalttığı gösterilmiş ve ARVC ile ilişkilendirilmiştir.^{161,161} Sonrasında ARVC olgularında *SCN5A* geni varyantları saptanmıştır.¹⁸

Dönüştürücü büyüme faktörü β -3, TGF ailesinin bir üyesidir. *TGF β 3* geni (ENST00000238682) , *TGF β 3* proteini kodlar ve bu protein fibrozisi indükleyen ve desmozomal genleri düzenleyen sitokindir.¹⁶² ARVD tip 1 fenotipi ile ilişkilendirilmiştir. Literatürde genin kodlanmayan bölgelerinden 5' UTR ve 3' UTR'de düzenleyici mutasyonlar bildirilmiştir.^{125,163}

2.5.3. Genotip Fenotip korelasyonu

ARVC genotip fenotip ilişkisi ile ilgili çalışmalar hastalığın altındaki moleküler mekanizmaları anlamamıza ve genetik danışmaya katkı sağlamaktadır. Desmozomal gen mutasyonu taşıyıcılarında mutasyon saptanmayan ARVC olgularına göre semptomların daha

genç yaşta ortaya çıktığı, EKG’de negatif T dalga sıklığının arttığı bilinmektedir.¹¹⁹ Bunun dışında literatürde %16 gibi oldukça yüksek bildirilen birden fazla desmozomal gen mutasyonunun varlığı daha erken başlangıç ve ciddi klinik ile ilişkili bulunmuştur ve bu durumun implante edilebilen kardiyoverter-defibrilatörler (ICD) kararında göz önünde bulundurulması önerilmiştir.^{37,164} *PKP2* geni mutasyonu taşıyan olgularda ventriküler aritmilerin sıklığının arttığı ve *DSP* mutasyon taşıyıcılarında sol ventriküler tutulumunun sık olduğu yine literatürde bildirilmiştir.^{23,165} Son yıllarda *PKP2* gen mutasyonlarının daha uzun sağ kalımla ilişkili olduğu da öne sürülmüştür.¹³³

2.6. ARVC Tanısı

ARVC olguları genellikle 1. ve 5. dekat arasında klinik belirti verir. Ortalama tanı yaşı 30’dur.^{20,41,109} Olguların %20’si 50 yaş sonrasında tanı alırken, puberte öncesi oldukça nadir klinik oluşturmaktadır ve infantlarda henüz bildirilmemiştir.¹⁶⁶ Sersemlik, çarpıntı ve efor sonrası senkop klasik başvuru şikayetleridir. Ancak olguların yaklaşık %40’ı aile taramasında tanı alır ve asemptomatiktir. Klinik semptomların araştırıldığı bir çalışmada çarpıntı ve senkoptan sonra en sık şikayetler atipik göğüs ağrısı, dispne ve sol ventrikül yetmezliği olarak bildirilmiştir.¹⁶⁶ Ani kardiyak ölüm ilk semptom olabilmektedir. İtalya’dan bir çalışmada genç atlet ölümlerinde ARVC %20 oranında bildirilmiştir.¹⁶⁷

Olgularda gözlenen çarpıntı ve senkop şikayetleri genellikle ventriküler taşikardiler nedeniyle ortaya çıkmaktadır. ARVC’de ventriküler aritmiler, prematür atımdan devamlı ventriküler taşikardiye kadar geniş bir spektrumda görülebilmektedir. En sık gözlenen aritmi ise sol dal blok paterni ile birlikte sağ ventrikül kaynaklı devamlı veya devamsız monomorfik ventriküler taşikardidir.^{45,46}

Etkilenmiş sağ ventrikül miyokardı iletim defekti nedeniyle 12 derivasyonlu EKG’de depolarizasyon ve repolarizasyon anormallikleri gözlenebilir. Olgularda prekordiyal derivasyonlarda (V1,V2,V3) T dalga negatifliği ve QRS anormallikleri (QRS genişlemesi, uzamış S dalga çıkışı ve epsilon dalgası) sık gözlenen EKG bulgularıdır.¹⁶⁸ ARVC düşünülen tüm olgularda minör tanı kriterlerinden olan ventriküler ekstrasistol ve devamsız ventriküler taşikardinin saptanması için ambulator EKG endikedir.⁴¹

ARVC’den şüphelenen olgularda sıklıkla yapısal anomalilerin araştırılması için Ekokardiyografi (EKO) ve Kardiyak Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) gibi görüntüleme yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler ile özellikle sağ ventrikül çıkış yolu

(RVOT) olmak üzere sağ ventrikül boyutlarında artış, sağ ventrikül sistolik fonksiyon bozukluğu ve sağ ventrikül morfolojik anomalileri (trabekülesyon artışı gibi) saptanabilir.^{46,168}

Noninvazif değerlendirmenin yetersiz olduğu durumlarda hastalarda kontrastlı kardiyak manyetik rezonans görüntüleme (MRG), sağ ventrikül anjiyografi ve endomiyokardiyal biyopsi ile ileri değerlendirme yapılabilmektedir.⁷

Kardiyak MRG ile bölgesel veya global ventriküler genişleme, ventriküler disfonksiyon, intramiyokardiyal adipöz doku, anevrizmatik genişleme ve fibrozis saptanabilmektedir.^{169,169} MRG, diğer görüntüleme yöntemlerinde spesifik bulgular saptanan ileri ARVC olgularında tanıya ek katkı sağlamaz.⁷ Erken hastalıkta şüphelenilen olgularda fayda sağlayabilmektedir. Çünkü ARVC'nin erken bulgusu olan bölgesel diyastolik ventriküler disfonksiyonu, MRG ile görülebilmektedir. Ayrıca "Late Gadolinium Enhancement" (LGE) MRG ile intramiyokardiyal fibrozis saptanabilmektedir. Bu bulgu fonksiyonel anomalilerden önce ortaya çıkmaktadır.^{170,171,170,171}

Elektrofizyolojik çalışmalar tanı kriterleri içinde yer almasa da sağ ventrikül çıkış yolu taşikardisi ile ARVC ayırıcı tanısında, olguların risk sınıflamasında ve ablasyon tedavisi ile kombine kullanılabildiğinden oldukça değerlidir.^{41,81}

ARVC tanısını koymada tek bir yöntem yeterli olmadığı için 1994 yılında yapısal, histolojik, elektrokardiyografik ve ailesel özelliklere dayanan uluslararası tanı kriterleri önerilmiştir.⁴² Sonrasında EKO ve MRG gibi görüntüleme yöntemlerindeki gelişmeler, yeni EKG kriterlerinin önerilmesi ve ARVC genetik etiyolojisinde desmozomal gen mutasyonlarının ortaya çıkması nedeniyle bu tanı kriterleri 2010 yılında revize edilmiştir.⁹ Bilinen genlerde patojenik bir mutasyon saptanmasının majör kriter olarak kabul edilmesi ile birlikte klinikte genetik tanı yöntemlerinin kullanımının önemi artmıştır (Tablo 2).

Revize Çalışma Grubu Kriterleri (TFC)⁹ “Definite” (Kesin) tanı için; 2 major veya 1 majör + 2 minör veya 4 minör kriter “Borderline” (Sınırdaki) tanı için; 1 majör + 1 minör veya 3 minör kriter “Possible” (Olası) tanı için; 1 majör veya 2 minör kriter	
I. Yaygın veya bölgesel yapısal ve fonksiyonel değişiklikler	
Majör	EKO ile: - Sağ ventrikülde bölgesel akinezi, diskinezi veya anevrizma - ve aşağıdakilerden en azı 1'i (end diastolde) - Parasternal uzun aks: sağ ventrikül çıkım yolu ≥ 32 mm [≥ 19 mm/m²] - Parasternal kısa aks: sağ ventrikül çıkım yolu ≥ 36 mm [≥ 21 mm/m²] - Sol ventrikül fraksiyonel alan değişimi $\leq$ %33
	MRG ile: - Sağ ventrikülde bölgesel akinezi veya diskinezi veya senkronize olmayan kontraksiyon - Ve aşağıdakilerden en az biri (sağ ventrikül diyastol sonu hacmi/vücut yüzey alanı) ≥ 110 mL/m² (Erkeklerde) ≥ 100 mL/m² (Kadınlarda) - Sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonu $\leq$ %40
	RV anjiyografi ile: Sağ ventrikülde bölgesel akinezi, diskinezi veya anevrizma
Minör	EKO ile: - Sağ ventrikülde bölgesel akinezi, diskinezi - ve aşağıdakilerden en azı 1'i (end diastolde) - Parasternal uzun aks: sağ ventrikül çıkım yolu ≥ 29 ile < 32 mm [≥ 16 ile < 19 mm/m²] - Parasternal kısa aks: sağ ventrikül çıkım yolu ≥ 32 ile < 36 mm [≥ 18 ile < 21 mm/m²] - Sol ventrikül fraksiyonel alan değişimi $>$ %33 ile $\leq$ %40
	MRG ile: - Sağ ventrikülde bölgesel akinezi veya diskinezi veya senkronize olmayan kontraksiyon - Ve aşağıdakilerden en az biri (sağ ventrikül diyastol sonu hacmi/vücut yüzey alanı) ≥ 100 ile < 110 mL/m² arasında (Erkeklerde) ≥ 90 ile < 100 mL/m² (Kadınlarda) - Sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonu $\leq$ %40
II. Doku karakteri	
Majör	Endomiyokardiyal biyopside sağ ventrikül serbest duvar miyokardında en az bir örnekte yağlı değişiklik olarak veya olmadan fibröz doku görünümü; Morfometrik analizle $<$ % 60 (veya tahmin ediliyorsa % 50'den az) rezidüel miyosit
Minör	Endomiyokardiyal biyopside sağ ventrikül serbest duvar miyokardında en az bir örnekte yağlı değişiklik olarak veya olmadan fibröz doku görünümü; Morfometrik analizle % 60 ile %75 arasında (veya tahmin ediliyorsa % 50 ile % 65 arasında) rezidüel miyosit

III. Repolarizasyon anomalileri	
Majör	EKG ile: >14 yaşta sağ prekordiyal derivasyonlarda (V1-3) veya daha ilerisinde T dalga negatifliği (Sağ dal bloğu yokken QRS>120msn)
Minör	EKG ile: >14 yaşta V1, -V4 'te sağ dal bloğu ile beraber T dalga negatifliği veya - V1, V2 veya V4-5-6'da T dalga negatifliği (Sağ dal bloğu yokken)
IV. Depolarizasyon anomalileri	
Majör	EKG ile: Sağ prekordiyal derivasyonlar V1-3'de epsilon dalgası (QRS bitiminde, T'den önce düşük amplitüdlü sinyaller)
Minör	EKG ile: - Standart EKG ile QRS süresi >110 msn olmadığı halde, sinyal ortalı malı elektrokardiyografi (SOEKG)'de aşağıdakilerden en az biri; - Filtrelenmiş QRS > 114 msn <40 mikroV olan terminal QRS süresi >38 msn - Terminal 40 msn'lik QRS'in RMS (root-mean-square) voltajı <20 mikroV - Sağ dal bloğu yokken, S'den QRS sonuna dek ölçülen QRS'in terminal aktivasyon süresi >55 msn (V1-2-3'de R' içeren)
V. Aritmiler	
Majör	Sol dal bloğu morfolojisinde devamlı olmayan veya devamlı ventriküler taşikardi (VT), süperior akslı (DII-DIII-aVF'de - veya belirsiz aVL'de +)
Minör	- Sol ventrikül çıkım yolu morfolojisinde devamlı veya devamlı olmayan VT, sol dal morfolojisinde ve inferior akslı (DII-III-aVF'de +, aVL'de -) veya belirsiz aks - Holterde 24 saatte > 500 ventriküler ekstrasistol
VI. Aile öyküsü	
Majör	- Birinci derece akrabalarda Çalışma Grubu Kriterleri'ne uyan birey - Birinci derece akrabalarda otopsi veya patoloji ile ARVC tanısı - Kendisinde ARVC ile ilişkili veya olası ilişkili bir gende patojenik mutasyon varlığı
Minör	- Birinci derece akrabada ARVC öyküsü ancak Çalışma Grubu Kriterleri'ne uyup uymadığının belirlenmesinin mümkün olmaması - Birinci derece akrabada kuşku lu ARVC'ye bağlı prematür ani ölüm (<35 yaş) - İkinci derece akrabada Çalışma Grubu Kriterleri'ne uyan veya patolojik olarak saptanmış ARVC varlığı

Tablo 2: Revize edilmiş ARVC Çalışma Grubu Kriterleri (F. Marcus ve ark.⁹ makalesinden alıntıdır)

2.6.1. Genetik Tanı Yöntemleri

ARVC ile ilişkisi bilinen veya olası ilişkili genlerde patojenik mutasyon saptanması, 2010 yılında yeniden düzenlenen Çalışma Grubu Kriterlerinin aile öyküsü bölümüne majör kriter olarak eklenmiştir. Bir başka majör kriter veya iki minör kriter ile pozitif genetik test varlığında hastaya kesin ARVC tanısı konulmaktadır.⁹ Genetik etiyolojinin ortaya çıkarılması tanının kesinleşmesi yanında gen spesifik risk sınıflaması ve tedavi düzenlenmesini, aile taraması ile risk altındaki bireylerin ortaya çıkarılmasını ve ailenin sonraki gebelikleri için prenatal/preimplantasyon tanı seçeneklerini olanaklı kılar.¹⁷²

Çalışma Grubu Kriterleri'ne göre kesin, sınırda veya olası ARVC tanısına uyan tüm olgularda *DSC2*, *DSG2*, *DSP*, *JUP*, *PKP2* ve *TMEM43* genlerini içeren multigen panel testi ilk basamak olarak önerilmektedir.^{173,174} Yine 2019 yılında yayınlanan "Heart Rhythm Society" (HRS) uzlaşısı raporunda ARVC ilişkili genlerin sayıca artması ve dijenik kalıtım nedeniyle ARVC olgularında, YND yöntemleri ile panel analizini, çok sayıda genin düşük maliyetle çalışılabilmesi nedeniyle önermişlerdir.⁴¹ Panel testi ClinGen kardiyovasküler çalışma grubu tarafından önerilen "expert panel" genlerini içerecek şekilde genişletilebileceği gibi kardiyomiyopatiler arasında örtüşen fenotipler nedeniyle kardiyomiyopati ilişkili genleri içeren daha geniş bir panel de ilk basamak tetkik olarak seçilebilir.^{19,23,112}

ARVC ile ilişkili bildirilmiş genlerdeki patojenik varyantların yaklaşık %80 ile %90'i dizi analizi ile saptanabilen nokta mutasyonları veya küçük indellerdir.¹⁷⁵ Ancak desmozomal genlerin dizi analizi ile mutasyon taraması olguların yarısına yakınında genetik etiyolojiyi ortaya çıkaramamaktadır. Bu durumdan, genetik heterojenite yanında bilinen genlerde dizi analizi ile saptanamayan delesyon ve duplikasyonların sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür.^{15,30} *PKP2* ve *DSP* genlerinde daha önce bildirilen büyük delesyon ve duplikasyonların saptanması için kantitatif PCR, MLPA veya mikrodizin analizi gibi ek moleküler tetkiklerin planlanması gerekmektedir.²³

2.6.1.2. Yeni Nesil Dizileme Yöntemi

2000'lerin başında İnsan Genom Projesi ile genetik kodun dizilenerek ortaya konması klasik zincir sonlandırma yöntemi olan Sanger dizi analizi ile olmuştur. Sanger dizileme, az sayıda genden güvenilir veri alınabilen ve altın standart sayılan bir yöntemdir. Yeni Nesil Dizileme (YND) yöntemleri ise çok sayıda hastada birçok genin yüksek verimlilik ve düşük maliyetle dizilenmesine olanak veren paralel dizileme metodudur. Sanger dizileme metoduna

göre kısa sürede çok daha yüksek veri elde edilebilmesi ve maliyetinin son yıllarda oldukça düşmesi nedeniyle rutin klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. İkinci ve üçüncü nesil birçok yöntem olsa da tıbbi genetik pratiğinde en sık kullanılan yöntem ikinci nesil dizileme yöntemidir.¹⁷⁶

Kardiyak hastalıklardaki genetik heterojenite ve ARVC’de olduğu gibi digenik kalıtım nedeniyle birçok genin paralel dizilenmesine olanak sağlayan ve günümüzde giderek ucuzlayan Yeni Nesil Dizileme (YND) teknolojileri, rutin pratikte sanger dizilemenin yerini almıştır. Sanger dizileme halen bir yada birkaç genin araştırıldığı durumlarda, patojenik varyant saptanan olguların aile taramalarında, segregasyon analizinde veya genetik sonuçların doğrulanmasında kullanılmaktadır.¹⁷⁶

YND teknolojileri ile hedef genler panel şeklinde hızlı bir şekilde dizilenebildiği gibi genomdaki tüm kodlayıcı diziler [Whole exome sequencing (WES)] veya tüm genomik DNA dizisi [Whole genome sequencing (WGS)] de sekanslanabilir. Dizilenen gen sayısının artmasının avantajları ve dezavantajları vardır. Artımojenik kardiyomiyopati olgularındaki klinik ve genetik heterojenite nedeniyle, geniş panel tanı oranını arttırsa da hakkında yeterli kanıt olmayan genlerin analizi sonucunda yanlış varyantlara patojenik rol atfedilebilir.¹⁷⁷ Ayrıca desmozomal gen değişimleri popülasyonda sık gözükmetedir ve bu durum da yanlış değerlendirilmelere neden olabilmektedir.¹⁷⁸ Bu nedenle varyantların analizi deneyimli klinikler tarafından yapılmalıdır.⁴¹

YND analizinin yaygın kullanımı ile birlikte aynı değişimler için farklı patojenite bildirimlerini önlemek amacıyla ACMG tarafından saptanan varyantların yorumlanması ile ilgili bir kılavuz açıklanmış ve saptanan varyantlar için 5 kategoriden oluşan bir sınıflama (Tablo 3) önerilmiştir.¹³⁴

Varyant Sınıflaması	Patojenite	Patojenik olma ihtimali
Klas 5	Patojenik	>%95
Klas 4	Olası patojenik	>%90
Klas 3	Klinik önemi bilinmeyen	%10-%90
Klas 2	Olası benign	<%10
Klas 1	Benign	<%5

Tablo 3: Varyantların patojenite olasılıklarını sınıflaması. (Plon, Sharon E., et al¹⁷⁹ makalesinden alıntıdır)

Prenatal veya preimplantasyon genetik tanı sadece klas 5 varyant düzeyinde, kullanılırken, klas 4 ve 5 varyantlar için, aile taraması önerilmektedir. Klas 3 varyantlar, “non-actionable” varyantlardır ve bu varyantlar için aile taraması önerilmez ancak varyantın patojenite değerlendirilmesi için segregasyon analizi amacıyla aile taraması planlanabilir.

2.6.1.2. Çoklu ligasyona bağlı prob amplifikasyonu yöntemi

Çoklu ligasyona bağlı prob amplifikasyonu (MLPA), farklı nükleik asit dizilerindeki (DNA ya da RNA) kopya sayısı değişikliklerini tek bir reaksiyonla saptamaya olanak sağlayan bir multipleks PCR metodudur. Bu tekniğin temeli hedef DNA dizisi yerine ancak hedef bölge varlığında çoğalabilen işaretli belirteçlere dayanmaktadır. Hedef bölgenin komplementeri olan ve sadece bir primer dizisi (Forward veya reverse) içeren iki belirteç, hedef bölge üzerinde ardışık hibridize olur. Sonrasında ligasyon basamağı ile bağlanan belirteçler artık her iki primer dizisine de sahiptir ve PCR ile üstsel olarak çoğaltılabilirler.¹⁸⁰ MLPA, delesyon/duplikasyon analizi, metilasyon analizi, mRNA’ların relatif kantitasyonu ve bilinen mutasyonların saptanması amacıyla kullanılabilir.^{180,181}

MLPA sadece döngü cihazı ve kapiller elektroforez gerektiren ve 24 saatte 96 örneğe kadar analiz yapılabilen hızlı, kolay ve ucuz bir tetkiktir ve rutinde delesyon/duplikasyon analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Hollanda’da 169 ARVC hastası ile yapılan bir çalışmada *PKP2* gen kopya sayısı değişikliği olguların %1,8’inde saptanmış, ayrıca literatürde tüm gen *PKP2* gen delesyonlu olgular bildirilmiştir.^{182,183} *PKP2* gen delesyonlarını %11,7 ve *DSP* gen mutasyonlarını %8 kadar yüksek oranlarda bildiren yayınlar vardır.²³ Bu nedenle ARVC olgularında ilgili genler için delesyon ve duplikasyon analizinin planlanması tanıya ek katkı sağlayabilir.

2.6. Aile taraması

ARVC sıklıkla ailesel bir hastalıktır. Olguların yarısında aile etkilenimi saptanmaktadır.¹¹⁴ ARVC tanısı alan tüm olguların birinci derece akrabalarına kardiyolojik muayene ve patojenik/olası patojenik mutasyon saptanmış ise hedefli mutasyon taraması önerilmektedir. Genetik tetkik öncesi mutlaka genetik danışma verilmelidir.¹⁸⁴



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Dokuz Eylül Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'nda yürütüldü.

Çalışma için, hasta dosyaları ve probel kayıtları geriye dönük şekilde incelendi. Aralık 2019 ile Ağustos 2021 tarihleri arasında polikliniğimizde ARVC ön tanısı ile değerlendirilen hastalardan genetik tetkikleri tamamlanmış olgular ve aile üyeleri çalışmaya alındı.

Genetik polikliniğimize yönlendirilen ve ARVC Çalışma Grubu Kriterleri'ne göre olası, sınırda veya kesin tanı kriterlerini karşılayan tüm olgulara test öncesi genetik danışma sonrasında 54 genden (Tablo 4) oluşan Kardiyomiyopati Yeni Nesil Dizileme Paneli ve MLPA yöntemi ile desmozomal genlerin (Tablo 5) delesyon/duplikasyon analizi önerilir. Genetik testi kabul eden ve yazılı onam imzalayan olguların tüm genetik tetkikleri Dokuz Eylül Üniversitesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi (DEGEDEM)'de yürütülür. Genetik test sonuçları olgulara test sonrası genetik danışma ile teslim edilir. Analiz sonuçlarına göre gerekirse patojenik varyantın aile taraması veya klinik önemi bilinmeyen varyantın patojenite araştırılması için segregasyon analizi önerilir.

Teze dahil edilecek olgular için belirlediğimiz kriterler şu şekildedir;

- Araştırmaya Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda ARVC ön tanısıyla Yeni Nesil Dizileme panel analizi ve MLPA analizi çalışılan erişkin hastalar ile
- Ailede patojenik mutasyon saptanması nedeniyle veya segregasyon analizi için genetik tetkik çalışılmış indeks olgunun aile üyeleri dahil edildi.

Dosya kayıtları eksik olan ve genetik testi tamamlanmamış hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

3.2. Verilerin Toplanması

Tez araştırması için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun 08/09/2021 tarihli 2021/25-25 numaralı kararıyla etik kurul onayı alınmıştır (Ek-1).

Teze dahil olma kriterlerini sağlayan hastaların yaşı, cinsiyeti, ilk semptomu, semptom başlama yaşı, mevcut semptomları, EKG, EKO, Holter EKG, Kardiyak MR, elektrofizyolojik

alışmalar (EPS) gibi kardiyolojik tetkikleri, mevcut tedavileri, özgeçmiş ve soygeçmiş bilgileri hasta dosyalarından ve Probel Hastane Bilgi Yönetim Sistemi (HBYS) sisteminden toplandı. Seçilen olgulara rutin poliklinik hizmetleri kapsamında uygulanan Kardiyomiyopati YND paneli ve ARVC MLPA tetkik sonuçları Tıbbi Genetik AD arşivlerinden temin edildi.

Toplanan veriler kayıt formuna işlendi ve elde edilen verilerden genotip ve fenotip özelliklerini içeren çeşitli tablolar oluşturuldu.

3.3. Genomik DNA İzolasyonu

Merkezimizde moleküler laboratuvar çalışmalarının ilk aşamasında onam veren tüm olgulardan toplam 4 ml EDTA'lı tüpe periferik kan rneği alınır. Saflaştırılmış total genomik DNA elde edilmesi amacıyla her olgunun 200 l kanından Qiacube® otomatize DNA izolasyon cihazı (Qiagen, Almanya) ve QIAamp® DNA Blood Mini kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak spin kolon DNA izolasyon tekniği ile DNA elde edilir. Üreticinin önerdiği protokoller uygulanmakta olup cihaz kan ve diğer solüsyonların eklenmesi sonrasında otomatize olarak çalışır.

Özetle şu aşamaları içerir;

1. 20 l proteinaz K, 200 l ligasyon buffer solüsyon ve 200 l periferik kan 1.5ml mikrosentrif tüpüne eklenir. 56 C'de 10 dakika inkübasyonda bırakıldı.
2. 200 l etanol (%96-100) rneğe eklenir ve 15 sn vortekslendi.
3. Karışım spin kolona nakledildi. Spin kolon temiz 2 ml toplama tüpüne konuldu.
4. 6000xg'de 1 dk santrif edildi. Filtrat atıldı.
5. 500 l 'Wash buffer 1' eklendi. Spin kolon yeni bir temiz 2 ml toplama tüpüne konuldu.
6. 6000xg'de 1 dk santrif edildi. Filtrat atıldı.
7. 500 l 'Wash buffer 2' eklendi. Spin kolon yeni bir temiz 2 ml toplama tüpüne konuldu.
8. 20000xg'de 3 dk santrif edildi. Filtrat atıldı.
9. Spin kolon temiz 1.5 ml mikrosentrif tüpüne alındı. 100-200 l 'Elution buffer' veya distile su eklendi. 1-5 dk oda sıcaklığında bekletildi.

10. 6000xg’de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolonlar atıldı.

11. Elde edilen DNA’lar saflıkları ve konsantrasyonları belirlendikten sonra, parafilmle ağızları kapatılarak DNA saklama kutularına konulup -20°C’de saklandı.

3.4. Spektrofotometre ile DNA Konsantrasyon ve Saflığının Belirlenmesi

Konsantrasyon ve saflık ölçümünde NanoDrop ND1000® Spektrofotometre cihazı (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanıldı. Spektrofotometrik ölçüm; DNA, RNA ve protein gibi maddelerin içinde bulundukları sıvı solüsyondan geçirilen belirli spektrumlardaki ışığı kimyasal yapılarına ve konsantrasyonlarına paralel olarak absorbe (A) etmesi prensibine dayandırıldı. Nükleik asitler 260 nm’de ve proteinler 280 nm’de ışığı maksimum absorbe ettiği için A260/A280 oranı DNA saflığı hesaplamasında kullanıldı.

DNA materyalinin A260/A280 oranının 1,8-2,0 arasında olması ve konsantrasyonunun ise en az 40 ng/μl olması hedeflendi. Saflığı 1,8’den daha az olan örnekler protein kontaminasyonunu gösterirken, 2,0’dan daha fazla olanlar RNA miktarının fazla olduğunu gösterdi. Saflık ve konsantrasyonları hedefe ulaşmayan örneklerde izolasyon tekrar edildi. Bu kriterleri karşılayan DNA’lar alikotlanarak -20 °C’de arşivlendi.

3.5. Hedefli Yeni Nesil Dizileme Paneli

Polikliniğimize ARVC ön tanısı ile yönlendirilen olgularda Tablo 4’de verilen 54 adet geni içeren Kardiyomiyopati YND paneli çalışıldı.

ABCC9 (ENST00000261200)	DSG2 (ENST00000261590)	LMNA (ENST00000368300)	NEXN (ENST00000334785)	TAZ (ENST00000299328)
ACTC1 (ENST00000290378)	DSP (ENST00000379802)	MAP2K2 (ENST00000262948)	PDLIM3 (ENST00000284770)	TCAP (ENST00000309889)
ACTN2 (ENST00000366578)	DTNA (ENST00000598334)	MYBPC3 (ENST00000545968)	PKP2 (ENST0000070846)	TMPO (ENST00000266732)
ANKRD1 (ENST00000371697)	EYA4 (ENST00000367895)	MYH6 (ENST00000405093)	PLN (ENST00000357525)	TNNC1 (ENST00000232975)
BAG3 (ENST00000369085)	FLNC (ENST00000325888)	MYH7 (ENST00000355349)	PRKAG2 (ENST00000287878)	TNNI3 (ENST00000344887)
CAV3 (ENST00000343849)	GLA (ENST00000218516)	MYL2 (ENST00000228841)	PSEN1 (ENST00000324501)	TNNT2 (ENST00000509001)
CRYAB (ENST00000533475)	ILK (ENST00000396751)	MYL3 (ENST00000395869)	PSEN2 (ENST00000366783)	TPM1 (ENST00000358278)
CSRP3 (ENST00000533783)	JUP (ENST00000393931)	MYLK2 (ENST00000375994)	PTPN11 (ENST00000351677)	TTN (ENST00000589042)
DES (ENST00000373960)	LAMA4 (ENST00000230538)	MYOZ2 (ENST00000307128)	RBM20 (ENST00000369519)	TTR (ENST00000237014)
DMD (ENST00000357033)	LAMP2 (ENST00000434600)	MYPN (ENST00000358913)	SCN5A (ENST00000413689)	VCL (ENST00000211998)
DSC2 (ENST00000280904)	LDB3 (ENST00000429277)	NEBL (ENST00000377122)	SGCD (ENST00000337851)	

Tablo 4: Kardiyomiyopati YND Paneli genleri

3.5.1. YND Islak Labaratuvar Aşamaları

Olgulardan elde edilen DNA'lardan "Celemics Hypertrophic Cardiomyopathy And Dilated Cardiomyopathy" NGS kiti kullanılarak kütüphane hazırlandı. Sırasıyla; DNA fragmentasyonu, pürifikasyon, DNA uç onarımı, pürifikasyon, A ucu takılması, pürifikasyon, adaptör ligasyonu, pürifikasyon, indeks ile işaretleme, pürifikasyon, prob hibridizasyonu, streptavidin boncuk ile hedef kütüphanenin seçilmesi, hedef kütüphanenin amplifikasyonu ve son pürifikasyon işlemleri gerçekleştirildi.

Hazırlanan kütüphane NGS platformunda yürütülerek dizileme ham verisi elde edildi. Yürütmeler için Nextseq500® (Illumina, ABD) NGS platformu kullanıldı.

3.5.2. YND Verilerinin Biyoinformatik Analizi

Elde edilen ham veri (FastQ) SEQ analiz platformuna (Genomize, Türkiye) yüklenerek; referans genoma (hg19) hizalama, varyant çağırma ('variant calling'), güvenilirlik skorlaması ve varyant anotasyonu aşamalarından geçirildi. Her olgunun analizinde 54 adet hedeflenen gen bölgeleri için minimum 50x derinlikte ve en az %75 kaplam dahilinde veri elde edilmesi amaçlandı ve tüm aşamalarda üretici protokollerine uyuldu.

3.5.3. YND Verilerinin Klinik Analizi

Anot edilmiş varyantlar Genomize Seq platformu kullanılarak analiz edildi. İlk aşamada varyantlar aşağıdaki kriterlere göre filtrelendi:

1. ClinVar veri tabanındaki tüm Benign (B)/Likely Benign (LB) 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.

Saptanan varyantların patojenite sınıflandırmasında, 2015 yılında yayınlanan ACMG'nin güncel kılavuzu esas alındı.¹³⁴ Buna göre varyantlar sırasıyla benign, olası benign, klinik önemi bilinmeyen, olası 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 aminoasit 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 (REVEL¹⁸⁵, Metalr¹⁸⁶, SIFT¹⁸⁷, PolyPhen¹⁸⁸, MutationTaster¹⁸⁹, ADA ve RF skoru¹⁹⁰)
- Uluslararası veri tabanlarındaki verileri

Patojenite sınıflandırması sırasında SEQ platformunun yanısıra; Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enstitüsü’ne ait ClinVar veri tabanı, Varsome (Saphetor, İsviçre) analiz platformu ve Franklin (Genoox, ABD) analiz platformundan da yararlanıldı.

Ek olarak, raporlanacak tüm varyantlar Bütünleştirici Genomik Görüntüleyici (IGV) yazılımı kullanılarak değerlendirildi.

3.6. Çoklu Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonu Analizi

Merkezimizde ARVC hastalarından SALSA® MLPA® P168-D1 ARVC-PKP2 prob karışımı kullanılarak *PKP2*, *DSG2*, *DSC2*, *JUP*, *DSP*, *TGFB3* ve *RYR2* genlerinin delesyon ve duplikasyonları tarandı.

SALSA® MLPA® P168-D1 ARVC-PKP2 kiti 124 ile 490 nükleotid arasında amplifikasyon ürünleri içeren 44 adet prob içermektedir. Bu problemlerden 16 tanesi *PKP2* geni, 5 tanesi *DSP* geni, 3 tanesi *JUP*, *DSC2*, *DSG2* ve *TGFB3* genleri ve 2 tanesi *RYR2* genine spesifiktir. Ayrıca kit otozomal kromozom pozisyonlarına spesifik 9 adet referans prob içermektedir. Kit içeriği Tablo 5’de verildi.

Length (nt)	SALSA MLPA probe	Chromosomal position (hg18) ^a							
		Reference	PKP2	DSG2	DSP	TGFB3	DSC2	JUP	RYP2
64-105	Control fragments – see table in probemix content section for more information								
124 *	Reference probe 19616-L26275	4p13							
130	DSG2 probe 15483-L17323			Exon 1					
136	DSC2 probe 15484-L23210						Exon 1		
142	PKP2 probe 05383-L04780		Promoter						
151	PKP2 probe 05391-L24225		Exon 8						
160	TGFB3 probe 05414-L04824				Exon 1				
166	Reference probe 09106-L09165	4q25							
172	PKP2 probe 18562-L23895		Exon 1						
179 K	PKP2 probe 18376-SP0649-L23341		Exon 9						
188	DSP probe 05418-L24226			Exon 5					
196	JUP probe 14866-L16590						Exon 2		
202	PKP2 probe 05385-L24227		Intron 1						
209	PKP2 probe 20990-L29416		Exon 10						
218	DSP probe 05419-L24229				Exon 7				
226	DSG2 probe 15486-L24230			Exon 15					
232	DSC2 probe 15487-L17327					Exon 7			
238	PKP2 probe 05386-L04783		Exon 3						
244	Reference probe 17871-L22130	2p21							
251	DSP probe 18377-L29417		Exon 1						
265	TGFB3 probe 05415-L04825				Exon 6				
274 *	Reference probe 19294-L30901	10q23							
282	PKP2 probe 05387-L04784		Exon 4						
288	PKP2 probe 15488-L18692		Exon 6						
295	PKP2 probe 18378-L24231		Exon 12						
301	RYP2 probe 05935-L04837							Exon 3	
310	DSP probe 05936-L04831			Exon 21					
319 *	Reference probe 16274-L18566	20q11							
328	PKP2 probe 05388-L04785		Exon 5						
339	PKP2 probe 05396-L24232		Exon 13						
352	RYP2 probe 05428-L04838							Exon 97	
361	Reference probe 08674-L08686	9q31							
373	DSC2 probe 15489-L17329					Exon 17			
384	PKP2 probe 05397-L29419		Exon 14						
391	DSP probe 05423-L04833			Exon 24					
401	TGFB3 probe 14865-L16589				Exon 7				
409 *	Reference probe 21338-L29744	3p14							
421 +	PKP2 probe 05390-L24235		Exon 7						
427	PKP2 probe 05411-L08911		Exon 4						
436	JUP probe 05426-L24236						Exon 12		
445	Reference probe 12002-L23932	8q13							
454	JUP probe 05937-L04835						Exon 9		
463	PKP2 probe 18379-L23434		Exon 11						
481	DSG2 probe 15490-L17330		Exon 6						
490 *	Reference probe 19137-L25693	21q22							

Tablo 5: P168-D1 lot numaralı SALSA® MLPA® ARVC-PKP2 kit içeriği (<https://www.mrcholland.com/product/P168/1926> sayfasından alıntıdır.)

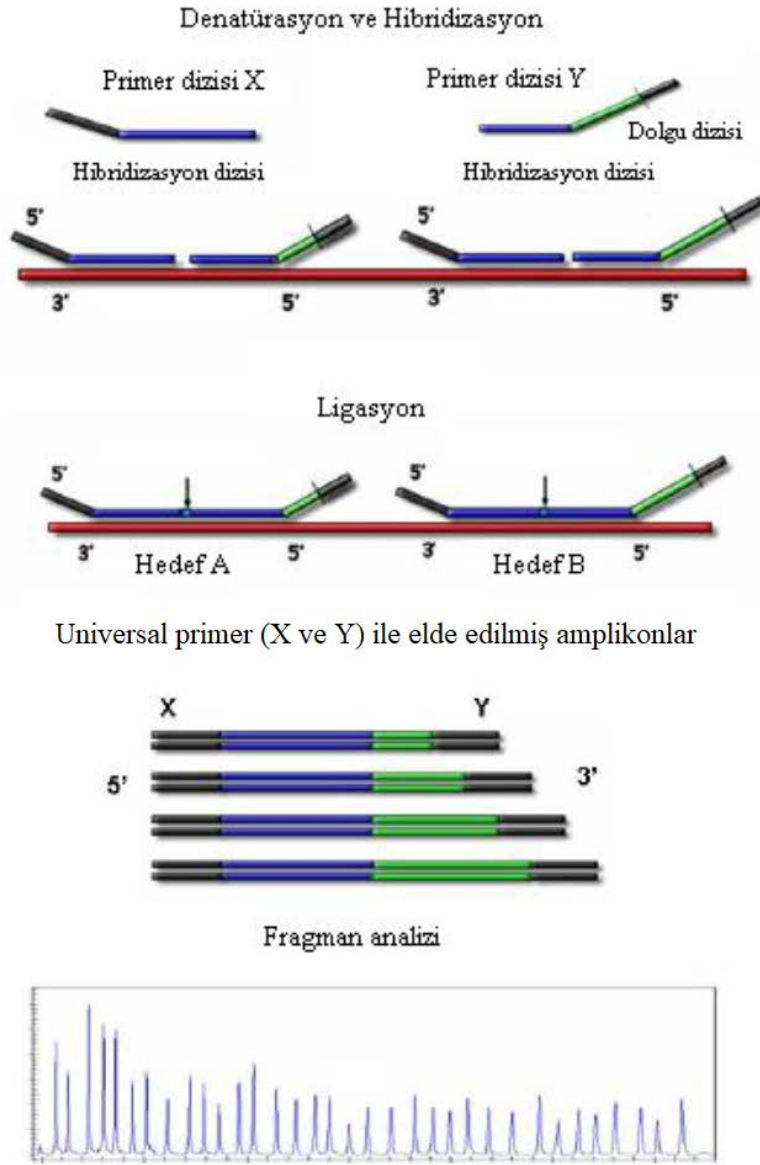
Prob miksi içerisinde 120 nükleotidden küçük amplifikasyon ürünü içeren 9 prob bulunur. Bu problemler kontrol fragmentleri olarak adlandırılır. DNA miktarının belirlenmesi için 64, 70, 76 ve 82 nükleotidden oluşan Q-fragmentleri bulunur. Denatürasyon kontrolü için 88, 92, 96 nükleotidden oluşan fragmenleri bulunur. Bunlar dışında cinsiyet kontrolü için kullanılan 100 nükleotidden oluşan X-fragmenti ve 105 nükleotidden oluşan Y-fragmenti bulunur.

MLPA çalışmasında hasta grubu kontrol grubu örneklerle karşılaştırıldı. Bu nedenle 21 örnekten fazla örneğin çalışıldığı her MLPA çalışması için üç kontrol hasta örneği kullanıldı. Bu hastalar daha önce genetik tanı merkezine kardiyoloji dışı endikasyon ile yönlendirilmiş ve özgeçmişlerinde bilinen kardiyolojik hastalık öyküsü olmayan 1 kadın ve 2 erkek erişkin olguya ait DNA örnekleriydi. Her bir MLPA çalışmasına alınan hasta ve referans örnek DNA'larının aynı DNA izolasyon yöntemi ile elde edilmiş olmasına dikkat edildi.

3.6.1. MLPA Islak Laboratuvar Aşamaları

MLPA ıslak laboratuvar aşamaları sırasıyla DNA denatürasyonu, hibridizasyon reaksiyonu, ligasyon reaksiyonu, PCR ve kapiller elektroforez aşamalarından oluşur. Tüm aşamalarda üretici protokollerine uyuldu ve aşağıdaki basamaklar uygulandı.

- Elde edilen DNA örneklerinden 5 µl (100 ng DNA) alınarak 200 µl lik PCR strip tüplerine aktarıldı.
- 98 °C’de 5 dk. Thermal Cycler cihazında bekletilerek DNA’nın denatürasyonu sağlandı.
- Sonrasında örnekler oda sıcaklığına soğutuldu.
- 25°C’deki DNA örneğinin üzerine 1,5 µl SALSA MLPA Probe mix (P168 ARVC-PKP2) ve 1,5 µl MLPA Buffer ilave edilip pipetaj ile homojenize edildi.
- Daha sonra örnekler 95 °C’de 1 dk. inkübe edilip 60 °C’de 16-18 saat hibridizasyona bırakıldı.
- Hibridizasyon süresinin sonunda termal cycler cihazının sıcaklığı 54 °C’ye düşürüldü.
- Hibridizasyon ürününe 32 µl Ligaz-65 karışımı (25 µl steril su, 3 µl Ligaz-65 Buffer A, 3 µl Ligaz-65 Buffer B, 1 µl Ligaz-65) ilave edildi ve 54 °C’de 15 dk. inkübasyona bırakıldı.
- Daha sonra ligaz inaktivasyonu için 98 °C’de 5 dk. bekletildi.
- Ligasyon reaksiyonu ürünleri bulunan strip tüplerine, hazırlanmış olan polimeraz karışımından (7,5 µl steril su, 2 µl SALSA PCR primer, 0,5 µl SALSA polimeraz) oda sıcaklığında 10 µl eklenerek pipetaj yapıldı ve PCR başlatıldı.
- PCR şartları; 95°C’de 30 sn denatürasyon, 60°C’de 30 sn anneallig, 72°C’de 60 sn ekstansiyon aşamaları 35 döngü ve son ekstansiyon aşaması 72°C’de 20 dk şeklindeydi.
- PCR bitiminde elde edilen amplifikasyon ürünlerinden 0,7 µl alınarak ABI 3130 cihazı yükleme tüplerine aktarıldı, üzerlerine 0.3 µl internal size standart ve 9 µl formamid eklenerek pipetajla homojenize edildi.
- Örnekler 80 °C’de 2 dk Thermal Cycler cihazında bekletilerek denatürasyonları sağlandı.
- Örnekler buz üzerinde birkaç dakika bekletildikten sonra ABI 3130 cihazına 96 well plate içerisine her hasta bir kuyucuk içerisine yüklenerek uygun protokolda yürütüldü.



Şekil 4: MLPA analiz basamakları (Eijk-Van Os ve ark.¹⁸⁰ kitabından alıntıdır)

3.6.1. Coffalyser programı ile Veri Analizi

Elde edilen veriler Coffalyser.Net yazılımı kullanılarak değerlendirildi. Kontrol grubuna göre hasta grubunun verdiği pik değerlerine göre analiz edildi. Analiz yapılırken değerler Tablo 6'da verilen oranlar dikkate alınarak yapılmaktadır.

Referans Değerler	Kopya Sayısı
$DQ = 0$	0 kopya (homozigot delesyon)
$0.40 < DQ < 0.65$	1 kopya (heterozigot delesyon)
$0.80 < DQ < 1.20$	Normal
$1.30 < DQ < 1.65$	3 kopya (heterozigot duplikasyon)
$1.75 < DQ < 2.15$	4 kopya (homozigot duplikasyon)
Diğer Değerler	Değerlendirilemeyen sonuç

Tablo 6: Dozaj oranları (DQ)'ya göre MLPA sonuçlarını değerlendirirken kullanılan referans aralıklar Coffa ve ark.¹⁹¹ makalesinden alıntılanmıştır.

3.7. VUS varyantlarının tekrar analizi

Olguların genetik tetkik sonuçları ve klinik bilgileri bölüm arşivinden elde edildi. Saptanan patojenik, muhtemel patojenik ve klinik önemi bilinmeyen varyantlar listelendi. Klinik önemi bilinmeyen varyantların sınıflandırılması, analiz yazılımları ve veri tabanlarındaki bilgilerin güncellenmesi sonucu zaman içerisinde değişebilir. Yeniden analiz için Varsome (Saphetor, İsviçre) ve Franklin (Genoox, ABD) analiz platformları ve Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enstitüsü'ne ait ClinVar veri tabanı kullanıldı. “in silico” tahmin araçlarından REVEL¹⁸⁵, MetaLR¹⁸⁶, SIFT¹⁸⁷, PolyPhen¹⁸⁸ ve MutationTaster¹⁸⁹ ile kırılma bölgesi mutasyonları için ADA, RF ve MaxEntScan skorları kullanıldı. Varyantı hastalık fenotipiyle ilişkilendirmek için OMIM veri tabanı kontrol edildi. Bunlar dışında arama motoruna ve Pubmed literatür veri tabanına varyantın kromozom bölgesi ve nükleotid değişimi bilgisi girildi ve değişimi bildiren yayınlar incelendi. Elde edilen tüm veriler ile ACGM'nin son kılavuzuna göre varyantlar tekrar sınıflandırıldı.

3.8. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel 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 ARVC ilişkili klinik bulgular ve hasta genotipi arasındaki ilişkiler tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, sıklık ve oran) ve uygun parametrik ve non-parametrik testler ile incelendi.

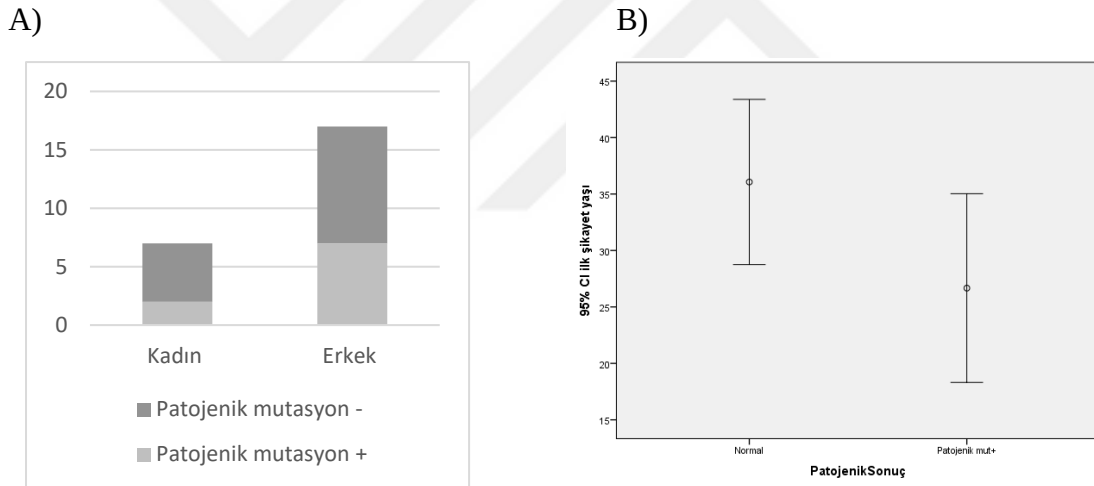
Yeni Nesil Dizileme Paneli ve MLPA analizinin tanısal değerinin belirlenmesi için patojenik ve olası patojenik varyant bulunan hastaların çalışmadaki tüm hasta sayısına oranlanmasıyla gen panelinin ve MLPA analizinin söz konusu hasta grubunda yüzde cinsinden (%) tanısal değeri hesaplandı.

4. BULGULAR

Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik Polikliniği'nde Aralık 2019 ile Ağustos 2021 tarihleri arasında ARVC ön tanısı ile değerlendirilen ve rutin tanı amaçlı moleküler genetik tetkikleri tamamlanmış 24 hasta ve aile taraması amacıyla hedefli mutasyon analizleri yapılmış 10 aile üyesi dahil edilmiştir.

Tüm olgular ARVC ön tanısı ile yönlendirilmiştir ve yaş ortalamaları 42,70'dir (21-68 aralığında). Bu hastaların %70,8'i erkek, %29,2'si kadın hastadır.

İlk semptom yaşı tüm olgularda ortalama 33,27 (14-59 aralığında)'dir. Patojenik mutasyon saptanan olgularda 26,75 (14-45 aralığında) iken, patojenik mutasyon saptanmayan olgularda 37 (16-59 aralığında)'dir. Patojenik mutasyon saptanan ve saptanmayan grup arasında ilk şikayet yaşı açısından anlamlı fark yoktur. ($p>0.05$, $r=0.77$)



Şekil 5: A) Kadın ve erkek ARVC olgularında patojenik mutasyon saptanma oranları, B) İlk şikayet yaşı ile patojenik sonuç saptama ilişkisi

İlk semptom olarak olgular en sık çarpıntı (%50) sonrasında ise senkop (%16,7) ve efor dispnesi (%16,7) bildirmişlerdir. Olguların %8,3'ünde ise asemptomatiktir ve rutin kontrolleri sırasında veya farklı bir nedenle yapılan tetkiklerinde rastlantısal olarak ARVC bulguları saptanmıştır.

Olguların %29,2'sinde en az bir kez senkop şikayeti mevcut iken %41,7'sinde ise VT veya kardiyak arrest öyküsü mevcuttur.

Olguların %70,8'inde ailede ani kardiyak ölüm veya ARVC öyküsü saptanmıştır. Patojenik mutasyon saptanan ve saptanmayan grup arasında aile öyküsü mevcudiyeti açısından anlamlı fark yoktur. ($p>0.05$)

Tüm olguların %57,2'si ICD ve medikasyon ile takiptedir. Patojenik mutasyon saptanan grup, senkop ve VT/kardiyak arrest öyküsü açısından tüm olgular ile benzerdir. Ancak patojenik mutasyon saptanan olguların %77,8 ile daha yüksek bir bölümü ICD ve medikasyon ile takiplidir.

Yeni nesil dizileme yöntemiyle çalışılan hedefli gen paneli ile saptanan varyantların ACMG'ye göre sınıflandırılması sonucunda olgularda 3 patojenik, 6 muhtemel patojenik ve 86 klinik önemi bilinmeyen değişiklik saptanmıştır. Yeniden analiz edilen VUS varyantların tamamında sınıflandırma değişmemiştir. Toplamda 9 hastada nedensel varyant (patojenik, muhtemel patojenik) tespit edilmiştir. Buna göre 54 genden oluşan Kardiyomiyopati YND panel analizinin ARVC olgularında tanısal değeri %37,5 (Patojenik, Muhtemel patojenik varyantlar için) olarak bulunmuştur.

Dokuz olguda saptanan patojenik ve muhtemel patojenik değişimlerin tümü OMIM veri tabanında ARVC ile ilişkilendirilmiş genlerdedir. Klinik önemi bilinmeyen 86 varyantın ise 57 tanesi (%66,2) ClinGen ARVC ilişkili gen listesi içinde yer almaktadır. Bunlardan 11'i kesin, 1'i "moderate", 44'ü ise sınırlı kanıt bulunan genlerdeydi. Klinik önemi bilinmeyen değişim saptanan genlerin 29 tanesinin (%33,7) ise veri tabanlarında ARVC ile ilişkisi bilinmemektedir.

Çalışmada iki farklı gende (*PKP2* ve *DSP*) 6 farklı nedensel varyant (patojenik/muhtemel patojenik) bulunmuştur. Buna göre en sık nedensel varyant bildirilen gen *PKP2* genidir. *PKP2* geninde 2 patojenik ve 4 olası patojenik varyant tespit edilmiştir. Tüm hastaların %20'sinde (5/24) *PKP2* gen değişimi saptanmıştır ve bu değişimlerin tümü yıkıcı ("null") varyantlardır.

Belirlenen nedensel varyantlar Pubmed literatür veri tabanı ve arama motorlarında araştırılmıştır. Buna göre varyantlardan *PKP2* geni c.939delC ve c.713del ile *DSP* geni c.803del değişimleri daha önce bildirilmemiş ("novel") değişimlerdir.

Olguların 16 tanesi kesin, 4 tanesi sınırda ve 4 tanesi olası ARVC Çalışma Grubu Kriterlerini karşılamaktaydı. Patojenik varyant saptanan olguların ise 5 tanesi kesin, 3 tanesi sınırda ve 1 tanesi olası ARVC tanısı almaktaydı.

Tüm olgulardan *PKP2*, *DSG2*, *DSC2*, *JUP*, *DSP*, *TGFB3* ve *RYR2* genlerinin delesyon ve duplikasyonlarının tarandığı ARVC MLPA analizi çalışılmıştır. Olgu 6'nın DNA materyali yetersiz olduğu için sonuç elde edilememiştir. Geri kalan 23 olgunun ARVC MLPA sonucunda tetkik edilen prob bölgelerinde delesyon veya duplikasyon saptanmamıştır.

Olguların demografik ve klinik bilgileri Tablo 7'de, 2010 yılı Çalışma Grubu Kriterleri'ne göre özellikleri Tablo 8'de verilmiştir. Olgularda saptanan patojenik, muhtemel patojenik ve klinik önemi bilinmeyen varyantlar Tablo 9 ve 10'da paylaşılmıştır.

Patojenik veya muhtemel patojenik değişim saptanan 9 olgunun klinik öykülerine aşağıda değinilmiştir.

Olgu 2, 47 yaşında erkek hastadır. İlk şikayeti 45 yaşındadır ve çarpıntıdır. Göğüste baskı hissi ve presenkop yakınması ile başvurduğu acil serviste EKG'de devamlı olmayan sağ ventrikül giriş yolu konfigürasyonunda VT saptanmıştır ve yapılan kardiyak görüntülemelerinde sağ ventriküler dilatasyon ve fokal anevrizmatik segment tespit edilmiştir. İki yıldır ICD ve medikasyon ile takipli olgu genetik etiyoloji araştırılması ve genetik danışma için tarafımıza yönlendirilmiştir. Olgunun baba tarafından kuzeninde 55 yaşında ani kardiyak ölüm öyküsü ve annesinde Atrial fibrilasyon (AF) tanısı ile ICD öyküsü mevcuttur. Olgunun aile özellikleri Şekil 7'de paylaşılmıştır. Olguya çalışılan Kardiyomiyopati YND ve ARVC MLPA sonuçları danışma ile teslim edilmiştir. *PKP2* geni muhtemel patojenik c.939delC değişimi için aile taraması önerilmiştir. Olgunun asemptomatik 15 yaş ve 10 yaşlarındaki oğullarının (Aile taraması olgu 2-1 ve 2-2) aynı *PKP2* gen varyantını taşıdıkları gösterilmiştir. Aile taraması olgu 2-1'in MRG görüntülemesinde sağ ventrikül lateral duvarında düzensiz görünüm dışında bulgu saptanmamıştır ve aile taraması olgu 2-1 ve 2-2 Çalışma Grubu Kriterlerini karşılamamaktadırlar.

Olgu 4, 49 yaşında erkek hastadır. İlk şikayeti 22 yaşında spor yaparken senkop olan olgu daha sonra ikisi spor sırasında biri düş alırken senkop atağı geçirmiştir. EKG'sinde prekordiyal derivasyonlarda T dalga negatifliği ve epsilon dalgası saptanan olgunun EKO sonucunda sağ ventrikül serbest duvar anevrizmatik izlenmiştir. Holter EKG'de devamlı olmayan ventriküler ekstra vuru (VEV) (13500 adet/gün) saptanan olgunun kardiyak MRG sonucu da ARVC ile uyumlu saptanmıştır. İki yıldır medikasyon ve ICD ile takiplidir. Kesin ARVC tanı kriterlerini karşılayan olgu genetik tarama ve danışma için tarafımıza yönlendirilmiştir. Olgunun amcasında 64 yaşında ani ölüm öyküsü mevcuttur. (Pedigri Şekil 7'de paylaşılmıştır) Olguya Kardiyomiyopati YND ve ARVC MLPA sonuçları danışma

ile teslim edilmiştir. *PKP2* geni muhtemel patojenik c.939delC değişimi için aile taraması önerilmiştir. Olgunun aile ağacı ve aile taraması sonuçları şekil 7 ve tablo 11’de paylaşılmıştır.

Olgu 7, 48 yaşında erkek hastadır. 44 yaşında çarpıntı şikayeti ile acil servise başvuran olguda devamlı VT saptanmıştır. Sonraki tetkiklerinde EKG’de prekordiyal derivasyonlarda T dalga negatifliği gözlenmiştir ve EKO’da sağ ventrikül çıkış yolu (RVOT) 52 mm ile genişlemiş ve dilate sol yapılar rapor edilmiştir. Ailede ani ölüm veya benzer hastalık öyküsü yoktur. Olgu mevcut klinik bulguları ile kesin ARVC tanısı almıştır ve ICD ile takip edilmektedir. Genetik tarama ve danışma için tarafımıza yönlendirilmiştir. Olguya çalışılan Kardiyomiyopati YND ve ARVC MLPA sonuçları danışma ile teslim edilmiştir. *PKP2* geni muhtemel patojenik c.1034+1G>T değişimi için aile üyelerine genetik danışma sonrasında mutasyon taraması önerilmiştir ancak aile üyeleri kabul etmemişlerdir. Ailedeki tüm risk altındaki bireyler kardiyoloji kontrolüne yönlendirilmiştir.

Olgu 10, 22 yaşında erkek hastadır. İlk şikayeti 18 yaşında çarpıntı olan olgu ARVC tanısı ile 21 yaşından beri ICD ve medikasyon ile izlenmektedir. Devamlı VT öyküsü ve EKO’da sol ventrikül duvarı ve septumda granüler patern ve sağ ventrikül duvarında yer yer poşlar şeklinde yapısal anomaliler saptanmıştır. Olgunun ailesinde amcası ve kuzeninde 5. dekatta ani ölüm öyküsü mevcuttur. Genetik etiyoloji araştırılması ve genetik danışma için tarafımıza yönlendirilen olguya Kardiyomiyopati YND ve ARVC MLPA sonuçları danışma ile teslim edilmiştir ve *PKP2* geni patojenik c.148_151delACAG değişimi için aile taraması önerilmiştir. Olgunun aile ağacı ve aile taraması sonuçları şekil 7 ve tablo 11’de paylaşılmıştır.

Olgu 13, 30 yaşında erkek hastadır. İlk şikayeti 27 yaşında çarpıntıdır. Yapılan tetkiklerinden holter EKG’sinde orta sıklıkta VEV ve kardiyak görüntülemelerinde ARVC tanı kriterlerini karşılamayan ve sol ventrikülü de etkilemiş sınırdan dilatasyon saptanmıştır. Olgunun kronik egzema ve kirpik dibi iltihabı gibi dermatolojik yakınmaları dışında ek hastalığı yoktur. Olgunun babası (**Olgu 14**), 54 yaşında erkek hastadır. İlk şikayeti 24 yaşında çarpıntıdır ve yılda 2-3 kere presenkop yakınmaları mevcuttur. Olgunun kardiyak MRG’i sağ ventriküler duvar hareketleri hipokinetik ve ARVC ile uyumludur olarak raporlanmıştır ve sol ventrikül etkilenmesi de mevcuttur. Olgunun annesinde şüpheli bir kardiyomiyopati ve dayısında 50 yaşında ani ölüm öyküsü mevcuttur. Bu bulgularla olgu 14 Çalışma Grubu Kriterleri’ne göre olası ARVC tanısı ile takip edilmektedir. Olgu 13 ve olgu 14 genetik danışma ve etiyoloji araştırılması açısından tarafımıza yönlendirilmiştir. Kardiyomiyopati YND panel analizi sonucunda *DSP* geninde daha önce bildirilmemiş olası patojenik c.803del değişimi raporlanmıştır. Böylece kesin ARVC tanı kriterlerini karşılayan olgulara moleküler analiz

sonuçları genetik danışma ile teslim edilmiştir. Olguların aile ağacı ve aile taraması sonuçları şekil 7 ve tablo 11’de paylaşılmıştır.

Olgu 15, 21 yaşında erkek hastadır. İlk şikayeti 20 yaşındayken alkol aldığı sırada çarpıntıdır ve acil serviste devamlı VT nedeniyle kardiyoversiyon öyküsü mevcuttur. Sonraki tetkikleri EKG’de prekordiyal derivasyonlarda T negatifliği ve kardiyak MRG’de sağ ventrikül duvar düzensizliği ile sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (RVEF) %36 olarak saptanmış ve ARVC ile uyumlu düşünülmüştür. Ailede ani kardiyak ölüm öyküsü veya benzer hastalık yoktur. Olgu 20 yaşından beri ICD ve medikal tedavi ile semptomsuz takip edilmektedir. Genetik tarama ve genetik danışma için tarafımıza yönlendirilen olgudan moleküler genetik tetkikleri çalışılmıştır. Kardiyomiyopati YND ve ARVC MLPA sonuçları danışma ile teslim edilmiştir ve *PKP2* geni muhtemel patojenik c.939delC için aile taraması önerilmiştir. Olgunun aile ağacı ve aile taraması sonuçları şekil 7 ve tablo 11’de paylaşılmıştır.

Olgu 21, 26 yaşında kadın hastadır. Bilinen bir kalp hastalığı yokken 25 yaşında COVID pnömonisi geçiren olguda miyokardit komplikasyonu gelişmiştir. Sonrasında kardiyoloji takiplerinde EKG’de prekordiyal derivasyonlarda T dalga negatifliği ve holter EKG’de ise sık VEV atakları saptanmıştır. MRG görüntülemeleri sağ ventrikül anterior duvarında hipokinezi, lateral duvarında düzensiz kontraksiyon ve geç kontrastlanma ile ARVC ile uyumlu raporlanmıştır. Olgu ARVC tanısı ile medikasyonla takip edilmeye başlanmıştır ve genetik etiyoloji araştırılması amacıyla tarafımıza yönlendirilmiştir. Kardiyomiyopati YND analizi sonucunda *DSP* geni patojenik c.5269C>T değişimi saptanmıştır. Olgu genetik danışma ve aile taraması için çağırılmıştır.

Olgu 22, 51 yaşında erkek hastadır. İlk şikayetini 14 yaşında çarpıntı olarak tarifleyen olguya 23 yaşında geçirdiği VT atağı sonrasında ICD takılmış ve takibe alınmıştır. Olgunun EKG’sinde prekordiyal derivasyonlarda T dalga negatifliği mevcuttur. Holter EKG’de orta sıklıkta VEV rapor edilmiştir. EKO sonucunda sağ ventrikül dilatasyonu ve trabekülasyon bildirilmiştir. Daha önce bilinen bir hastalığı olmayan olgunun abisinde 33 yaşında ani ölüm öyküsü mevcuttur. Genetik tarama için tarafımıza yönlendirilmiştir ve genetik danışma sonrasında Kardiyomiyopati YND ve ARVC MLPA tetkikleri çalışılmıştır. Olguda *PKP2* geninde muhtemel patojenik c.713delC değişimi saptanmıştır. Genetik danışma ve aile taraması için çağırılmıştır.

Çalışmamıza hedefli mutasyon analizleri tamamlanmış 10 aile üyesi dahil edilmiştir. Bunların 7’sinde (%70), indeks olguda saptanan patojenik mutasyon saptanmıştır. Aile

üyelerinin tümü asemptomatiktir. Patojenik mutasyon saptanan asemptomatik aile üyelerinden 5'inin kardiyoloji muayenesi mevcuttur ve sadece birinde sağ ventrikül lateral duvarda düzensiz görünüm şeklinde minör yapısal anomali tespit edilirken 4'ünde normal kardiyak muayene not edilmiştir.



Olgu No	Yaş (Cinsiyet)	İlk semptom	Semptom başlangıç yaşı	Senkop öyküsü	VT/Kardiyak arrest öyküsü	Ailede ani ölüm
1	46 (E)	Senkop	33	+	-	-
2	47 (E)	Çarpıntı	45	Presenkop	+	+
3	30 (K)	Çarpıntı	29	-	-	-
4	49 (E)	Senkop	22	+	-	+
5	61 (E)	Çarpıntı	43	-	+	+
6	39 (E)	Çarpıntı	34	-	+	+
7	48 (E)	Çarpıntı	44	-	+	-
8	48 (E)	Çarpıntı	43	-	-	-
9	50 (E)	Efor dispnesi, çarpıntı	47	-	-	-
10	22 (E)	Çarpıntı	18	-	+	+
11	47 (K)	Dispne, çarpıntı	25	-	-	-
12	36 (K)	Presenkop	33	Presenkop	-	-
13	30 (E)	Çarpıntı	27	-	-	+
14	54 (E)	Dispne, Çarpıntı	24	Presenkop	-	+
15	21 (E)	Çarpıntı	20	+	+	+
16	68 (K)	Çarpıntı	58	Presenkop	+	-
17	46 (E)	Çarpıntı	41	-	-	+
18	39 (E)	Çarpıntı	16	+	+	+
19	23 (E)	Rastlantısal EKG bulgusu	-	-	-	-
20	46 (E)	Efor dispnesi ve çarpıntı	41	-	+	+
21	26 (K)	Rastlantısal EKG ve EKO bulguları	25	-	-	+
22	51 (E)	Çarpıntı	14	+	+	+
23	59 (E)	Senkop	59	+	-	+
24	39 (K)	Senkop	16	+	-	+

Tablo 7: Olguların demografik ve klinik özellikleri

VT: Ventriküler taşikardi, EKG: Elektrokardiyografi, EKO: Ekokardiyografi E: Erkek, K: Kadın , (+) :Var, (-): Yok

Olgu No	Yapısal Anomali	Repolarizasyon Anomalisi	Depolarizasyon Anomalisi	Aritmiler	Aile Öyküsü	TFC
1	++	-	-	+	-	1++/1+
2	++	-	-	+	-	1++/1+
3	+	-	++	+	-	2++/1+
4	++	++	++	+	-	3++/1+
5	+	++	-	+	++	2++/2+
6	+	-	-	+	+	3+
7	++	++	-	+	-	2++/1+
8	-	-	+	+	-	2+
9	++	-	-	-	-	1++
10	+	-	-	+	-	2+
11	+	-	-	+	++	1++/2+
12	-	-	-	++	-	1++
13	-	-	-	+	++	1++/1+
14	++	-	-	-	-	1++
15	++	++	-	+	-	2++/1+
16	-	-	-	++	-	1++
17	-	+	-	+	-	2+
18	+	-	-	+	-	2+
19	+	+	-	-	-	2+
20	++	-	-	++	+	2++/1+
21	+	++	-	+	-	1++/2+
22	++	++	+	+	-	2++/2+
23	++	++	+	-	-	2++/1+
24	++	++	-	+	-	2++/1+

Tablo 8: Olguların Çalışma Grubu Kriterleri'ne göre özellikleri⁹

++majör kriter, +minör kriter

Gen	Kr. No	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/İntron	Zigote	Değişim tipi	In Silico Tahmin Skoru (REVEL/MetaLR) ^t	rs numarası	MAF (SEQ platformu/Popülasyon*)	Patojenik Sınıflandırma	Patojenite Kriterleri	Saptanan olgu
PKP2	12	33030874	ENST00000070846.6: c.939del	p.Ser313ArgfsTer7	Ekzon3	HET	Çerçeve Kayması	0.0690 / D	yok	0.001/0.0000	Olası Patojenik	PVS1, PM2	2, 4, 15
PKP2	12	33030779	ENST00000070846.6: c.1034+1G>T	-	İntron3	HET	5' uç kırılma bölgesi değişimi	ADA skor: 1.0000 RF skor: 0.9340	rs869025496	0.000/ 0.0000	Patojenik	PVS1, PM2, PP5, PP3	7
PKP2	12	33049514	ENST00000070846.6: c.148_151delACAG	p.Thr50SerfsTer61	Ekzon1	HET	Çerçeve Kayması	NA	rs1280134566, rs397516997	0.000/ 0.0000	Patojenik	PVS1, PM2, PP5	10
DSP	6	7565616	ENST00000379802.3: c.803del	p.His268ProfsTer49	Ekzon7	HET	Çerçeve Kayması	NA	yok	0.000/ 0.0000	Olası Patojenik	PVS1, PM2	13,14
DSP	6	7581692	ENST00000379802.3: c.5269C>T	p.Gln1757Ter	Ekzon23	HET	Anlamsız mutasyon	NA	rs1554108477	0.000	Patojenik	PVS1,PM2,PP5	21
PKP2	12	33031100	ENST00000070846.6: c.713del	p.Pro238ArgfsTer25	Ekzon3	HET	Çerçeve kayması	NA	yok	0.000/ 0.0000	Olası patojenik	PVS1, PM2	22

Tablo 9: Saptanan patojenik varyantların özellikleri

^tKırılma bölgesi değişimlerinde mevcut ise ADA, RF ve MaxEntScan skorları verilmiştir.

*MAF: GnomAD Exome(2.1.1), 1000 genome(phase3, v5), ESP6500(v2) ve ExAC(1.0) popülasyonlarından alınan maksimum allel frekansı değeridir.

HGVS: 'Human Genome Variation Society', NA: 'not applicable'(Uygulanamaz), HET: Heterozigot, HEM: Hemizigot. & Patojenite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır

Gen	Kr. no	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/İntron	Zigosite	Değişim tipi	In Silico Tahmin Skoru (REVEL/MetaLR) ^t	rs numarası	MAF (SEQ/popülasyon*)	Patojenik Sınıflandırma	Patojenite Kriterleri	Olgu
DSG2	18	29099850	ENST0000026159 0.8:c.166G>A	p.Val56Met	Ekzon3	HET	Yanlış anlamlı	0.2910/T	rs121913013	0.001/0.0019	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP6	4
TTN	2	179579091	ENST0000058904 2.1:c.26410G>C	p.Ala8804Pro	Ekzon91	HET	Yanlış anlamlı	0.3330/T	rs778012263	0.000/ 0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	4
TTN	2	179666894	ENST0000058904 2.1:c.266C>G	p.Ala89Gly	Ekzon3	HET	Yanlış anlamlı	0.5140/D	rs200165636	0.000/ 0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, PP3	2
ABCC9	12	21981892	ENST0000026120 0.4:c.3669G>A	p.T1223=	Ekzon29	HET	Sinonim	NA	rs146942382	0.000/ 0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	2
FLNC	7	128483509	ENST0000032588 8.8:c.2689G>A	.Ala897Thr H	Ekzon18	HET	Yanlış anlamlı	0.7350/D	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, PP3	2
TTN	2	179534986	ENST0000058904 2.1:c.35345A>T	p.Lys11782Ile	Ekzon157	HET	Yanlış anlamlı	0.3330/T	-	0.000/00.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	2
FLNC	7	128491576	ENST0000032588 8.8:c.5736C>A	p.G1912=	Ekzon35	HET	Sinonim	NA	rs776923967	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	2
TTN	2	179439256	ENST0000058904 2.1:c.71603G>A	p.Arg23868Gln	Ekzon326	HET	Yanlış anlamlı	0.1510/T	rs763316990	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2/BP4	2
MYH6	14	23876318	ENST0000040509 3.3:c.115G>A	p.Val39Met	Ekzon3	HET	Yanlış anlamlı	0.7340/D	rs142850511	0.000/0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, PP3	5
TTN	2	179515498	ENST0000058904 2.1:c.39689C>T	p.Ala13230Val	Ekzon209	HET	Yanlış anlamlı	0.0870/T	rs148140756	0.000/ 0.0005	Klinik önemi bilinmeyen	PM2/BP4	5
MYL2	6	111350901	ENST0000022884 1.8:c.401A>C	p.Glu134Ala	Ekzon6	HET	Yanlış anlamlı, splice region	0.9390/D	rs143139258	0.000/ 0.0002	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, PP2, PP3	20

Tablo 10: Saptanan klinik önemi bilinmeyen varyantların özellikleri

Gen	Kr. no	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Değişim tipi	In Silico Tahmin Skoru (REVEL/ MetaLR) ^t	rs numarası	MAF (SEQ/popülasyon*)	Patojenik Sınıflandırma	Patojenite Kriterleri	Olgu
DSC2	18	28669436	ENST0000028090 4.6:c.592_596delinsTCCCC	p.Thr198_Arg199delinsSerPro	Ekzon5	HOM	Yanlış anlamlı	NA	-	0.000/ 0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	20
FLNC	7	128491690	ENST0000032588 8.8:c.5842+8G>A	-	İntron35	HET	İntronik, "splice region variant"	ADA: 0.0020 RF: 0.0100	rs781168906	0.000/ 0.0003	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	20
ACTN2	1	236925774	ENST0000036657 8.4:c.2540C>T	p.Ala847Val	Ekzon21	HET	Yanlış anlamlı	0.0350/T	rs370569935	0.000/ 0.0002	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	20
TTN	2	179635943	ENST0000058904 2.1:c.8111T>C	p.Val2704Ala	Ekzon34	HET	Yanlış anlamlı	0.4230/T	rs1458291508	0.000/ 0.000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	20
TTN	2	179554549	ENST0000058904 2.1:c.31837C>G	p.Pro10613Ala	Ekzon122	HET	Yanlış anlamlı	0.3030/T	rs200213832	0.003/ 0.0004	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	20
MYH6	14	23853703	ENST0000040509 3.3:c.5513C>T	p.Ser1838Leu	Ekzon36	HET	Yanlış anlamlı	0.1550/T	rs747673552	0.000/ 0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	21
TTN	2	179597239	ENST0000058904 2.1:c.16549T>G	p.Ser5517Ala	Ekzon56	HET	Yanlış anlamlı	0.2470/T	rs200520316	0.000/ 0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	21
SCN5A	3	38597180	ENST0000041368 9.1:c.4509C>T	p.Ser1503=	Ekzon26	HET	Sinonim	NA	rs45548237	0.004/ 0.0040	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP7	22
ABCC9	12	22015989	ENST0000026120 0.4:c.2238-1G>A	-	İntron17	HET	"Splice Acceptor Variant"	ADA: 1.0000 RF: 0.9340 MaxEntScan: 9.403 (0.653)	rs141281214	0.002/ 0.0015	Klinik önemi bilinmeyen	PVS1, PP3, BS1	22
TTN	2	179604584	ENST0000058904 2.1:c.13376T>C	p.Ile4459Thr	Ekzon48	HET	Yanlış anlamlı	0.2400/T	rs763065439	0.001/ 0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	22
TTN	2	179397384	ENST0000058904 2.1 c.103958G>A	p.Arg34653His	Ekzon358	HET	Yanlış anlamlı	0.1280/T	rs72629786	0.000/ 0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	22
PRKAG2	7	151262462	ENST0000028787 8.4:c.1407T>G	p.Val469=	Ekzon13	HET	Sinonim	NA	-	0.000/ 0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP7	23
DMD	X	31676284	ENST0000035703 3.4:c.7873-23C>A	-	İntron53	Hemizigot	İntronik	NA	-	0.000/ 0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP7	23
TTN	2	179406192	ENST0000058904 2.1:c.97612C>T	p.Arg32538Cys	Ekzon350	HET	Yanlış anlamlı	0.4700/T	rs761050391	0.000/ 0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	23

Tablo 10: Saptanan klinik önemi bilinmeyen varyantların özellikleri (Devamı)

Gen	Kr. no	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Değişim tipi	In Silico Tahmin Skoru (REVEL/ MetaLR) ^t	rs numarası	MAF (SEQ/popülasyon*)	Patojenik Sınıflandırma	Patojenite Kriterleri	Olgu
TTN	2	179442784	ENST0000058904 2.1:c.68458G>C	p.Ala22820Pro	Ekzon322	HET	Yanlış anlamlı	0.7610/D	rs72646880	0.005/ 0.0019	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	24
PSEN2	1	227071448	ENST0000036678 3.3:c.184C>T	p.Arg62Cys	Ekzon5	HET	Yanlış anlamlı	0.4040/D	rs150400387	0.001/ 0.0003	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	24
TTN	2	179582697	ENST0000058904 2.1:c.25036G>A	p.Ala8346Thr	Ekzon86	HET	Yanlış anlamlı	0.1180/T	rs755302381	0.000/ 0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP4	24
ABCC9	12	22066003	ENST0000026120 0.4:c.817-3C>A*	-	İntron5	HET	İntronik, "Splice Region Variant"	ADA: 0.6100 RF: 0.4680 MaxEntScan: 11.183 (7.467)	-	0.001/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	15
ABCC9	12	22066006	ENST0000026120 0.4:c.817-6C>A*	-	İntron5	HET	İntronik, "Splice Region Variant"	ADA: 0.0000 RF: 0.0400 MaxEntScan: 11.183 (9.541)	rs879206459	0.001/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	15
FLNC	7	28495379	ENST0000032588 8.8:c.7251+11A>T	-	İntron43		İntronik	NA	-	0.001/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	15
FLNC	7	128495383	ENST0000032588 8.8:c.7251+15T>G	-	İntron43	HET	İntronik	NA	rs1585170629	0.003/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	15
TTN	2	179523215	ENST0000058904 2.1:c.37607C>T	p.Pro12536Leu	Ekzon184	HET	Yanlış anlamlı	0.1100/T	rs771270249	0.001/0.0006	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	15
TTN	2	179466443	ENST0000058904 2.1:c.55374C>G	p.Ser18458Arg	Ekzon286	HET	Yanlış anlamlı	0.2660/T	rs200550947	0.001/0.0006	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	1
TTN	2	179501351	ENST0000058904 2.1:c.41103C>T	p.Gly13701=	Ekzon225	HET	Sinonim	NA	rs72650077	0.006/0.0029	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	1
NEBL	10	21102917	ENST0000037712 2.4:c.2297A>G	p.Asp766Gly	Ekzon23	HET	Yanlış anlamlı	0.7280/D	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. PP3	3
PKP2	12	33021917	ENST0000007084 6.6:c.1114G>C	p.Ala372Pro	Ekzon4	HET	Yanlış anlamlı	0.2340/T	rs200586695	0.001/0.0006	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	3
MYPN	10	69934364	ENST0000035891 3.5:c.2515G>A	p.Ala839Thr	Ekzon11	HET	Yanlış anlamlı	0.0260/T	rs752773452	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	3

Tablo 10: Saptanan klinik önemi bilinmeyen varyantların özellikleri (Devamı)

Gen	Kr. no	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Değişim tipi	In Silico Tahmin Skoru (REVEL/ MetaLR) [†]	rs numarası	MAF (SEQ/popülasyon*)	Patojenik Sınıflandırma	Patojenite Kriterleri	Olgu
TTN	2	179611127	ENST0000036087 0.5:c.16000C>A	p.Pro5334Thr	Ekzon46	HET	Yanlış anlamlı	0.2829/T	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	6
TTN	2	179472763	ENST0000058904 2.1:c.52751C>T	p.Thr17584Ile	Ekzon276	HET	Yanlış anlamlı	0.3160/T	rs77611355	0.002/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	6
PKP2	12	32955469	ENST0000007084 6.6:c.2167A>C	p.Thr723Pro	Ekzon11	HET	Yanlış anlamlı	0.2630/T	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	6
TTN	2	179531543	ENST0000058904 2.1:c.35875+8T>G	-	İntron163	HET	İntronik, "Splice Region Variant"	NA	rs192408585	0.005/ 0.0003	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	7
TTN	2	179438093	ENST0000058904 2.1:c.72766A>G	p.Asn24256Asp	Ekzon	HET	Yanlış anlamlı	0.2030/T	rs187868672	0.004/0.0005	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	7
TTN	2	179403946	ENST0000058904 2.1:c.98716G>A	p.Val32906Ile	Ekzon353	HET	Yanlış anlamlı	0.0680/T	rs182683829	0.005/0.0005	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	7
TTN	2	179510754	ENST0000058904 2.1:c.40301C>A	p.Pro13434His	Ekzon217	HET	Yanlış anlamlı	0.3070/T	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	10
TTN	2	179463744	ENST0000058904 2.1:c.56693G>A	p.Arg18898His	Ekzon291	HET	Yanlış anlamlı	0.1040/T	rs572453785	0.000/0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	10
DSG2	18	29118913	ENST0000026159 0.8:c.1851C>T	p.L617=	Ekzon12	HET	Sinonim	NA	rs202057770	0.001/0.0002	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP7	10
DSP	6	7585796	ENST0000037980 2.3:c.8301C>G	p.T2767=	Ekzon24	HET	Sinonim	NA	rs145362059	0.003/0.0006	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP7	10
TTN	2	179575832	ENST0000058904 2.1:c.28131C>T	p.N9377=	Ekzon97	HET	Sinonim	NA	rs72648997	0.002/0.0004	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP7	8
FLNC	7	128482922	ENST0000032588 8.8:c.2464A>G	p.Ile822Val	Ekzon16	HET	Yanlış anlamlı	0.4650/D	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	8
TTN	2	179440208	ENST0000058904 2.1:c.70651C>T	p.L23551=	Ekzon326	HET	Sinonim	NA	rs72646889	0.002/0.0002	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP7	8
TTN	2	179440978	ENST0000058904 2.1:c.69881C>G	p.Thr23294Ser	Ekzon326	HET	Yanlış anlamlı	NA	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	8
BAG3	10	121411343	ENST0000036908 5.3:c.156_157del GCinsTT	p.Arg53Cys	Ekzon1	HET	Yanlış anlamlı	NA	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2 BP1	8
TTN	2	179597746	ENST0000058904 2.1:c.16157T>C	p.Met5386Thr	Ekzon55	HET	Yanlış anlamlı	0.4260/T	rs375417155	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	8
TTN	2	179594107	ENST0000058904 2.1:c.18776C>G	p.Thr6259Ser	Ekzon64	HET	Yanlış anlamlı	0.0650/T	rs72648949	0.008/0.0032	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	8

Tablo 10: Saptanan klinik önemi bilinmeyen varyantların özellikleri (Devamı)

Gen	Kr. no	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/İntron	Zigosite	Değişim tipi	In Silico Tahmin Skoru (REVEL/ MetaLR) ^t	rs numarası	MAF (SEQ/popülasyon*)	Patojenik Sınıflandırma	Patojenite Kriterleri	Olgu
TTN	2	179436554	ENST0000058904 2.1:c.74305A>G	p.Asn24769Asp	Ekzon326	HET	Yanlış anlamlı	0.1880/T	rs372787601	0.000/0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	8
MYBPC3	11	47364364	ENST0000054596 8.1:c.1457+17C>A	-	İntron16	HET	İntronik	NA	rs754641725	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP7	9
TTN	2	179556753	ENST0000058904 2.1:c.31752T>C	p.A10584=	Ekzon121	HET	Sinonim	NA	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP7	9
LAMA4	6	112469367	ENST0000023053 8.7:c.2345G>A	p.Arg782Lys	Ekzon18	HET	Yanlış anlamlı	0.0570/T	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	9
DSP	6	7581641	ENST0000037980 2.3:c.5218G>A	p.Glu1740Lys	Ekzon23	HET	Yanlış anlamlı	0.3070/T	rs142885240	0.007/0.0014	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	9
DSC2	18	28666629	ENST0000028090 4.6:c.852C>T	p.Ile284=	Ekzon7	HET	Sinonim	NA	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP7	11
TTN	2	179418820	ENST0000058904 2.1:c.89018G>A	p.Arg29673Gln	Ekzon333	HET	Yanlış anlamlı	0.3820/T	rs200639218	0.001/0.0002	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	11
TTN	2	179634874	ENST0000058904 2.1:c.8554A>T	p.Met2852Leu	Ekzon36	HET	Yanlış anlamlı	0.3100/T	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	11
RBM20	10	112581650	ENST0000036951 9.3:c.3273A>T	p.Glu1091Asp	Ekzon11	HET	Yanlış anlamlı	0.1440/T	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	12
TTN	2	179422669	ENST0000058904 2.1:c.87412C>A	p.Pro29138Thr	Ekzon328	HET	Yanlış anlamlı	0.7240/D	rs72648227	0.002/0.0012	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. PP3	16
TTN	2	179517632	ENST0000058904 2.1:c.38902C>T	p.Pro12968Ser	Ekzon200	HET	Yanlış anlamlı	NA	rs192528655	0.002/0.0012	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	16
TTN	2	179429395	ENST0000058904 2.1:c.81464T>C	p.Ile27155Thr	Ekzon326	HET	Yanlış anlamlı	0.2770/T	rs397517720	0.000/0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	17
RBM20	10	112541394	ENST0000036951 9.3:c.1027C>T	p.His343Tyr	Ekzon2	HET	Yanlış anlamlı	0.1150/T	rs112226602	0.003/0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	17
RBM20	10	112541217	ENST0000036951 9.3:c.850G>A	p.Gly284Arg	Ekzon2	HET	Yanlış anlamlı	0.4360/D	rs201148126	0.000/0.0003	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	17
DSC2	18	28654750	ENST0000028090 4.6:c.1787C>T	p.Ala596Val	Ekzon12	HET	Yanlış anlamlı	0.4270/T	rs148185335	0.008/0.0012	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	17
DMD	X	31854852	ENST0000035703 3.4:c.7183G>A	p.Ala2395Thr	Ekzon49	Hemizot	Yanlış anlamlı	0.1510/T	rs72466590	0.000/0.0009	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	17
SCN5A	3	38639408	ENST0000041368 9.1:c.2074C>A	p.Gln692Lys	Ekzon14	HET	Yanlış anlamlı	0.5380/D	rs45553235	0.004/0.0003	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. PP3	18

Tablo 10: Saptanan klinik önemi bilinmeyen varyantların özellikleri (Devamı)

Gen	Kr. no	Pozisyon	HGVS İsimlendirmesi	Protein Düzeyindeki Değişim	Ekzon/ İntron	Zigosite	Değişim tipi	In Silico Tahmin Skoru (REVEL/ MetaLR) ^t	rs numarası	MAF (SEQ/popülasyon*)	Patojenik Sınıflandırma	Patojenite Kriterleri	Ol gu
DES	2	220283642	ENST0000037396 0.3:c.458A>G	p.Glu153Gly	Ekzon1	HET	Yanlış anlamlı	0.7070/D	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, PP2, PP3	18
MYPN	10	69926130	ENST0000035891 3.5:c.1680C>T	p.Pro560=	Ekzon10	HET	Sinonim	NA	rs566128597	0.001/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP7	18
FLNC	7	128497224	ENST0000032588 8.8:c.7614G>T	p.Leu2538Phe	Ekzon46	HET	Yanlış anlamlı	0.7500/D	rs180834558	0.000/0.0016	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, PP3, BP6	18
TTN	2	179604584	ENST0000058904 2.1:c.13376T>C	p.Ile4459Thr	Ekzon48	HET	Yanlış anlamlı	0.2400/T	rs763065439	0.001/ 0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP4	18
TTN	2	179544969	ENST0000058904. 1:c.33418+11delG	-	İntron139	HET	İntronik	NA	rs779637808	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2. BP7	19
TTN	2	179600475	ENST0000058904 2.1:c.14698G>A	p.Ala4900Thr	Ekzon50	HET	Yanlış anlamlı	NA	rs72648923	0.002/0.0034	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	19
JUP	17	39914675	ENST0000039393 1.3:c.1749C>T	p.L583=	Ekzon10	HET	Sinonim	NA	rs782751412	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2	19
TPMO	12	98921660	ENST0000026673 2.4:c.280-4A>T	-	İntron1	HET	Sinonim, "Splice region variant"	NA	-	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, BP7	19
SCN5A	3	38640450	ENST0000041368 9.1:c.1982G>A	p.Arg661Gln	Ekzon13	HET	Yanlış anlamlı	0.8450/D	rs969308588	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, PP2, PP3	13, 14
MYH6	14	23855274	ENST0000040509 3.3:c.5026G>A	p.Val1676Met	Ekzon34	HET	Yanlış anlamlı	0.5260/D	rs773755388	0.000/0.0000	Klinik önemi bilinmeyen	PM2, PP3	13
NEBL	10	21158728	ENST0000037712 2.4:c.523G>A	p.Ala175Thr	Ekzon6	HET	Yanlış anlamlı	0.1670/T	rs71541562	0.000/0.0002	Klinik önemi bilinmeyen	PM2,BP4	14
MYH7	14	23896772	ENST0000035534 9.3:c.1888+22C>T	-	İntron16	HET	İntronik	NA	rs201869659	0.000/0.0001	Klinik önemi bilinmeyen	PM2,BP7	13, 14

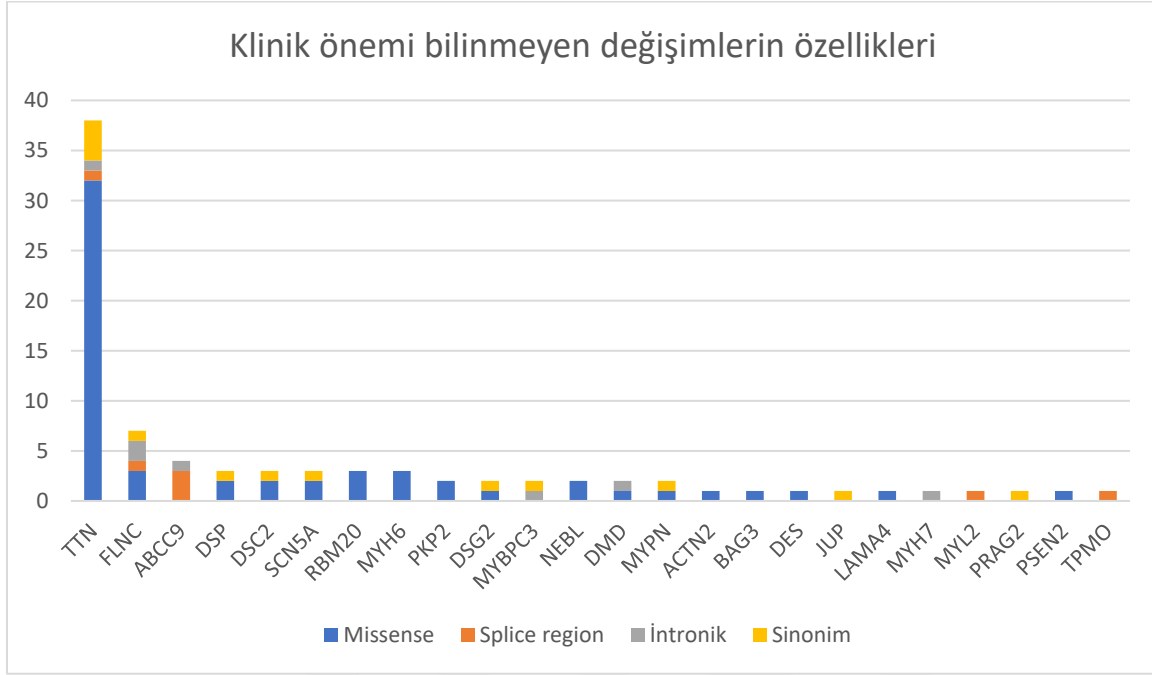
Tablo 10: Saptanan klinik önemi bilinmeyen varyantların özellikleri (Devamı)

^tKırılma bölgesi değişimlerinde mevcut ise ADA, RF ve MaxEntScan skorları verilmiştir.

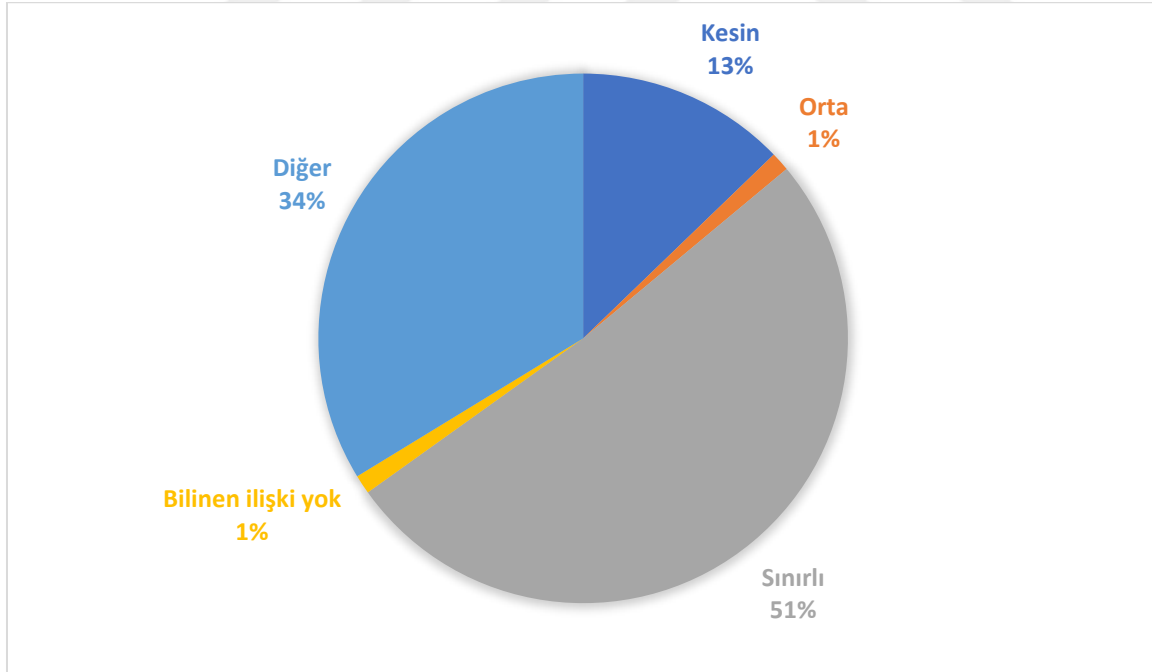
*MAF: GnomAD Exome(2.1.1), 1000 genome(phase3, v5), ESP6500(v2) ve ExAC(1.0) popülasyonlarından alınan maksimum allel frekansı değeridir.

HGVS: 'Human Genome Variation Society', N/A: 'not applicable', HET: Heterozigot, HEM: Hemizigot. & Patojenite değerlendirmesi ve kriterlerinde ACMG kılavuzu esas alınmıştır

A)



B)

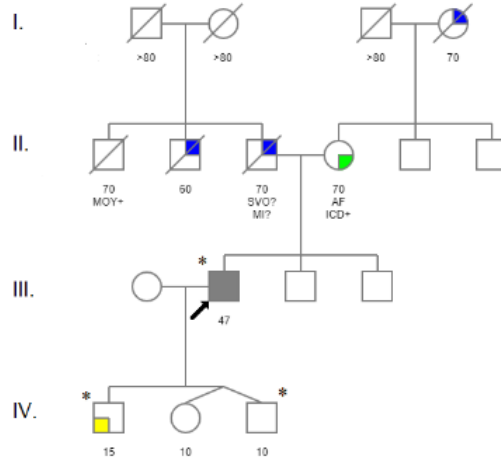


Şekil 6: A) Klinik önemi bilinmeyen varyantların saptandıkları gen ve değişim tipine göre dağılımları B) Çalışmamızda saptanan klinik önemi bilinmeyen değişimlerin ClinGen ARVC genleri yeniden değerlendirme çalışmasına* göre dağılımları¹⁹

*ClinGen genlerin uluslararası kanıta dayalı yeniden değerlendirme çalışmasına göre genler “definitive” (kesin), “moderate” (orta), “limited” (sınırlı) ve “no known relationship” (bilinen ilişki yok) şeklinde sınıflanmıştır.

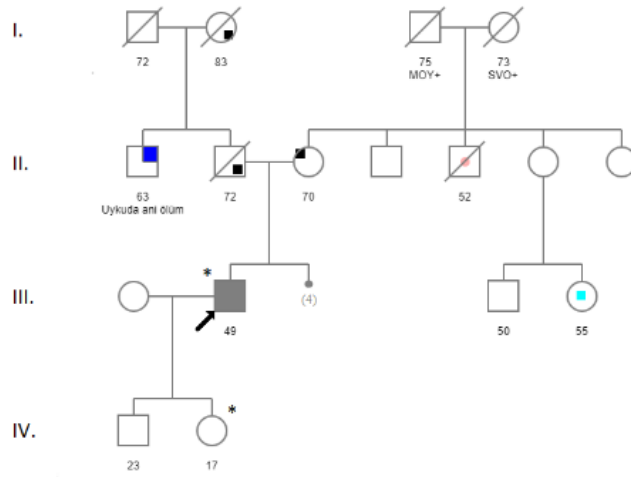
Ani ölüm
 Aritmi
 MRG'de yapısal anormali
 *c.939delC mutasyonu+

Olgu 2



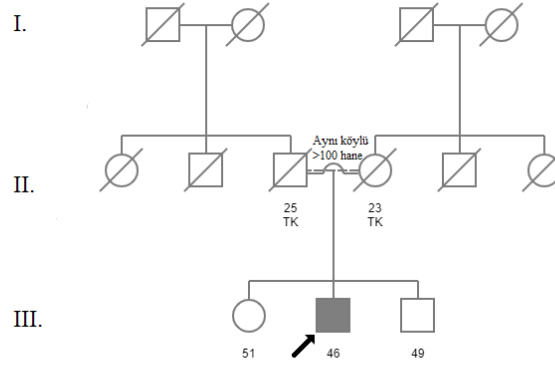
Ani ölüm
 Akciğer kanseri
 Hipertansiyon
 Demans
 *c.939delC mutasyonu+

Olgu 4

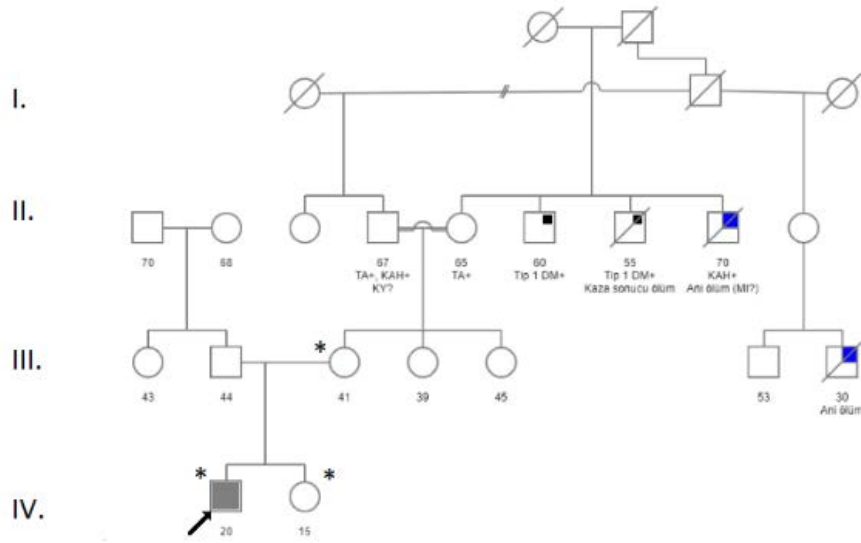


Şekil 7: Patojenik varyant saptanan olguların pedigrileri(Devamı)

Olgu 7



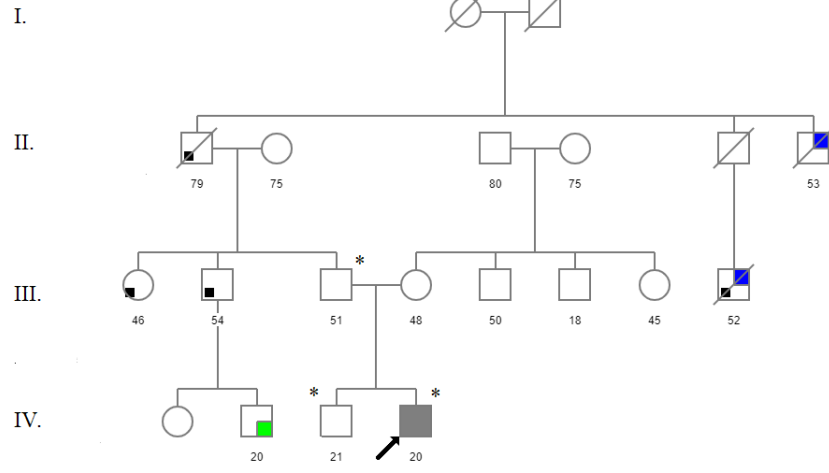
■ Anı ölüm ■ Tip 1 DM *c.939delC mutasyonu+ Olgu 15



Şekil 7: Patojenik varyant saptanan olguların pedigrileri(Devamı)

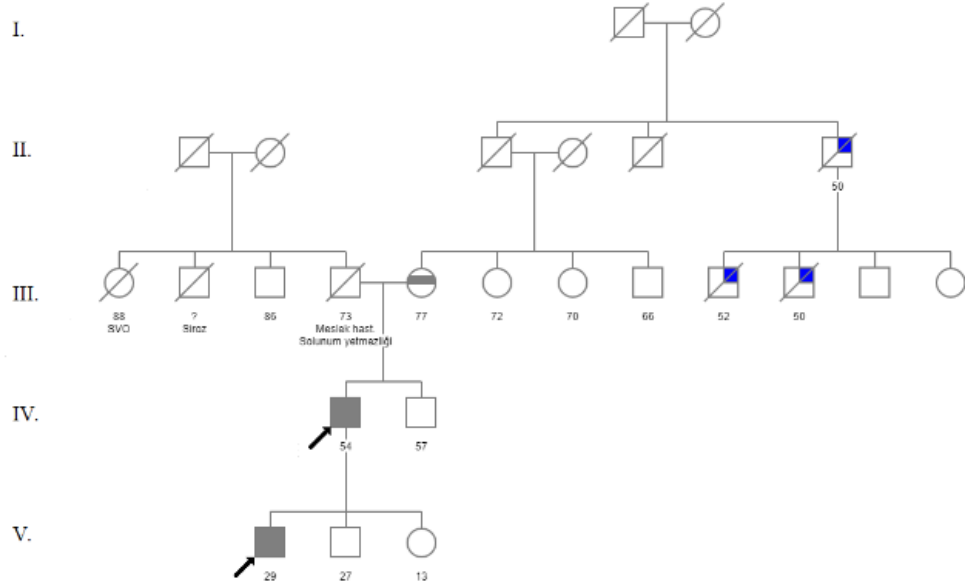
 Ani ölüm
  Aritmi
  KAH
 *c.148_151delACAG mutasyonu+

Olgu 10



 Ani ölüm
  Kardiyopatoloji?

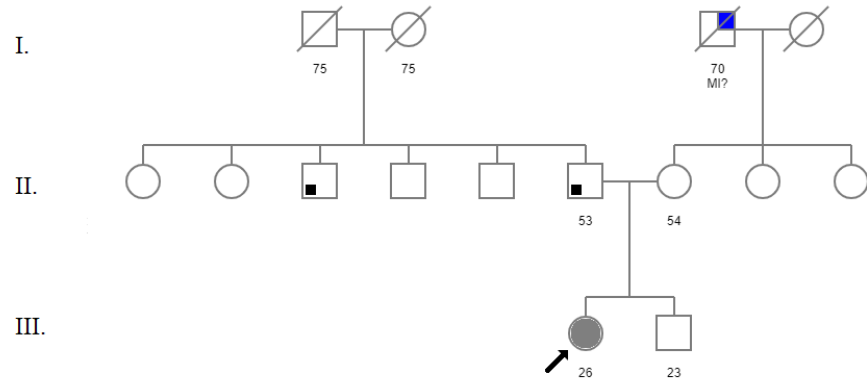
Olgu 13 ve 14



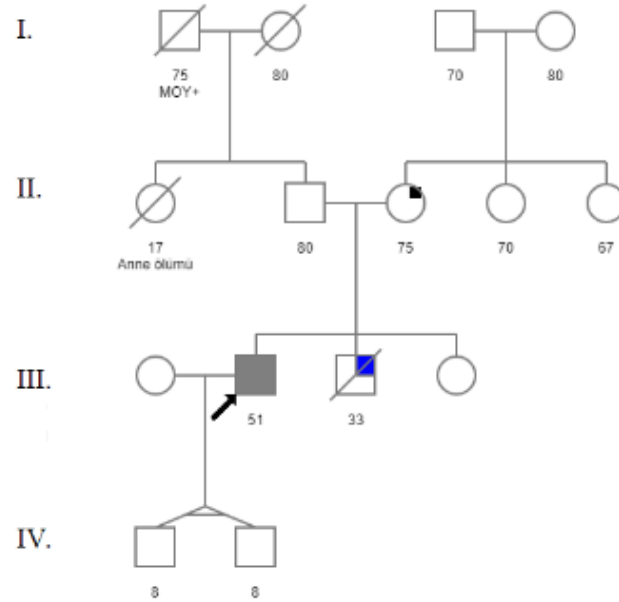
Şekil 7: Patojenik varyant saptanan olguların pedigrileri(Devamı)



Olgu 21



Olgu 22



Şekil 7: Patojenik varyant saptanan olguların pedigrileri(Devamı)

Aile taraması olgu no	İndeks Olgu Yakınlığı	Taranan mutasyon	Mutasyon saptandı(+)/ saptanmadı(-)	Klinik
2-1	Olgu 2 oğlu	<i>PKP2</i> geni c.939delC	+	Aseptomatik, MRG'de minör yapısal anomali
2-2	Olgu 2 kızı	<i>PKP2</i> geni c.939delC	-	Aseptomatik
2-3	Olgu 2 oğlu	<i>PKP2</i> geni c.939delC	+	Aseptomatik
4-1	Olgu 4 kızı	<i>PKP2</i> geni c.939delC	+	Aseptomatik
10-1	Olgu 10 babası	<i>PKP2</i> geni c.148_151delACAG	+	Aseptomatik*
10-2	Olgu 10 annesi	<i>PKP2</i> geni c.148_151delACAG	-	Aseptomatik*
10-3	Olgu 10 kardeşi	<i>PKP2</i> geni c.148_151delACAG	+	Aseptomatik*
15-1	Olgu 15 kardeşi	<i>PKP2</i> geni c.939delC	+	Aseptomatik
15-2	Olgu 15 annesi	<i>PKP2</i> geni c.939delC	+	Aseptomatik
15-3	Olgu 15 babası	<i>PKP2</i> geni c.939delC	-	Aseptomatik

Tablo 11: Olguların aile taraması hedefli mutasyon analiz sonuçları

*Olguların kardiyoloji muayenesi bulunmamaktadır.

5. TARTIŞMA

Aritmojenik sağ ventrikül kardiyomiyopatisi (ARVC), kalp yetmezliği ve ani kardiyak ölüme neden olabilen kalıtsal bir kardiyomiyopatidir. Klinik ve genetik heterojenite nedeniyle kardiyomiyopati olgularında tanı bazen zorlayıcı olabilmektedir. Genetik analizler sonucunda kliniği açıklayacak patojenik bir mutasyon tespiti, klinik bulguların daha iyi yorumlanması, tanının kesinleşmesi ve gereksiz tanısal testlerin azalması ile tıbbi pratiğe katkı sağlamaktadır.¹¹⁰⁴¹

ARVC tanısı, 2010 yılında güncellenen⁹ Çalışma Grubu Kriterleri [Task Force Criteria (TFC)] ile konulmaktadır. Bu güncelleme ile araştırılan olguda patojenik mutasyon saptanması majör kriterler arasına girmiştir.⁹

2019 yılında yayınlanan HRS uzlaşısı raporunda ARVC'den şüphelenilen olgulardan klinik değerlendirme ve aile öyküsü sorgulaması sonrasında, Çalışma Grubu Kriterleri'ne göre en az 1 majör veya 2 minör kriteri karşılayan tüm olgulara genetik test önerilmektedir.⁴¹ Genetik test ile ARVC olguları için etiyoloji aydınlatılması yanında, sınırda veya olası ARVC tanısı olan olgulara kesin ARVC tanısı konabilmektedir. Genetik tarama, saptanan patojenik sonuç ile aile taraması yapılmasına ve risk altındaki aile bireylerinin tespit edilebilmesine olanak sağlamakta ve preimplantasyon genetik tanıyı (PGD) mümkün kılmaktadır.¹¹⁰

ARVC genotip-fenotip çalışmaları, hastalık prognozu ile ilişkili farklılıklar bildirmektedir.^{53,109,111,192} Örneğin, birden fazla desmozomal gende mutasyon saptanması daha ciddi klinik ile ilişkilidir veya *DSP* ve *PLN* gen mutasyonlarında sol ventriküler etkilenme ve kalp yetmezliği beklenir. Böylece saptanan patojenik bir mutasyon klinik yönetime katkı sağlayabilir. Bunun yanında dilate kardiyomiyopati tanısı ile izlenen bir olguda desmozomal genlerde patojenik mutasyon saptanması, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonundan bağımsız aritmi yatkınlığı yaratabilir ve klinik takip buna göre planlanabilir.¹⁹³

Çalışmamızda Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik Polikliniğine ARVC ön tanısı ile yönlendirilen ve genetik etiyoloji araştırılması amacıyla moleküler tetkikleri değerlendirilen 24 hasta ve aile taraması amacıyla hedefli mutasyon analizleri yapılmış 12 aile üyesi dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan 24 olgunun 9'unda Kardiyomiyopati YND panel analizinde ARVC ile ilişkili genlerde patojenik veya muhtemel patojenik değişim saptanmıştır. MLPA analizi çalışılan 23 olguda delesyon veya duplikasyon saptanmamıştır.

Buna göre, 54 adet kardiyomiyopati ile ilişkili genden oluşan YND panelimizin ARVC hastalarında tanılabilir değeri %37,5 olarak saptanmıştır. ARVC olgularının %60'ında desmozomal genlerde patojenik mutasyon saptandığı bildirilmiştir¹⁰⁹; ancak literatürde desmozomal mutasyon saptanma oranını bizim çalışmamıza benzer şekilde %29 ile %52 arasında saptayan yayınlar da mevcuttur.^{170,194} Bu çalışmaların kısıtlılığı, düşük hasta sayısı, desmozomal genlerin tam olmayan analizi (hedef genlerin düşük kaplamı veya delesyon/duplikasyonların taranmaması gibi) veya desmozomal genlerde saptanan klinik önemi bilinmeyen değişimler olabilir.^{175,195} Bizim çalışmamızda da hasta sayısının azlığı ve desmozomal genlerde saptanan klinik önemi bilinmeyen değişimler tanı oranının düşük kalmasına neden olmuş olabilir.

V. Fressart ve ark.¹⁷⁵ erken yaşta (<35 yaş) semptom veren ARVC olgularında desmozomal genlerde patojenik varyant saptama oranını %68 olarak bildirilmiştir. Bu oran aynı çalışmada saptanan %46'lık, ya da literatürde bildirilen %60'luk tüm olgulardaki genetik tanı oranından fazladır. Desmozomal gen mutasyonu saptanan ARVC olgularının daha erken yaşta klinik verdiklerini ve ventriküler aritmilere yatkın olduklarını bildirilen başka yayınlar da mevcuttur.^{111,196} Çalışmamızda da olguların ilk semptom yaşı ortalama 33,27 iken, patojenik mutasyon saptanan grupta 26,75'dir. Bu iki grup arasında ilk şikayet yaşı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasa da güçlü etki büyüklüğü ($r:0,77$) görülmüştür. Güçlü etki büyüğünde anlamlı fark bulunmaması örneklem grubunun küçüklüğü ile açıklanabilir. Ancak erken yaşta ortaya çıkan klinik, altta yatan desmozomal gen mutasyonuna işaret ediyor gözükse de bu değerlendirmede "bias" olabilir çünkü genç yaşta tipik ve ilerlemiş hastalıkta ayırıcı tanı daha kolaydır. Ayrıca ileri yaşta olası ARVC nedeniyle araştırılan olgularda altta yatan genetik mekanizma farklı olabilir.

ARVC tanısı ile yönlendirilen olguların en sık ilk semptomu çarpıntıdır. Literatürde de çarpıntı şikayeti, %67 gibi yüksek bir oranda ARVC olguları arasında bildirilmiştir.¹⁹⁷ ARVC olgularında çarpıntı genellikle ventriküler aritmiler nedeniyledir. Olgularımızın %41,7'sinde ise devamlı VT veya kardiyak arrest öyküsü mevcuttur. Devamlı VT veya arrest öyküsü patojenik mutasyon saptanan ve saptanmayan grup arasında farklı değildir.

Olguların %70,8'inde ailede ani kardiyak ölüm veya ARVC öyküsü mevcuttur. Patojenik mutasyon saptanan ve saptanmayan olgular arasında aile öyküsü varlığı açısından anlamlı fark görülmemiştir. Literatürde de ailesel olgular ve sporadik olgular arasında desmozomal mutasyon saptama yönünden fark olmadığını bildiren yayınlar mevcuttur.¹⁷⁵ Bu durum sporadik olgularda "de novo" mutasyon veya asemptomatik mutasyon taşıyıcısı

ebeveynler ile açıklanabilir. ARVC’de “de novo” mutasyonlar^{198,199} bildirilse de oldukça nadir bulunmaktadır. Bu durumda ARVC’nin eksik penetransı düşünüldüğünde asemptomatik ebeveyn daha olasıdır. Öte yandan ailesel olgularda daha yüksek desmozomal gen mutasyonu saptanan olgu serileri de mevcuttur.^{109,119,130}

Genetik polikliniği başvurusu sırasında medikasyon yanında ICD tedavisi, tüm olgularda %57,2 iken, patojenik mutasyon saptanan olgularda %78 gibi yüksek bir oranda görülmüştür. Bu sonuç, literatürde desmozomal gen mutasyonu saptanan ARVC olgularında bildirilen yüksek ventriküler aritmi yatkınlığı ile ilişkili olabilir.¹⁹⁶ Literatürde ventriküler semptomlar yönünden mutasyonlu ve mutasyonsuz grup arasında fark bulmayan yayınlar da mevcuttur.¹⁰⁹ Ancak bu yayınlarda ventriküler semptomlar yönünden mutasyonlu grup daha erken bulgu vermiştir. Olgularımızda da patojenik mutasyon saptanan grup bu nedenlerle daha agresif tedaviye ihtiyaç duymuş olabilir.

Saptanan 6 patojenik veya muhtemel patojenik değişim, güdük protein oluşumuna veya “non sense mediated decay” (anlamsız aracılı yıkım) mekanizması ile proteinin hiç üretilmemesine neden olması beklenen yıkıcı değişimlerdir. Bu değişimlerin %50’si (3/6) daha önce literatürde bildirilmemiş varyantlardır. F. van Lint ve ark.²⁹’nın 322 ARVC’lik olgu serisinde saptadıkları patojenik değişimlerin %87,5’i kırılma bölgesi yada prematür dur kodonuna yol açan yıkıcı mutasyonlardır. Bu açıdan çalışmamız literatürle uyumludur.

Klinik önemi bilinmeyen 86 varyantın ise 57’si (%66,2) ClinGen ARVC ilişkili gen listesi içinde yer almaktadır ve 29’unun (%33,7) veri tabanlarında ARVC ile ilişkisi bilinmemektedir. ARVC olgularında bakılan gen sayısı artıkça saptanan klinik önemi bilinmeyen varyantların sayısı, ilişkili genlerde saptanan olası patojenik değişimlerden çok daha hızlı artmaktadır. 2020 yılındaki bir çalışmaya göre ARVC ilişkili genlerden oluşan bir tanı testinde patojenik veya olası patojenik değişim saptanma oranı %50 iken, bu oran, paneli kardiyomiyopatiler ve aritmileri kapsayacak şekilde genişlettiğimizde ancak %58’e çıkmaktadır. Tüm ekzom veya tüm genom çalışması ile tanı oranı %60’a ulaşmazken, klinik önemi bilinmeyen değişimlerin sayısı çok artmaktadır.¹¹⁰ Ayrıca panel testleri sonucu saptanan hastanın kliniği ile ilişkili olmayan gen değişimlerinin raporlanmasında dikkatli olunmalı ve klinik ile birlikte değerlendirilmelidir.

Klinik önemi bilinmeyen değişimler zaman içerisinde patojenik veya benign olarak yeniden sınıflanabilmektedir.²⁰⁰ Artan YND panel ve tüm ekzom analizleriyle değişimlerin yeniden analizi güncel bir konu haline gelmiştir ve 2019 yılında sınıflandırmaları değişen

varyantlar için hastalara ulaşmanın etik problemleri üzerine Avrupa İnsan Genetiği Topluluğu (ESHG) tarafından iki kılavuz yayınlanmıştır.^{201,202} Çalışmamıza dahil edilen olgularda saptanan klinik önemi bilinmeyen değişimler, ACMG kılavuzuna göre güncel literatür ve popülasyon veri tabanı frekans değerleri ışığında tekrar değerlendirilmiştir ve sınıflaması değişen varyant olmamıştır. Olgularda saptanan ARVC ile ilişkisi bilinen genlerdeki klinik önemi bilinmeyen varyantlar için takip oldukça önemlidir. Bu açıdan olgular düzenli poliklinik kontrolüne çağrılmalıdır.

Xu ve ark.¹¹⁹ birden fazla desmozomal gende mutasyon saptanan olguların ARVC serilerinde yaygın görüldüğünü ve bunların daha agresif bir kliniğe ve erken ilk semptom yaşına sahip olduklarını bildirmişlerdir. Serimizde birden fazla desmozomal gende patojenik varyant raporlanmamıştır. Ancak ARVC'nin bu özelliğinden dolayı patojenik varyant ile saptanan klinik önemi bilinmeyen varyantların patojenitesinin, diğer klinik önemi bilinmeyen değişimler gibi zaman içinde tekrar değerlendirilmesi önemlidir.

Çalışmamızda, ARVC MLPA analizi ile taranan desmozomal genlerde delesyon veya duplikasyon saptanmamıştır. Büyük delesyon ve duplikasyonlar ARVC olgularında daha önce bildirilmiştir.^{28,118} Ayrıca 2019 HRS raporunda, ARVC'de genetik analiz planlarken hedef genleri tamamen kapsamaya ve seçilen testin büyük delesyon ve duplikasyonları içermesine dikkat edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Ülkemizde ARVC hastalarında desmozomal büyük delesyon ve duplikasyonların dağılımını ortaya çıkarmak için daha büyük hasta serilerine ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda *PKP2* geni c.939delC, c.1034+1G>T, c.148_151delACAG ve c.713del değişimleri ACMG'ye göre patojenik veya olası patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Bu değişimler toplam 5 olguda bulunmuştur ve olgularda en fazla patojenik mutasyon saptanan gen *PKP2* genidir. Literatürde de ARVC serilerinde en sık mutasyon saptanan *PKP2* geninin desmozom formasyonu ve fonksiyonundaki önemi iyi bilinmektedir.²⁰³

Saptanan *PKP2* geni patojenik değişimlerinin üçü çerçeve dışı delesyon ve biri kırılma bölgesi mutasyonudur. Hepsi yıkıcı ("null") değişimlerdir. Literatürde kalp kası biyopsilerinde, plakofilin proteininin C terminalini etkileyen yıkıcı değişimler sonucu ekspresyonda %50 düşüş görülmüştür ve bu bulgu, *PKP2* geni yıkıcı varyantlarının anlamsız aracılı yıkım ("non sense mediated decay") mekanizması ile genin haploetersizliğine neden olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Yine bu çalışmada keratinositlerin tüm kardiyak plakofilin izoformlarını

eksprese ettiği ve bu nedenle protein çalışmasında eldesi zor olan kalp kası biyopsisi yerine kullanılabileceğini bildirmişlerdir.²⁰⁴

Çalışmamızda en sık patojenik veya olası patojenik mutasyon *PKP2* geni yıkıcı (“null”) değişimleridir ve literatür ile uyumludur. ARVC olgularında saptanabilecek klinik önemi bilinmeyen nadir yanlış anlamlı mutasyonların veya +2/-2 dışında kalan kırpılma bölgesi değişimlerinin patojenitesinin araştırılmasında cilt biyopsisinden, protein ekspresyon veya cDNA çalışması planlanabileceği düşünölmüşür.

Saptanan *PKP2* geni patojenik ve olası patojenik değişimler ve olguların fenotip özellikleri aşağıda tartışılmıştır.

***PKP2* geni c.939delC değişimi:**

PKP2 geni 3. ekzonunda heterozigot, “novel” c.939delC (p.Ser313ArgfsTer7) değişimi olgu 2, 4 ve 15’de saptanmıştır (Tablo 9). Olgu 2 İzmir Kınık, olgu 4 İzmir Bergama ve olgu 15 Kütahya Simav doğumludur ve bilinen akrabalıkları yoktur.

Bu değişim tek nükleotid delesyonu nedeniyle çerçeve kayması ve prematür dur kodonuna (p.Ser313ArgfsTer7) yol açmaktadır. Fonksiyon kaybettiren mutasyonlar *PKP2* geni için iyi bilenen patojenik mekanizmadır.^{108,205} Bu değişim merkezimiz dışında Genomize SEQ platformunda analiz edilmiş 6389 hastadan bizim olgularımız dışındaki 2 hastada daha saptanmıştır ve SEQ platformunda minör allel frekansı <0.001 iken gnomAD ve ExAC gibi popölasyon veri tabanlarında mevcut değildir. Literatürde daha önce bildirilmemiş yeni bir değişimdir. Ancak olgularımızda saptanan varyant ile aynı kodonda dur değişimine yol açmakta olan c.951del (p.His318Thrfs*2) değişimi ClinVar veri tabanında patojenik olarak bildirilmiştir.

Bu nedenlerle, bulunan değişim ACMG’ye göre olası patojenik (PVS1, PM2)¹³⁴ olarak raporlanmıştır ve olgulara aile taraması önerilmiştir.

Literatürde *PKP2* geni p.Arg79X değişimi Hollanda toplumu için ve *PKP2* Q59L değişimi Finlandiya için kurucu mutasyonlar olarak bildirilmiştir.^{25,206} ARVC olgularında mutasyonların genellikle toplumlar içinde tekrarladığı, “de novo” olmadığı ve atasal bir kurucu etkiye dayandığı bilinmektedir.¹¹⁸ Bu alışmada ARVC hasta serimizde saptanan *PKP2* geni p.Ser313ArgfsTer7 değişiminin benzer şekilde Ege bölgesi için bir kurucu etkili mutasyon olabileceği düşünölmüşür. Elbette bu durumdan ekzon 3’ün “hotspot” (sıcak nokta) olması da sorumlu olabilir. Her ne kadar yıkıcı (“null”) değişimler için genin C terminali “hotspot” (sıcak

nokta) olarak bildirilse de ekzon 3'e de yıkıcı ("null") varyantlar açısından dikkat edilmelidir.²⁰³ Kurucu etkisi araştırılması için olguların aile taramaları bittikten sonra mutasyonu taşıyan bireylerin aynı haplotipi paylaşıp paylaşmadıkları araştırılabilir. Ayrıca farklı merkezlerin verileri birleştirilerek ülke genelini yansıtan daha büyük bir olgu serisi ile *PKP2* geni mutasyon dağılımı ülkemiz için araştırılmalıdır.

PKP2 geni c.939delC değişimi saptanan olgu 2, olgu 4 ve olgu 15'in klinik özellikleri sonuçlar bölümü içinde ve tablo 7 ve 8'de verilmiştir. Aile ağaçları Şekil 7'de paylaşılmıştır.

Olgu 2'de ayrıca *FLNC* geni c.2689G>A, *TTN* geni c.266C>G, c.35345A>T, c.71603G>A değişimleri saptanmıştır (Tablo 10). Saptanan *TTN* geni yanlış anlamalı ("missense") değişimleri sağlıklı popülasyonda nadir olarak bildirilmiştir ancak literatürde değişimler hakkında bilgi yoktur. Olgumuzda saptanan *TTN* değişimleri olgunun kliniği ile ilişkili düşünülmemiştir ve klinik önemi bilinmeyen değişimler olarak raporlanmıştır.

TTN geni yanlış anlamalı mutasyonları, çalışmamızda saptanan klinik önemi bilinmeyen değişimlerin %41,8'i ile en büyük kesimini oluşturmaktadır (Şekil 6). Bunlar popülasyonda yaygın olarak gözükmemektedir ve literatürde bildirilmiş bilgi verici aileler olmadığında patojenite sınıflaması zor olmaktadır. Begay ve ark.²⁰⁷ dilate kardiyomiyopati olgularında tahmin araçları ile hastalık yapıcı olarak düşünülen *TTN* yanlış anlamalı değişimlerinin bir kısmının segregasyon sonrası olası benign olarak sınıflandığını bildirmişler ve bu değişimler için fonksiyonel çalışma önermişlerdir. Kardiyomiyopati olgularında saptanan *TTN* patojenik mutasyonlarının çoğunluğunun yıkıcı ("null") değişimler olduğu bilinmektedir.²⁰⁸

FLNC geni c.2689G>A heterozigot değişimi daha önce bildirilmemiştir. Revel skoru 0.7350 ile yüksektir ve MetaLR tarafından yıkıcı olarak tahmin edilmiştir. Popülasyonda görülme sıklığı az olan değişim ile ilgili fonksiyonel veri bulunmamaktadır. *FLNC* gen mutasyonları, ARVC olgularında daha önce sol ventrikül ağırlıklı tutulum ve yüksek aritmi yatkınlığı ile ilişkilendirilmiştir.²⁰⁹ Olgumuzda sol yapılar etkilenmemiştir ve devamlı olmayan VT tanısı mevcuttur. Olgu 2'de bu varyant, klinik önemi bilinmeyen değişim olarak raporlanmıştır ve literatür takibi için poliklinik kontrolü önerilmiştir.

Olgu 4'de ayrıca *DSG2* geninin 3. ekzonunda heterozigot c.166G>A değişimi saptanmıştır (Tablo 10). Bu değişim yayınlanmış ARVC serilerinde hastalık yapıcı olarak bildirilmiştir.²¹⁰ Ancak değişimin gnomAD ekzomlarında 249490 kontrol kromozomda allel frekanslarının 0.0019 olarak saptanması ve sağlıklı örneklerde homozigot bildirimlerinin olması nedeniyle sonraki bildirimlerde tek başına patojenik olmayacağı yorumu yapılmıştır.

Güncel olarak ClinVar veri tabanında, 5 klinik önemi bilinmeyen ve 11 muhtemel benign bildirim ile varyantla ilgili çelişkili bildirimler mevcuttur. Posch 2008 ve ark.²¹¹ ise bu değişimi dilate kardiyomiyopati olgularında sağlıklı popülasyona göre daha sık bildirmişlerdir. Ancak literatürde varyant ile ilgili bildirimler sınırlıdır ve fonksiyonel çalışması bulunmamaktadır. Bu nedenlerle, değişimin tek başına patojenik olamayacağı ancak düzenleyici bir etkisinin olduğu ve kardiyomiyopatilere yatkınlık oluşturabileceği şeklinde yorumlanmıştır ve klinik önemi bilinmeyen değişim olarak raporlanmıştır. Olgu 4’de ayrıca *TTN* geninde 91. ekzonda heterozigot c.26410G>C değişimi saptanmıştır. Nadir yanlış anlamlı bir varyanttır ve literatürde hakkında bilgi yoktur. Bu nedenlerle, klinik önemi bilinmeyen olarak raporlanmıştır.

ARVC olgularında desmozomal genlerde bileşik heterozigot veya digenik kalıtımın daha ciddi klinik ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.^{36,114,212} Olgumuz aynı mutasyonu taşıyan ancak ikinci bir desmozomal gende mutasyon saptanmayan olgu 2 ve 15’e göre klinik başlangıç yaşı veya tedavi gerekliliğinde ciddi bir kliniğe sahip değildir ancak daha sık egzersiz ilişkili sık senkop öyküleri mevcuttur.

Olgu 15’de ayrıca *ABCC9* geninde heterozigot c.817-3C>A değişimi ile heterozigot c.817-6C>A değişimleri saptanmıştır (Tablo 10). Ancak IGV kontrolünde değişimin sadece tek yönlü okumalarda tespit edildiği ve bölgenin guanin ile sitozin nükleotidlerinden zengin olduğu görülmüştür. Bu nedenle değişim için Sanger doğrulama ve klinik ile değerlendirme önerilmiştir.

PKP2 geni c.939delC değişimi saptanan üç olgumuzun ilk semptom yaşları sırasıyla 45, 22 ve 20’dir. Olgu 2’de presenkop ve olgu 4 ve 15’de senkop geçmişi varken her üç olguda da VT öyküsü mevcuttur. Görüntüleme sonuçlarında hepsinde de trabekülasyon artışı, düzensizlik veya anevrizma gibi yapısal anormallikler not edilmiştir. Üç olgu da ICD ile takip edilmektedir. Olgu 15 dışında diğer olguların ailelerinde ani ölüm öyküsü mevcuttur. Olguların aile tarama sonuçları Tablo 11’de paylaşılmıştır. Mutasyonu taşıdığı saptanan aile üyeleri düzenli kardiyoloji kontrolüne alınmıştır.

***PKP2* geni c.1034+1G>T:**

Bir diğer *PKP2* gen varyantı ise **olgu 7’de** saptanan c.1034+1G>T değişimidir. Bu değişim 3. intronda donör kırılma bölgesinde bulunmaktadır. Kırılma bölgesi mutasyonları, matür mRNA’da komşu ekzonu tamamen silerek, intronun kırılmasını engelleyerek ya da ekzon veya intron içinde yeni kırılma bölgesi oluşturarak protein üretimini bozmaktadır.²¹³ Desmozomun yıkıcı (“null”) mutasyonları ARVC olgularında oldukça yaygındır.²⁰⁵

Bu değişim popölasyon veri tabanlarında sağlıklı bireylerde bildirilmemiştir. Literatür taramasında kalp yetmezliği ve transplant öyküsü olan biventriküler ARVC tanısı ile izlenen 16 yaşında erkek hastada bildirildiği görölmüştür.²¹⁴ Bu olgunun 52 yaşındaki babasında ise mutasyonu taşımasına rağmen semptom bildirilmemiştir. Yazarlar, değişimin olgudaki kliniği açıkladığını düşünse de neden aynı mutasyonu taşıyan ebeveyninin semptom vermediğinin açıklanamadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda da saptanan mutasyon pozitif aile bireyleri asemptomatiktir. Egzersizin ARVC'nin yaşı bağlı penetransını artırdığı ve başka çevresel faktörlerin de kliniği etkileyebileceği bilinmektedir.^{80,124} Bir çalışmada asemptomatik mutasyon taşıyıcısı ebeveynleri bulunan olgular sorgulandığında bir kısmının dayanıklılık atletizmiyle uğraştıkları öğrenilmiştir.¹²³ Ailelerde egzersiz bu açıdan sorgulanabilir.

Literatürde c.1034+1G>T değişimini taşıdığı bildirilen olgu yapısal özellikler ve depolarizasyon anomalileri açısından majör kriterleri karşılar, repolarizasyon anomalileri ve aritmi öyküsü yönünden minör kriterleri karşılayarak kesin ARVC tanısı almıştır.²¹⁴ Bizim olgumuza (Olgu 7) da repolarizasyon anomalisi (T negatifliği), aritmi öyküsü (devamlı VT öyküsü) ve yapısal anomali (EKO'da RVOT 52 mm ve dilate sol yapılar) ile kesin ARVC tanısı konmuştur. İlk tanı semptom yaşı 44'dür. Olgumuzun spor geçmişı bilinmemektedir.

Ayrıca sözü edilen değişim dilate kardiyomiyopati olgu serilerinde de saptanmış ve ClinVar veri tabanında olası patojenik olarak bildirilmiştir.²¹⁵ ADA skoru 1 ve RF skoru 0.9340 ile patojenik lehinedir. MaxEntScan farkı ise yüksek entropi değişimini göstermektedir. Bu nedenlerle değişim, ACMG'ye göre patojenik (PVS1, PM2, PP5, PP3) olarak raporlanmıştır.

PKP2 c.148_151delACAG değişimi:

Olgu 10'da saptanan PKP2 geni c.148_151delACAG değişimi kodon 50'den itibaren çerçeve kaymasına yol açarak prematür dur kodonuna (p.Thr50Serfs*61) neden olmaktadır. Bu durumun güdük protein veya protein üretilmemesi ile sonuçlanması beklenmektedir.²¹³ Caspi ve ark.²¹⁶ bu varyantı taşıyan insan indüklenmiş pluripotent kök hücrelerinde (hiPSC), PKP2 mRNA düzeyinin azaldığını göstermişlerdir ve bu durumu anlamsız aracılı yıkım ("non sense mediated decay") mekanizması ile açıklamışlardır. Ayrıca bazı hücrelerde desmozomal bozulma ve lipid damlacıklarının birikimi gözlemlenmiştir. Çerçeve kayması mutasyonlarının PKP2 geninin bozulma mekanizmalarından olduğu bilinmektedir.²⁰⁵

PKP2 c.148_151delACAG değişimi sağlıklı popölasyon veri tabanlarında saptanmamış ve patojenik lehine yorumlanmıştır. Değişim literatürde bildirilmiş ve S50fsX110, T50fsX60 ve 145_148delCAGA gibi farklı isimlendirmeler kullanılmıştır.

Bu değişimin saptandığı bir ailede indeks olgu çarpıntı ve devamlı olmayan VT ile tanı alan 22 yaşında bir olgudur. Ailede 21 ve 26 yaşında egzersiz sırasında ani ölüm öyküsü mevcuttur.³⁶ Ayrıca literatürde aile öyküsü olan sağ ve sol ventriküler tutulum ile giden bir erkek olgu¹⁰⁸ ile yapısal anomali açısından majör, depolarizasyon anomalisi ve aritmi öyküsü açısından 2 minör kriterle 19 yaşında ARVC tanısı alan bir olguda da bildirilmiştir.¹³⁰

Bunun yanında sözü edilen değişim sağ ventrikül orijinli VT öyküsü, prekordiyal T negatifliği ve holter EKG’de 1000’den fazla VEV/gün saptanan ve kardiyak MRG’da sağ ventrikül duvarı hareket kusuru izlenen 28 yaşında erkek olguda da saptanmıştır. Olgunun mutasyonu babasından aldığı ve babasının alışma Grubu Kriterleri’ni karşılamadığı bildirilmiştir.¹³² Yine literatürde 14 ve 17 yaşlarında asemptomatik erkek olgularda da bildirilmiştir.²¹⁷ Bu durum ARVC’nin yaşa bağlı eksik penetransı ile açıklanabilir.

Ailede genç ölüm öyküsü olan asemptomatik olgu serisinde, 17 yaşında bir kadında saptanmıştır ve yapılan tetkiklerinde asemptomatik olgunun EKG’sinde uzamış terminal aktivasyon süresi (TAD) gösterilmiştir.¹⁸²

Olgumuz (olgu 10), şikayet başlangıç yaşı, yapısal anomaliler ve aritmi öyküsü açısından literatür ile benzerdir.

Söz konusu değişim yukarıda da değinildiği gibi birçok ARVC serisinde saptanmış ve ClinVar veri tabanında patojenik olarak bildirilmiş bir değişimdir.^{114,154,175,218,219} Bu nedenlerle ACMG’ye göre patojenik (PVS1, PM2, PP5) olarak raporlanmıştır.

***PKP2* geni c.713del değişimi:**

Olgu 22’de saptanan *PKP2* geni 3. ekzonundaki c.713del değişimi, tek nükleotid delesyonu nedeniyle ereve kayması ve prematür dur kodonuna (p.Pro238ArgfsTer25) yol açmaktadır. şimdiye kadar literatürde *PKP2* geninde birçok yıkıcı (“null”) mutasyon patojenik olarak bildirilmiştir ancak bu değişim daha önce bildirilmemiştir ve yenidir. Popölasyon veri tabanlarında da mevcut değildir. Bu nedenlerle, ACMG’ye göre olası patojenik (PVS1, PM2) olarak raporlanmıştır.

Ayrıca alışmamızda *DSP* geninde c.5269C>T ve c.803del değişimleri ACMG’ye göre patojenik ve muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Bildirilen değişimler, prematür dur

kodonu oluşumuna neden olan yıkıcı (“null”) değişimlerdir. *DSP* geni literatürde ARVC ve dilate kardiyomiyopati fenotipleri ile güçlü kanıt düzeyinde ilişkilendirilmiştir¹⁸ ve bildirilen *DSP* mutasyonlarının yaklaşık yarısı anlamsız veya çerçeve kaymasına neden olan yıkıcı (“null”) varyantlardır.¹³⁹

DSP geninde patojenik ve olası patojenik mutasyon saptanan olguların özellikleri aşağıda tartışılmıştır.

***DSP* c.803del değişimi:**

Olgu 13 ve olgu 14’de saptanan değişim, *DSP* geni ekzon 7’de tek nükleotid delesyonu nedeniyle çerçeve kayması ve prematür dur kodonuna (p.His268ProfsTer49) yol açmaktadır.

Bu değişim, gnomAD ve ExAC gibi popülasyon veri tabanlarında mevcut değildir ve literatürde daha önce bildirilmemiştir. Ancak olgularımızda saptanan varyant ile aynı kodonda dur değişimine yol açmakta olan *DSP* c.827_830del (p.Ile276ArgfsTer40) değişimi ClinVar veri tabanında patojenik olarak bildirilmiştir. Yine *DSP* c.832del (p.Ala278ProfsTer39) değişimi de aynı bölgede terminasyon kodonu oluşturmaktadır ve aritmojenik kardiyomiyopati olgusu ve aile üyelerinde saptanmıştır. Literatürde bildirilen bu olgu 56 yaşında kadın hastadır ve 10 yıldır tekrarlayan çarpıntı ve senkop öyküleri nedeniyle ICD ile takip edilmektedir. Varyantı taşıyan aile üyelerinde miyokardda incelme ve yağlı infiltrasyon yanında biventriküler geç gadolinyum kontrastlanması da bildirilmiştir. Aynı yazarlar bu mutant *DSP* proteinini eksprese eden HEK293T hücrelerinde nükleer kavşak plakoglobinin (JUP) düzensizliği ve β -katenin azalmasını göstermişlerdir.²²⁰

Wnt/ β -katenin sinyal yolu ARVC patogenezinde bilinen bir mekanizmadır.⁸⁶ Çalışmamızda iki olguda saptanan ve literatürde bildirilen değişimin neden olduğu 317. kodonun dur sinyaline dönüşmesi, oluşan güdük protein ve haplo yetersizlik sonucunda sol tutulum ve aritmilerin gözlemlendiği ARVC patogenezinin neden olmuş gibi gözükmemektedir.

Sözü edilen değişimi taşıyan iki olgunun (olgu13 ve 14) da ilk şikayetleri 2. dekatta başlayan çarpıntıdır. Olgu 13’de sol ventrikülde sınırda dilatasyon ve olgu 14’de sol ventrikülde global hipokinezi şeklinde etkilenme bildirilmiştir. Lin ve ark.²²⁰ ‘nın bildirdiği olgu ile olgularımızın klinik özellikler benzer olsa da başlangıç yaşları oldukça farklıdır. Bu durum ARVC’nin eksik penetransı ve egzersiz gibi çevresel etkiler nedeniyle açıklanabilir.¹¹⁰ Bunun yanında erkek hastaların kadınlara göre ventriküler aritmi açısından daha yüksek riske sahip oldukları bilinmektedir.²²¹ Belki de bu nedenle bizim olgularımız daha erken tanı alabilmiştir.

Beraberinde, olgu 13 ve olgu 14, *SCN5A* geni c.1982G>A değişimini de taşıtmaktadırlar (Tablo 10). *SCN5A* geni ARVC serilerinde bildirilmiştir.¹⁸ Ancak ClinGen genlerin kanıta dayalı yeniden değerlendirilmesi, çalışmasında literatür kanıtı sınırlı olarak bildirilmiştir.¹⁹ *SCN5A* hastalık mekanizması Brugada sendromunda bilinmektedir.¹⁶¹ Bu değişim düzenleyici bir etki ile olgularımızın fenotipine katkı sağlamış olabilir. Bunun araştırılması amacıyla aile üyeleri arasında *DSP* ve *SCN5A* gen değişimlerine yönelik segregasyon analizi planlanmıştır.

Olgu 13’ün özgeçmişinde kronik egzama ve kirpik dibi iltihabı gibi tekrarlayan dermatolojik yakınmalar dikkat çekmektedir. *DSP* geni desmoplakin proteinini (DP) kodlar. Alternatif kırılma ile DP-1 ve DP-2 olmak üzere iki izoformu olan bu desmozom proteini, kalp kası yanında epiderminin de önemli bir parçasıdır. Literatürde heterozigot *DSP* mutasyonları “keratosis palmoplantaris striata II” (OMIM 612908) fenotipi ile ilişkilendirilmiştir. Özellikle bası veya strese maruz kalan ciltte kalınlaşma ve hiperkeratoz ile karakterizedir. Olgumuz cilt tutulumları açısından değerlendirilmek üzere dermatoloji kliniğine yönlendirilmiştir.

***DSP* c.5269C>T değişimi:**

Saptanan diğer *DSP* varyantı ise **olgu 21**’de bulunan c.5269C>T değişimidir. Bu değişim 1757. pozisyonadaki glisin kodonunu dur kodonuna dönüştüren anlamsız (“nonsense”) bir mutasyondur. *DSP* geni için fonksiyon kaybettiren (LOF) mutasyonlar bilinen bir bozulma mekanizmasıdır.^{140,222} Popölasyon veri tabanlarında sağlıklı bireylerde bildirilmemiştir. Değişim hakkında ClinVar veri tabanında 1 patojenik ve 1 olası patojenik bildirim yapılmıştır. Ayrıca MutationTaster değişimi hastalık yapıcı olarak değerlendirmiştir (Tablo 9). Bu nedenlerle ACMG’ye göre patojenik (PVS1, PM2, PP5) olarak raporlanmıştır.

DSP gen mutasyonlarının sol ventriküler fibrozis ve sistolik disfonksiyonun sık gözüktüğü ARVC fenotipi ile ortaya çıktığı bilinmektedir.⁷¹ Olgu 13 ve olgu 14 literatürle bu açıdan uyumludur, olgu 21’in ise sol ventrikül fonksiyonları yönünden izlenmesi önemlidir. Ayrıca literatürde *DSP* mutasyonlarının neden olduğı kardiyomiyopatinin, miyokardit veya sarkoidoz ayırıcı tanısında düşünölmesi gerektiğı vurgulanmıştır.²²³ Olgu 21, miyokardit nedeniyle takip edilirken ARVC tanısı almıştır.

Çalışmamızda ayrıca Olgu 3’de *PKP2* geninde c.1114G>C değişimi saptanmıştır (Tablo 10). Nadir yanlış anlamlı varyanttır. Konservatif olmayan bir aminoasit değişimidir ve REVEL skoru düşüktür. Bu değişim literatürde ARVC serilerinde bildirilmiştir ancak bu yayınların bir kısmında olgularda kliniğı açıklayacak farklı desmozomal gen mutasyonları da

saptanmıştır.^{112,114,224} Bu nedenlerle, ACMG'ye göre klinik önemi bilinmeyen değişim olarak raporlanmıştır.

Desmozomal genlerde toplam 6 tane nadir yanlış anlamlı varyant, klinik önemi bilinmeyen değişim olarak değerlendirilmiştir (Tablo 10). Literatürde farklı etnik gruplardan 93 ARVC olgusu ve 427 sağlıklı insanın değerlendirildiği bir çalışmada, sağlıklı grupta desmozomal gen mutasyonu oranı ("background genetic noise") %16 bulunmuştur. Bu oran daha önce uzun QT sendromu ilişkili genlerde bulunan %5 oranının çok üstündedir ve 6 sağlıklı insanın 1'inin desmozomal gen mutasyonları açısından pozitif ARVC genetik sonucu alabileceğine işaret eder. Bu çalışmada ayrıca yıkıcı ("null") değişimlerin ARVC ile güçlü ilişkisi gösterilmiştir. Ancak desmozomal genlerde saptanan nadir yanlış anlamlı değişimlerin hastalık ile ilişkisini değerlendirirken; etnik köken, değişimin, genin "hotspot" (sıcak nokta) bölgelerinde yer alması veya türler arasında korunmuş bir aminoasit değişimi olması gibi özelliklerinin dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir.

Olgu 24'de ise *PSEN2* geninde c.184C>T değişimi saptanmıştır (Tablo 10). *PSEN2* geni, dilate kardiyomiyopati fenotipi ile sınırlı kanıt düzeyinde ilişkilendirilmiştir.¹⁸ Ayrıca mutasyonlarının erken başlangıçlı demansa neden olduğu bilinmektedir.²²⁵ Literatürde ARVC ile ilişkisi gösterilmemiştir. Olgu 24'ün kardiyak görüntülemeleri ARVC uyumludur ve dilatasyon gözlenmemiştir. Sözü edilen değişim literatürde demans olgusunda bildirilmiştir.²²⁶ Ayrıca protein modelleme çalışmasında *PSEN2* proteini disfonksiyonuna neden olabileceği tahmin edilmiştir.²²⁷ Popülasyon veri tabanlarındaki frekansı düşük olsa da alt popülasyon frekans değerleri gen için patojenik bir değişimde beklenen değerlerin üstündedir. Bu nedenlerle klinik önemi bilinmeyen değişim olarak raporlanmıştır. Sonuç danışmasında aile öyküsünün erken demans açısından sorgulanması planlanmıştır. Değişim için aile taraması planlanmamıştır, saptanan diğer klinik önemi bilinmeyen varyantlar ile takibi önerilmiştir.

Literatürde ARVC tanısı ile izlenen olguların tüm ekzom analizlerinde dilate kardiyomiyopati genlerinde varyantlar görülmüştür. Ancak bu değişimlerin ARVC ile ilişkisinin gösterilmesi için daha büyük hasta serilerine ve fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.²⁸ ARVC ile dilate kardiyomiyopati örtüşen kliniklerdir. Bu nedenle ARVC olgularında kardiyomiyopati ve aritmi genlerini içeren geniş panel analizi tanı oranını arttırmaktadır.¹¹⁰ Ancak geniş panelin olumsuzluklarından birisi de klinik önemi bilinmeyen varyantların çoğalması ve hastanın kliniği ile ilgili olmayan genlerde rastlantısal olarak saptanan varyantların yorumlanmasıdır.

ARVC tanısı konulan her hastanın birinci derece akrabalarına EKG, Holter EKG ve kardiyak görüntülemeyi içeren kardiyoloji muayenesi önerilmektedir.⁴¹ Olguda patojenik bir mutasyon saptanması durumunda ise risk altındaki tüm aile bireylerine genetik danışma sonrasında ilgili mutasyon için tarama önerilmelidir. Mutasyon saptanan aile üyeleri kardiyoloji takibine alınmaktadır.^{173,228}

Olgularımız arasında aile taramasında mutasyon saptama oranı %70'dir. Kardiyolojik muayenesi bulunan 5 aile üyesinden sadece birinde sağ ventrikülde minör yapısal anomali bildirilmiştir. Hiçbiri, Çalışma Grubu Kriterleri'ni karşılamamaktadır. Patojenik mutasyon taşıyıcısı asemptomatik aile üyeleri azalmış penetrans ile açıklanabilir. Son yıllarda ARVC'de bildirilen %50'nin altında penetrans, hastalığın ortaya çıkmasında birçok etkenin belli bir eşik değerin üstüne çıkacak şekilde bir araya geldiği hipotezi ile açıklanmaktadır. Literatürde de aile taraması sonrası mutasyon saptanan aile üyelerinde probandlara göre klinik daha hafif bildirilmiştir. Bu durum ARVC patogenezi ile ilgili son ortak yol hipotezini, çevresel ve diğer genetik düzenleyici mekanizmalar düşüncesini desteklemektedir. Belki de ailede ilk tanı alan indeks olgu diğer genetik faktörler veya çevresel etkiler ile ARVC kliniğini daha erken yaşta ve belirgin ortaya çıkarmaktadır. Bu düzenleyici mekanizmalar ARVC'nin tam olmayan ve yaşa bağlı penetransına neden olmaktadır.^{118,123} Asemptomatik aile üyelerinin sonuç danışmasında kardiyoloji takibinin önemi vurgulanmalı; ancak düşük penetrans da akılda bulundurulmalıdır.

ACMG'e göre varyant sınıflamasında değişimin "de novo" olması (PM4) patojenik bir kriterdir ancak ARVC olgularında saptanan değişimlerin nadiren "de novo" olduğu ve genellikle aileden kalıtıldığı bilinmektedir. Bu nedenle ARVC ile ilişkili varyantlar sınıflanırken bu kriter nadiren kullanılabilir. Bunun yanında ARVC penetransı %40 ile 50 arasında bildirilmiştir ve genç yaşlarda çok daha düşüktür. Klinik önemi bilinmeyen nadir varyantların değerlendirilmesinde segregasyon analizi özellikle küçük ailelerde yeterli kanıt sağlamamaktadır. Bunlar yerine saptanan değişimin birbiri ile ilişkisiz ARVC olgularında saptanması patojenik yönde güçlü bir kanıt sunmaktadır.¹¹⁸ Ülkemizde de ARVC hastalarındaki genetik spektrumu açığa çıkarmak ve varsa kurucu etki mutasyonlarını saptamak için büyük hasta serilerine ihtiyaç vardır.

ARVC'de egzersiz, penetransı arttıran ve aritmileri tetiklediği bilinen çevresel bir etkidir. Benzer faktörler ve düzenleyici genetik mekanizmaların ortaya çıkarılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Böylece olguların aritmojenik olaylar açısından risk sınıflamasında ve klinik takibinde genotip daha etkin kullanılabilir. Elimizdeki veriler

arttıkça ARVC'nin moleküler temeli daha iyi anlaşılabilecek ve belki de hedefe yönelik tedaviler geliştirilebilecektir.

Çalışmamızın en önemli sınırlılığı örneklem grubunun küçük olması ve kontrol grubunun olmamasıdır. Hastalığın nadir olarak görülmesi, pandemi nedeniyle olguların genetik poliklinik başvurularının azalması ve çalışmanın tek merkezli olarak yapılmış olması hasta sayısının az olmasına neden olmuştur. Retrospektif olarak yapılmış, gözlemsel nitelikte olması da çalışmanın diğer bir sınırlılığıdır. Ayrıca ailede ani ölüm veya benzer hastalık bilgisi hasta beyanına dayanmaktadır, bahsedilen aile üyelerinin tıbbi kayıtlarına ulaşamamıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

ARVC sık ventriküler aritmiler, sağ ventriküler disfonksiyon ve ani ölüm riski ile karakterize kalıtsal bir kardiyomiyopatidir. Çalışma Grubu Kriterleri'ne göre 1 majör veya 2 minör bulgusu olan tüm olgulara genetik tetkik planlanmalıdır.

Sağlıklı popülasyonda da desmozomal gen varyantları sık gözlenmektedir bu nedenle varyant değerlendirilmeleri dikkatli yapılmalı ve hastanın kliniği göz önüne alınmalıdır.

ARVC olgularında genetik testler ile saptanan patojenik sonuç, aile taraması yapılmasına ve ölümcül aritmiler yönünden risk altındaki aile bireylerinin bulunmasına olanak sağlamaktadır.

Çalışmamızda en sık *PKP2* geni, sonrasında *DSP* geni patojenik mutasyonları tespit edilmiştir. Desmozomal genleri içeren geniş kardiyomiyopati panel analizinin tanısal değeri %37,5 olarak bulunmuştur.

Saptanan varyantlardan *PKP2* geni c.939delC ve c.713del ile *DSP* geni c.803del değişimleri daha önce bildirilmemiş yeni değişimlerdir. Saptanan *PKP2* c.939delC değişimi birbiri ile ilişkisiz 3 olguda saptanmıştır ve bölgemiz için mutasyonun kurucu etkisinin olabileceği düşünülmüştür. Ancak bunun araştırılması için haplotip analizi ve daha büyük olgu serilerine ihtiyaç vardır.

MLPA analizi sonucunda delesyon ya da duplikasyon saptanmamıştır. Bu durum kısıtlı hasta sayısı ile açıklanmıştır. Literatür göz önüne alınarak ARVC olgularının yönetiminde genetik test, desmozomal genlerin büyük delesyon ve duplikasyonlarını da içermelidir.

Bu çalışma ülkemizde yapılmış Yeni Nesil Dizileme ve MLPA yöntemlerini kullanan ilk ARVC olgu serisidir. Çalışmalar arttıkça ARVC'nin genotip fenotip ilişkisi daha iyi anlaşılacak ve klinikte kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları ve belki de hedefli tedaviler mümkün olabilecektir. Çalışmamızın sonuçları, genotip-fenotip ilişkilerini incelemede ve ülkemizdeki mutasyon spektrumunu değerlendirmede literatüre katkı sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association scientific statement from the council on clinical cardiology, heart failure and transplantation committee; quality of care and outcomes research and function. *Circulation*. 2006;113(14):1807-1816.
2. Lancisi GM. De Motu Cordis et Aneurysmatibus. Naples. Published online 1736.
3. Fontaine G, Frank R, Guiraudon G, Pavie A, Tereau Y. Signification des troubles de conduction intraventriculaires observés dans la dysplasie ventriculaire droite arythmogène. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 1984;77(8):872-879.
4. Marcus FI, Fontaine GH, Guiraudon G, et al. Right ventricular dysplasia: a report of 24 adult cases. *Circulation*. 1982;65(2):384-398. doi:10.1161/01.cir.65.2.384
5. DALLA VOLTA S, BATTAGLIA G, ZERBINI E. "Auricularization" of right ventricular pressure curve." *Am Heart J*. 1961;61:25-33. doi:10.1016/0002-8703(61)90513-0
6. Gerlis LM, Schmidt-Ott SC, Ho SY, Anderson RH. Dysplastic conditions of the right ventricular myocardium: Uhl's anomaly vs arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *Heart*. 1993;69(2):142-150.
7. Basso C, Corrado D, Marcus FI, Nava A, Thiene G. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Lancet*. 2009;373(9671):1289-1300.
8. Fontaine G, Fontaliran F, Andrade FR, et al. The arrhythmogenic right ventricle. Dysplasia versus cardiomyopathy. *Heart Vessels*. 1995;10(5):227-235. doi:10.1007/BF01744901
9. Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D, et al. Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: proposed modification of the task force criteria. *Circulation*. 2010;121(13):1533-1541. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.840827
10. Te Riele ASJM, James CA, Philips B, et al. Mutation-positive arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: the triangle of dysplasia displaced. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2013;24(12):1311-1320. doi:10.1111/jce.12222
11. Corrado D, Fontaine G, Marcus FI, et al. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: need for an international registry. Study Group on Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy of the Working Groups on Myocardial and Pericardial Disease and Arrhythmias of the Eur. *Circulation*. 2000;101(11):E101-6. doi:10.1161/01.cir.101.11.e101
12. Thiene G, Corrado D, Nava A, et al. Right ventricular cardiomyopathy: is there evidence of an inflammatory aetiology? *Eur Heart J*. 1991;12 Suppl D:22-25. doi:10.1093/eurheartj/12.suppl_d.22
13. Sabel KG, Blomström-Lundqvist C, Olsson SB, Eneström S. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia in brother and sister: is it related to myocarditis? *Pediatr Cardiol*. 1990;11(2):113-116. doi:10.1007/BF02239576
14. Hofmann R, Trappe HJ, Klein H, Kemnitz J. Chronic (or healed) myocarditis mimicking arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *Eur Heart J*. 1993;14(5):717-720. doi:10.1093/eurheartj/14.5.717
15. Basso C, Bauce B, Corrado D, Thiene G. Pathophysiology of arrhythmogenic cardiomyopathy. *Nat Rev Cardiol*. 2012;9(4):223-233. doi:10.1038/nrcardio.2011.173

16. Sen-Chowdhry S, Syrris P, McKenna WJ. Genetics of right ventricular cardiomyopathy. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2005;16(8):927-935. doi:10.1111/j.1540-8167.2005.40842.x
17. McKusick VA, Hamosh A, Scott AF, Amberger J, Valle D. Online Mendelian inheritance in man (OMIM). McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins University. *Natl Cent Biotechnol Information, Natl Libr Med Bethesda* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>). Published online 2004.
18. Rehm HL, Berg JS, Brooks LD, et al. ClinGen — The Clinical Genome Resource. *N Engl J Med*. 2015;372(23):2235-2242. doi:10.1056/NEJMSr1406261
19. James CA, Jongbloed JDH, Hershberger RE, et al. An international evidence based reappraisal of genes associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) using the ClinGen Framework. *Circ Genomic Precis Med*. Published online 2021.
20. Corrado D, Basso C, Judge DP. Arrhythmogenic cardiomyopathy. *Circ Res*. 2017;121(7):784-802.
21. Corrado D, Basso C, Schiavon M, Thiene G. Screening for hypertrophic cardiomyopathy in young athletes. *N Engl J Med*. 1998;339(6):364-369. doi:10.1056/NEJM199808063390602
22. Corrado D, Fontaine G, Marcus FI, et al. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: need for an international registry. Study Group on Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy of the Working Groups on Myocardial and Pericardial Disease and Arrhythmias of the Eur. *Circulation*. 2000;101(11):E101-6. doi:10.1161/01.cir.101.11.e101
23. McNally E, MacLeod H, Dellefave-Castillo L. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *GeneReviews®[Internet]*. Published online 2017.
24. Milting H, Klauke B, Christensen AH, et al. The TMEM43 Newfoundland mutation p. S358L causing ARVC-5 was imported from Europe and increases the stiffness of the cell nucleus. *Eur Heart J*. 2015;36(14):872-881.
25. van der Zwaag PA, Cox MG PJ, van der Werf C, et al. Recurrent and founder mutations in the Netherlands. *Netherlands Heart J*. 2010;18(12):583-591.
26. Chen L, Rao M, Chen X, et al. A founder homozygous DSG2 variant in East Asia results in ARVC with full penetrance and heart failure phenotype. *Int J Cardiol*. 2019;274:263-270.
27. Jacob KA, Noorman M, Cox MG PJ, Groeneweg JA, Hauer RNW, van der Heyden MAG. Geographical distribution of plakophilin-2 mutation prevalence in patients with arrhythmogenic cardiomyopathy. *Neth Heart J*. 2012;20(5):234-239. doi:10.1007/s12471-012-0274-x
28. Fedida J, Fressart V, Charron P, et al. Contribution of exome sequencing for genetic diagnostic in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *PLoS One*. 2017;12(8):e0181840.
29. van Lint FHM, Murray B, Tichnell C, et al. Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy-Associated Desmosomal Variants Are Rarely De Novo. *Circ Genomic Precis Med*. 2019;12(8):e002467. doi:10.1161/CIRCGEN.119.002467
30. Li Mura IEA, Baucé B, Nava A, et al. Identification of a PKP2 gene deletion in a family with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Eur J Hum Genet*. 2013;21(11):1226-1231. doi:10.1038/ejhg.2013.39
31. Youssoufian H, McAfee M, Kwiatkowski DJ. Cloning and chromosomal localization of the

- human cytoskeletal alpha-actinin gene reveals linkage to the beta-spectrin gene. *Am J Hum Genet.* 1990;47(1):62-72.
32. Murray B, Hoorntje ET, Te Riele ASJM, et al. Identification of sarcomeric variants in probands with a clinical diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC). *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2018;29(7):1004-1009.
 33. Bennett RG, Haqqani HM, Berruezo A, et al. Arrhythmogenic cardiomyopathy in 2018–2019: ARVC/ALVC or both? *Hear Lung Circ.* 2019;28(1):164-177.
 34. Cipriani A, Bauce B, De Lazzari M, et al. Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy: Characterization of Left Ventricular Phenotype and Differential Diagnosis With Dilated Cardiomyopathy. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(5):e014628. doi:10.1161/JAHA.119.014628
 35. De Bortoli M, Calore C, Lorenzon A, et al. Co-inheritance of mutations associated with arrhythmogenic cardiomyopathy and hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Hum Genet.* 2017;25(10):1165-1169.
 36. Bauce B, Nava A, Beffagna G, et al. Multiple mutations in desmosomal proteins encoding genes in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Hear Rhythm.* 2010;7(1):22-29.
 37. Campuzano O, Alcalde M, Allegue C, et al. Genetics of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Med Genet.* 2013;50(5):280-289.
 38. Bauce B, Rampazzo A, Basso C, et al. Clinical phenotype and diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in pediatric patients carrying desmosomal gene mutations. *Hear Rhythm.* 2011;8(11):1686-1695.
 39. Sunumlar O. Different clinical presentations of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in two brothers. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2008;8:381-392.
 40. Dervişoğlu P, Karacan M, Kösecik M. Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy (ARVC) Presenting with Biventricular Heart Failure/Biventriküler Kalp Yetmezliği ile Karışımına Çıkan Aritmojenik Sağ Ventrikül Kardiyomiyopatisi (ASVK). *Anatol Clin J Med Sci.* 21(2):135-138.
 41. Towbin JA, McKenna WJ, Abrams DJ, et al. 2019 HRS expert consensus statement on evaluation, risk stratification, and management of arrhythmogenic cardiomyopathy. *Hear Rhythm.* 2019;16(11):e301-e372.
 42. McKenna WJ, Thiene G, Nava A, et al. Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. Task Force of the Working Group Myocardial and Pericardial Disease of the European Society of Cardiology and of the Scientific Council on Cardiomyopathies of the International Society. *Br Heart J.* 1994;71(3):215.
 43. Corrado D, Thiene G. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: clinical impact of molecular genetic studies. *Circulation.* 2006;113(13):1634-1637. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.616490
 44. Romero J, Mejia-Lopez E, Manrique C, Lucariello R. Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy (ARVC/D): A Systematic Literature Review. *Clin Med Insights Cardiol.* 2013;7:97-114. doi:10.4137/CMC.S10940
 45. Dalal D, Nasir K, Bomma C, et al. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia: a United States experience. *Circulation.* 2005;112(25):3823-3832. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.542266
 46. Nava A, Bauce B, Basso C, et al. Clinical profile and long-term follow-up of 37 families with

- arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(7):2226-2233. doi:10.1016/s0735-1097(00)00997-9
47. Sen-Chowdhry S, Syrris P, Ward D, Asimaki A, Sevdalis E, McKenna WJ. Clinical and genetic characterization of families with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy provides novel insights into patterns of disease expression. *Circulation*. 2007;115(13):1710-1720. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.660241
 48. Marcus FI, Abidov A. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy 2012: diagnostic challenges and treatment. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2012;23(10):1149-1153. doi:10.1111/j.1540-8167.2012.02412.x
 49. Miles C, Finocchiaro G, Papadakis M, et al. Sudden Death and Left Ventricular Involvement in Arrhythmogenic Cardiomyopathy. *Circulation*. 2019;139(15):1786-1797. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037230
 50. Pinamonti B, Sinagra G, Salvi A, et al. Left ventricular involvement in right ventricular dysplasia. *Am Heart J*. 1992;123(3):711-724. doi:10.1016/0002-8703(92)90511-s
 51. Corrado D, Basso C, Thiene G, et al. Spectrum of clinicopathologic manifestations of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: a multicenter study. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30(6):1512-1520. doi:10.1016/s0735-1097(97)00332-x
 52. Tabib A, Loire R, Chalabreysse L, et al. Circumstances of death and gross and microscopic observations in a series of 200 cases of sudden death associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and/or dysplasia. *Circulation*. 2003;108(24):3000-3005. doi:10.1161/01.CIR.0000108396.65446.21
 53. Bhonsale A, Groeneweg JA, James CA, et al. Impact of genotype on clinical course in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated mutation carriers. *Eur Heart J*. 2015;36(14):847-855. doi:10.1093/eurheartj/ehu509
 54. Basso C, Thiene G, Corrado D, Angelini A, Nava A, Valente M. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Dysplasia, dystrophy, or myocarditis? *Circulation*. 1996;94(5):983-991. doi:10.1161/01.cir.94.5.983
 55. Thiene G, Basso C. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: An update. *Cardiovasc Pathol Off J Soc Cardiovasc Pathol*. 2001;10(3):109-117. doi:10.1016/s1054-8807(01)00067-9
 56. Burke AP, Farb A, Tashko G, Virmani R. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and fatty replacement of the right ventricular myocardium: are they different diseases? *Circulation*. 1998;97(16):1571-1580. doi:10.1161/01.cir.97.16.1571
 57. Tansey DK, Aly Z, Sheppard MN. Fat in the right ventricle of the normal heart. *Histopathology*. 2005;46(1):98-104. doi:10.1111/j.1365-2559.2005.02054.x
 58. Mallat Z, Tedgui A, Fontaliran F, Frank R, Durigon M, Fontaine G. Evidence of apoptosis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *N Engl J Med*. 1996;335(16):1190-1196. doi:10.1056/NEJM199610173351604
 59. Valente M, Calabrese F, Thiene G, et al. In vivo evidence of apoptosis in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Pathol*. 1998;152(2):479-484.
 60. James TN. Normal and abnormal consequences of apoptosis in the human heart. From postnatal morphogenesis to paroxysmal arrhythmias. *Circulation*. 1994;90(1):556-573.
 61. UHL HSM. A previously undescribed congenital malformation of the heart: almost total absence of the myocardium of the right ventricle. *Bull Johns Hopkins Hosp*. 1952;91(3):197-

209.

62. Braunwald E, Zipes DP, Libby P. A textbook of cardiovascular medicine. *Exam patient*. Published online 1992.
63. Virmani R, Robinowitz M, Clark MA, McAllister HAJ. Sudden death and partial absence of the right ventricular myocardium: a report of three cases and a review of the literature. *Arch Pathol Lab Med*. 1982;106(4):163-167.
64. Bharati S, Feld AW, Bauernfeind R, Kattus AA, Lev M. Hypoplasia of the right ventricular myocardium with ventricular tachycardia. *Arch Pathol Lab Med*. 1983;107(5):249-253.
65. Richardson P, McKenna W, Bristow M, et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation*. 1996;93(5):841-842. doi:10.1161/01.cir.93.5.841
66. Boffa GM, Thiene G, Nava A, Dalla Volta S. Cardiomyopathy: a necessary revision of the WHO classification. *Int J Cardiol*. 1991;30(1):1-7. doi:10.1016/0167-5273(91)90117-8
67. Bowles NE, Ni J, Marcus F, Towbin JA. The detection of cardiotropic viruses in the myocardium of patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(5):892-895.
68. Calabrese F, Basso C, Carturan E, Valente M, Thiene G. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: is there a role for viruses? *Cardiovasc Pathol*. 2006;15(1):11-17.
69. Pilichou K, Remme CA, Basso C, et al. Myocyte necrosis underlies progressive myocardial dystrophy in mouse *dsg2*-related arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Exp Med*. 2009;206(8):1787-1802.
70. Li J, Swope D, Raess N, Cheng L, Muller EJ, Radice GL. Cardiac tissue-restricted deletion of plakoglobin results in progressive cardiomyopathy and activation of β -catenin signaling. *Mol Cell Biol*. 2011;31(6):1134-1144.
71. Bauce B, Basso C, Rampazzo A, et al. Clinical profile of four families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy caused by dominant desmoplakin mutations. *Eur Heart J*. 2005;26(16):1666-1675.
72. Bonny A, Lellouche N, Ditah I, et al. C-reactive protein in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy and relationship with ventricular tachycardia. *Cardiol Res Pract*. 2010;2010.
73. Campian ME, Verberne HJ, Hardziyenka M, et al. Assessment of inflammation in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010;37(11):2079-2085.
74. Asimaki A, Tandri H, Duffy ER, et al. Altered desmosomal proteins in granulomatous myocarditis and potential pathogenic links to arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circ Arrhythmia Electrophysiol*. 2011;4(5):743-752.
75. B-Lundqvist C, Eneström S, Edvardsson N, Olsson SB. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia presenting with ventricular tachycardia in a father and son. *Clin Cardiol*. 1987;10(4):277-283. doi:10.1002/clc.4960100415
76. Nava A, Scognamiglio R, Thiene G, et al. A polymorphic form of familial arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *Am J Cardiol*. 1987;59(15):1405-1409. doi:10.1016/0002-9149(87)90929-5

77. Nava A, Thiene G, Canciani B, et al. Familial occurrence of right ventricular dysplasia: a study involving nine families. *J Am Coll Cardiol*. 1988;12(5):1222-1228. doi:10.1016/0735-1097(88)92603-4
78. Buja G, Nava A, Daliento L, et al. Right ventricular cardiomyopathy in identical and nonidentical young twins. *Am Heart J*. 1993;126(5):1187-1193. doi:10.1016/0002-8703(93)90673-w
79. Tamaru Y, Miyawaki T, Iwai K, et al. Absence of bcl-2 expression by activated CD45RO+ T lymphocytes in acute infectious mononucleosis supporting their susceptibility to programmed cell death. *Blood*. 1993;82(2):521-527.
80. La Gerche A, Heidbüchel H, Burns AT, et al. Disproportionate exercise load and remodeling of the athlete's right ventricle. *Med Sci Sports Exerc*. 2011;43(6):974-981.
81. Corrado D, Wichter T, Link MS, et al. Treatment of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia: An International Task Force Consensus Statement. *Circulation*. 2015;132(5):441-453. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017944
82. Corrado D, Basso C, Pavei A, Michieli P, Schiavon M, Thiene G. Trends in sudden cardiovascular death in young competitive athletes after implementation of a preparticipation screening program. *Jama*. 2006;296(13):1593-1601.
83. Corrado D, Basso C, Rizzoli G, Schiavon M, Thiene G. Does sports activity enhance the risk of sudden death in adolescents and young adults? *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(11):1959-1963.
84. Corrado D, Thiene G, Nava A, Rossi L, Pennelli N. Sudden death in young competitive athletes: clinicopathologic correlations in 22 cases. *Am J Med*. 1990;89(5):588-596.
85. Hariharan V, Asimaki A, Michaelson JE, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy mutations alter shear response without changes in cell-cell adhesion. *Cardiovasc Res*. 2014;104(2):280-289.
86. Garcia-Gras E, Lombardi R, Giocondo MJ, et al. Suppression of canonical Wnt/ β -catenin signaling by nuclear plakoglobin recapitulates phenotype of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 2006;116(7):2012-2021.
87. Lombardi R, Dong J, Rodriguez G, et al. Genetic fate mapping identifies second heart field progenitor cells as a source of adipocytes in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circ Res*. 2009;104(9):1076-1084.
88. Lombardi R, da Graca Cabreira-Hansen M, Bell A, Fromm RR, Willerson JT, Marian AJ. Nuclear plakoglobin is essential for differentiation of cardiac progenitor cells to adipocytes in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circ Res*. 2011;109(12):1342-1353.
89. Joe AWB, Yi L, Natarajan A, et al. Muscle injury activates resident fibro/adipogenic progenitors that facilitate myogenesis. *Nat Cell Biol*. 2010;12(2):153-163.
90. Lombardi R, Chen SN, Ruggiero A, et al. Cardiac fibro-adipocyte progenitors express desmosome proteins and preferentially differentiate to adipocytes upon deletion of the desmoplakin gene. *Circ Res*. 2016;119(1):41-54.
91. Ai D, Fu X, Wang J, et al. Canonical Wnt signaling functions in second heart field to promote right ventricular growth. *Proc Natl Acad Sci*. 2007;104(22):9319-9324.
92. Wang L, Lawrence MS, Wan Y, et al. SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2011;365(26):2497-2506.

93. Sato PY, Coombs W, Lin X, et al. Interactions between ankyrin-G, Plakophilin-2, and Connexin43 at the cardiac intercalated disc. *Circ Res*. 2011;109(2):193-201.
94. Kaplan SR, Gard JJ, Protonotarios N, et al. Remodeling of myocyte gap junctions in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy due to a deletion in plakoglobin (Naxos disease). *Heart Rhythm*. 2004;1(1):3-11.
95. Delmar M, McKenna WJ. The cardiac desmosome and arrhythmogenic cardiomyopathies: from gene to disease. *Circ Res*. 2010;107(6):700-714.
96. Sato PY, Musa H, Coombs W, et al. Loss of plakophilin-2 expression leads to decreased sodium current and slower conduction velocity in cultured cardiac myocytes. *Circ Res*. 2009;105(6):523-526.
97. Rizzo S, Lodder EM, Verkerk AO, et al. Intercalated disc abnormalities, reduced Na⁺ current density, and conduction slowing in desmoglein-2 mutant mice prior to cardiomyopathic changes. *Cardiovasc Res*. 2012;95(4):409-418.
98. Chen SN, Gurha P, Lombardi R, Ruggiero A, Willerson JT, Marian AJ. The hippo pathway is activated and is a causal mechanism for adipogenesis in arrhythmogenic cardiomyopathy. *Circ Res*. 2014;114(3):454-468.
99. Stamenkovic I, Yu Q. Merlin, a "magic" linker between the extracellular cues and intracellular signaling pathways that regulate cell motility, proliferation, and survival. *Curr Protein Pept Sci*. 2010;11(6):471-484.
100. Leo-Macias A, Agullo-Pascual E, Sanchez-Alonso JL, et al. Nanoscale visualization of functional adhesion/excitability nodes at the intercalated disc. *Nat Commun*. 2016;7(1):1-12.
101. Rampazzo A, Nava A, Danieli GA, et al. The gene for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy maps to chromosome 14q23-q24. *Hum Mol Genet*. 1994;3(6):959-962. doi:10.1093/hmg/3.6.959
102. Severini GM, Krajcinovic M, Pinamonti B, et al. A new locus for arrhythmogenic right ventricular dysplasia on the long arm of chromosome 14. *Genomics*. 1996;31(2):193-200.
103. Ahmad F, Li D, Karibe A, et al. Localization of a gene responsible for arrhythmogenic right ventricular dysplasia to chromosome 3p23. *Circulation*. 1998;98(25):2791-2795.
104. McKoy G, Protonotarios N, Crosby A, et al. Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease). *Lancet*. 2000;355(9221):2119-2124.
105. Carvajal-Huerta L. Epidermolytic palmoplantar keratoderma with woolly hair and dilated cardiomyopathy. *J Am Acad Dermatol*. 1998;39(3):418-421.
106. Pilichou K, Nava A, Basso C, et al. Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation*. 2006;113(9):1171-1179.
107. Heuser A, Plovie ER, Ellinor PT, et al. Mutant desmocollin-2 causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Hum Genet*. 2006;79(6):1081-1088.
108. Gerull B, Heuser A, Wichter T, et al. Mutations in the desmosomal protein plakophilin-2 are common in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Nat Genet*. 2004;36(11):1162-1164.
109. Groeneweg JA, Bhonsale A, James CA, et al. Clinical Presentation, Long-Term Follow-Up, and Outcomes of 1001 Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy Patients and

- Family Members. *Circ Cardiovasc Genet*. 2015;8(3):437-446.
doi:10.1161/CIRCGENETICS.114.001003
110. James CA, Syrris P, van Tintelen JP, Calkins H. The role of genetics in cardiovascular disease: arrhythmogenic cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2020;41(14):1393-1400.
doi:10.1093/eurheartj/ehaa141
 111. Rigato I, Bauce B, Rampazzo A, et al. Compound and digenic heterozygosity predicts lifetime arrhythmic outcome and sudden cardiac death in desmosomal gene-related arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2013;6(6):533-542.
 112. Xu T, Yang Z, Vatta M, et al. Compound and digenic heterozygosity contributes to arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(6):587-597.
 113. Awad MM, Dalal D, Tichnell C, et al. Recessive arrhythmogenic right ventricular dysplasia due to novel cryptic splice mutation in PKP2. *Hum Mutat*. 2006;27(11):1157.
 114. Quarta G, Muir A, Pantazis A, et al. Familial evaluation in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: impact of genetics and revised task force criteria. *Circulation*. 2011;123(23):2701-2709.
 115. Protonotarios N, Anastasakis A, Antoniadou L, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia on the basis of the revised diagnostic criteria in affected families with desmosomal mutations. *Eur Heart J*. 2011;32(9):1097-1104.
doi:10.1093/eurheartj/ehr043
 116. Chivulescu M, Lie ØH, Popescu BA, et al. High penetrance and similar disease progression in probands and in family members with arrhythmogenic cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2020;41(14):1401-1410.
 117. Carruth ED, Young W, Beer D, et al. Prevalence and Electronic Health Record-Based Phenotype of Loss-of-Function Genetic Variants in Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy-Associated Genes. *Circ Genomic Precis Med*. 2019;12(11):e002579.
doi:10.1161/CIRCGEN.119.002579
 118. van Lint FHM, Murray B, Tichnell C, et al. Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy-Associated Desmosomal Variants Are Rarely De Novo: Segregation and Haplotype Analysis of a Multinational Cohort. *Circ Genomic Precis Med*. 2019;12(8):e002467.
 119. Xu Z, Zhu W, Wang C, et al. Genotype-phenotype relationship in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy caused by desmosomal gene mutations: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):1-8.
 120. Te Riele ASJM, James CA, Groeneweg JA, et al. Approach to family screening in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2016;37(9):755-763.
 121. Lie ØH, Deigaard LA, Saberniak J, et al. Harmful effects of exercise intensity and exercise duration in patients with arrhythmogenic cardiomyopathy. *Clin Electrophysiol*. 2018;4(6):744-753.
 122. Ruwald A-C, Marcus F, Estes III NAM, et al. Association of competitive and recreational sport participation with cardiac events in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: results from the North American multidisciplinary study of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopath. *Eur Heart J*. 2015;36(27):1735-1743.
 123. James CA, Bhonsale A, Tichnell C, et al. Exercise increases age-related penetrance and arrhythmic risk in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated

- desmosomal mutation carriers. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(14):1290-1297.
124. Sawant AC, Bhonsale A, te Riele ASJM, et al. Exercise has a disproportionate role in the pathogenesis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy in patients without desmosomal mutations. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(6):e001471.
 125. Austin KM, Trembley MA, Chandler SF, et al. Molecular mechanisms of arrhythmogenic cardiomyopathy. *Nat Rev Cardiol*. 2019;16(9):519-537.
 126. Asatryan B, Medeiros Domingo A. Translating emerging molecular genetic insights into clinical practice in inherited cardiomyopathies. *J Mol Med*. 2018;96. doi:10.1007/s00109-018-1685-y
 127. Mertens C, Hofmann I, Wang Z, et al. Nuclear particles containing RNA polymerase III complexes associated with the junctional plaque protein plakophilin 2. *Proc Natl Acad Sci*. 2001;98(14):7795-7800.
 128. Grossmann KS, Grund C, Huelsken J, et al. Requirement of plakophilin 2 for heart morphogenesis and cardiac junction formation. *J Cell Biol*. 2004;167(1):149-160.
 129. McGrath JA, McMillan JR, Shemanko CS, et al. Mutations in the plakophilin 1 gene result in ectodermal dysplasia/skin fragility syndrome. *Nat Genet*. 1997;17(2):240-244.
 130. van Tintelen JP, Entius MM, Bhuiyan ZA, et al. Plakophilin-2 mutations are the major determinant of familial arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circulation*. 2006;113(13):1650-1658. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.609719
 131. Dalal D, Molin LH, Piccini J, et al. Clinical features of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in plakophilin-2. *Circulation*. 2006;113(13):1641-1649. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.568642
 132. Syrris P, Ward D, Asimaki A, et al. Clinical expression of plakophilin-2 mutations in familial arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation*. 2006;113(3):356-364. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.561654
 133. Biernacka EK, Borowiec K, Franaszczyk M, et al. Pathogenic variants in plakophilin-2 gene (PKP2) are associated with better survival in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Appl Genet*. Published online 2021. doi:10.1007/s13353-021-00647-y
 134. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-424. doi:10.1038/gim.2015.30
 135. Alcalai R, Metzger S, Rosenheck S, Meiner V, Chajek-Shaul T. A recessive mutation in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia, skin disorder, and woolly hair. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(2):319-327. doi:10.1016/s0735-1097(03)00628-4
 136. Norgett EE, Hatsell SJ, Carvajal-Huerta L, et al. Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin-intermediate filament interactions and causes dilated cardiomyopathy, woolly hair and keratoderma. *Hum Mol Genet*. 2000;9(18):2761-2766. doi:10.1093/hmg/9.18.2761
 137. Kaplan SR, Gard JJ, Carvajal-Huerta L, Ruiz-Cabezas JC, Thiene G, Saffitz JE. Structural and molecular pathology of the heart in Carvajal syndrome. *Cardiovasc Pathol*. 2004;13(1):26-32.
 138. Sen-Chowdhry S, Syrris P, McKenna WJ. Desmoplakin disease in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: early genotype-phenotype studies. *Eur Heart J*. 2005;26(16):1582-1584. doi:10.1093/eurheartj/ehi343

139. van der Zwaag PA, Jongbloed JDH, van den Berg MP, et al. A genetic variants database for arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Hum Mutat.* 2009;30(9):1278-1283.
140. Castelletti S, Vischer AS, Syrris P, et al. Desmoplakin missense and non-missense mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: Genotype-phenotype correlation. *Int J Cardiol.* 2017;249:268-273. doi:10.1016/j.ijcard.2017.05.018
141. Protonotarios A, Anastasakis A, Panagiotakos DB, et al. Arrhythmic risk assessment in genotyped families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Eur Eur pacing, arrhythmias, Card Electrophysiol J Work groups Card pacing, arrhythmias, Card Cell Electrophysiol Eur Soc Cardiol.* 2016;18(4):610-616. doi:10.1093/europace/euv061
142. Blusztein DI, Zentner D, Thompson T, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a review of living and deceased probands. *Hear Lung Circ.* 2019;28(7):1034-1041.
143. Saito M, Tucker DK, Kohlhorst D, Niessen CM, Kowalczyk AP. Classical and desmosomal cadherins at a glance. *J Cell Sci.* 2012;125(11):2547-2552.
144. Protonotarios N, Tsatsopoulou A, Anastasakis A, et al. Genotype-phenotype assessment in autosomal recessive arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (Naxos disease) caused by a deletion in plakoglobin. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38(5):1477-1484. doi:10.1016/s0735-1097(01)01568-6
145. Asimaki A, Syrris P, Wichter T, Matthias P, Saffitz JE, McKenna WJ. A novel dominant mutation in plakoglobin causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Hum Genet.* 2007;81(5):964-973. doi:10.1086/521633
146. Vite A, Radice GL. N-cadherin/catenin complex as a master regulator of intercalated disc function. *Cell Commun Adhes.* 2014;21(3):169-179.
147. Vermij SH, Abriel H, van Veen TAB. Refining the molecular organization of the cardiac intercalated disc. *Cardiovasc Res.* 2017;113(3):259-275.
148. Mayosi BM, Fish M, Shaboodien G, et al. Identification of cadherin 2 (CDH2) mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2017;10(2):e001605.
149. Turkowski KL, Tester DJ, Bos JM, Haugaa KH, Ackerman MJ. Whole exome sequencing with genomic triangulation implicates CDH2-encoded N-cadherin as a novel pathogenic substrate for arrhythmogenic cardiomyopathy. *Congenit Heart Dis.* 2017;12(2):226-235.
150. van Hengel J, Calore M, Baucé B, et al. Mutations in the area composita protein α T-catenin are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2013;34(3):201-210.
151. Merner ND, Hodgkinson KA, Haywood AFM, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 5 is a fully penetrant, lethal arrhythmic disorder caused by a missense mutation in the TMEM43 gene. *Am J Hum Genet.* 2008;82(4):809-821.
152. Christensen AH, Andersen CB, Tybjaerg-Hansen A, Haunso S, Svendsen JH. Mutation analysis and evaluation of the cardiac localization of TMEM43 in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Clin Genet.* 2011;80(3):256-264.
153. Rajkumar R, Sembrat JC, McDonough B, Seidman CE, Ahmad F. Functional effects of the TMEM43 Ser358Leu mutation in the pathogenesis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *BMC Med Genet.* 2012;13(1):1-9.

154. Baskin B, Skinner JR, Sanatani S, et al. TMEM43 mutations associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in non-Newfoundland populations. *Hum Genet.* 2013;132(11):1245-1252.
155. Quarta G, Syrris P, Ashworth M, et al. Mutations in the Lamin A/C gene mimic arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2012;33(9):1128-1136.
156. Taylor M, Graw S, Sinagra G, et al. Genetic variation in titin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy–overlap syndromes. *Circulation.* 2011;124(8):876-885.
157. Ortiz-Genga MF, Cuenca S, Dal Ferro M, et al. Truncating FLNC mutations are associated with high-risk dilated and arrhythmogenic cardiomyopathies. *J Am Coll Cardiol.* 2016;68(22):2440-2451.
158. Li ZL, Lilienbaum A, Butler-Browne G, Paulin D. Human desmin-coding gene: complete nucleotide sequence, characterization and regulation of expression during myogenesis and development. *Gene.* 1989;78(2):243-254.
159. Tiso N, Stephan DA, Nava A, et al. Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2). *Hum Mol Genet.* 2001;10(3):189-194.
160. Roux-Buisson N, Gandjbakhch E, Donal E, et al. Prevalence and significance of rare RYR2 variants in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: results of a systematic screening. *Heart Rhythm.* 2014;11(11):1999-2009.
161. Te Riele ASJM, Agullo-Pascual E, James CA, et al. Multilevel analyses of SCN5A mutations in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy suggest non-canonical mechanisms for disease pathogenesis. *Cardiovasc Res.* 2017;113(1):102-111.
162. Doetschman T, Barnett J V, Runyan RB, et al. Transforming growth factor beta signaling in adult cardiovascular diseases and repair. *Cell Tissue Res.* 2012;347(1):203-223.
163. Beffagna G, Occhi G, Nava A, et al. Regulatory mutations in transforming growth factor- β 3 gene cause arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 1. *Cardiovasc Res.* 2005;65(2):366-373.
164. Members AF, Priori SG, Blomström-Lundqvist C, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the Europe. *Ep Eur.* 2015;17(11):1601-1687.
165. Bao J, Wang J, Yao Y, et al. Correlation of ventricular arrhythmias with genotype in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2013;6(6):552-556. doi:10.1161/CIRCGENETICS.113.000122
166. Barahona-Dussault C, Benito B, Campuzano O, et al. Role of genetic testing in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Clin Genet.* 2010;77(1):37-48.
167. Thiene G, Nava A, Corrado D, Rossi L, Pennelli N. Right ventricular cardiomyopathy and sudden death in young people. *N Engl J Med.* 1988;318(3):129-133.
168. Yoerger DM, Marcus F, Sherrill D, et al. Echocardiographic findings in patients meeting task force criteria for arrhythmogenic right ventricular dysplasia: new insights from the multidisciplinary study of right ventricular dysplasia. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(6):860-865. doi:10.1016/j.jacc.2004.10.070
169. Bluemke DA, Krupinski EA, Ovitt T, et al. MR Imaging of arrhythmogenic right ventricular

- cardiomyopathy: morphologic findings and interobserver reliability. *Cardiology*. 2003;99(3):153-162.
170. Sen-Chowdhry S, Prasad SK, Syrris P, et al. Cardiovascular magnetic resonance in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy revisited: comparison with task force criteria and genotype. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(10):2132-2140.
 171. Tandri H, Saranathan M, Rodriguez ER, et al. Noninvasive detection of myocardial fibrosis in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy using delayed-enhancement magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(1):98-103.
 172. Judge DP. Use of genetics in the clinical evaluation of cardiomyopathy. *Jama*. 2009;302(22):2471-2476.
 173. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Europace*. 2011;13(8):1077-1109.
 174. Stadiotti I, Pompilio G, Maione AS, Pilato CA, D'Alessandra Y, Sommariva E. Arrhythmogenic cardiomyopathy: what blood can reveal? *Heart Rhythm*. 2019;16(3):470-477. doi:10.1016/j.hrthm.2018.09.023
 175. Fressart V, Duthoit G, Donal E, et al. Desmosomal gene analysis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: spectrum of mutations and clinical impact in practice. *Europace*. 2010;12(6):861-868.
 176. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet*. 2016;17(6):333-351.
 177. Neto JE, Tonet J, Frank R, Fontaine G. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia (ARVC/D)-what we have learned after 40 years of the diagnosis of this clinical entity. *Arq Bras Cardiol*. 2019;112(1):91-103. doi:10.5935/abc.20180266
 178. Kapplinger JD, Landstrom AP, Salisbury BA, et al. Distinguishing arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia-associated mutations from background genetic noise. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(23):2317-2327.
 179. Plon SE, Eccles DM, Easton D, et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat*. 2008;29(11):1282-1291.
 180. Eijk-Van Os PGC, Schouten JP. Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA®) for the detection of copy number variation in genomic sequences. In: *PCR Mutation Detection Protocols*. Springer; 2011:97-126.
 181. Stuppia L, Antonucci I, Palka G, Gatta V. Use of the MLPA assay in the molecular diagnosis of gene copy number alterations in human genetic diseases. *Int J Mol Sci*. 2012;13(3):3245-3276.
 182. Cox MGPI, van der Zwaag PA, van der Werf C, et al. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: pathogenic desmosome mutations in index-patients predict outcome of family screening: Dutch arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy genotype-phenotype follow-up study. *Circulation*. 2011;123(23):2690-2700.
 183. Roberts JD, Herkert JC, Rutberg J, et al. Detection of genomic deletions of PKP2 in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Clin Genet*. 2013;83(5):452-456.

184. Ingles J, Yeates L, Semsarian C. The emerging role of the cardiac genetic counselor. *Hear Rhythm*. 2011;8(12):1958-1962.
185. Ioannidis NM, Rothstein JH, Pejaver V, et al. REVEL: an ensemble method for predicting the pathogenicity of rare missense variants. *Am J Hum Genet*. 2016;99(4):877-885.
186. Dong C, Wei P, Jian X, et al. Comparison and integration of deleteriousness prediction methods for nonsynonymous SNVs in whole exome sequencing studies. *Hum Mol Genet*. 2015;24(8):2125-2137.
187. Ng PC, Henikoff S. SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Res*. 2003;31(13):3812-3814. doi:10.1093/nar/gkg509
188. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods*. 2010;7(4):248-249.
189. Schwarz JM, Rödelberger C, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nat Methods*. 2010;7(8):575-576.
190. Jian X, Boerwinkle E, Liu X. In silico prediction of splice-altering single nucleotide variants in the human genome. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(22):13534-13544. doi:10.1093/nar/gku1206
191. Coffa J, Van Den Berg J. Analysis of MLPA data using novel software Coffalyser .NET by MRC-Holland. *Mod approaches to Qual Control Rijeka, Croat InTech*. Published online 2011:125-150.
192. Van Der Zwaag PA, Van Rijsingen IAW, Asimaki A, et al. Phospholamban R14del mutation in patients diagnosed with dilated cardiomyopathy or arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: evidence supporting the concept of arrhythmogenic cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2012;14(11):1199-1207.
193. Gigli M, Merlo M, Graw SL, et al. Genetic risk of arrhythmic phenotypes in patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(11):1480-1490.
194. Watkins DA, Hendricks N, Shaboodien G, et al. Clinical features, survival experience, and profile of plakophilin-2 gene mutations in participants of the arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy registry of South Africa. *Hear Rhythm*. 2009;6(11):S10-S17.
195. Marschall C, Moscu-Gregor A, Klein H-G. Variant panorama in 1,385 index patients and sensitivity of expanded next-generation sequencing panels in arrhythmogenic disorders. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2019;9(Suppl 2):S292-S298. doi:10.21037/cdt.2019.06.06
196. den Haan AD, Tan BY, Zikusoka MN, et al. Comprehensive desmosome mutation analysis in north americans with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009;2(5):428-435. doi:10.1161/CIRCGENETICS.109.858217
197. Hulot J-S, Jouven X, Empana J-P, Frank R, Fontaine G. Natural history and risk stratification of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circulation*. 2004;110(14):1879-1884. doi:10.1161/01.CIR.0000143375.93288.82
198. Gandjbakhch E, Fressart V, Bertaux G, et al. Sporadic arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia due to a de novo mutation. *Eur Eur pacing, arrhythmias, Card Electrophysiol J Work groups Card pacing, arrhythmias, Card Cell Electrophysiol Eur Soc Cardiol*. 2009;11(3):379-381. doi:10.1093/europace/eun378
199. Klauke B, Kossmann S, Gaertner A, et al. De novo desmin-mutation N116S is associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Hum Mol Genet*. 2010;19(23):4595-4607. doi:10.1093/hmg/ddq387

200. Mogensen J, van Tintelen JP, Fokstuen S, et al. The current role of next-generation DNA sequencing in routine care of patients with hereditary cardiovascular conditions: a viewpoint paper of the European Society of Cardiology working group on myocardial and pericardial diseases and members of the Europ. *Eur Heart J*. 2015;36(22):1367-1370.
201. David KL, Best RG, Brenman LM, et al. Patient re-contact after revision of genomic test results: points to consider—a statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med*. 2019;21(4):769-771.
202. Carrieri D, Howard HC, Benjamin C, et al. Recontacting patients in clinical genetics services: recommendations of the European Society of Human Genetics. *Eur J Hum Genet*. 2019;27(2):169-182.
203. Dries AM, Kirillova A, Reuter CM, et al. The genetic architecture of Plakophilin 2 cardiomyopathy. *Genet Med*. Published online June 2021. doi:10.1038/s41436-021-01233-7
204. Rasmussen TB, Nissen PH, Palmfeldt J, et al. Truncating plakophilin-2 mutations in arrhythmogenic cardiomyopathy are associated with protein haploinsufficiency in both myocardium and epidermis. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014;7(3):230-240. doi:10.1161/CIRCGENETICS.113.000338
205. Al-Jassar C, Bikker H, Overduin M, Chidgey M. Mechanistic basis of desmosome-targeted diseases. *J Mol Biol*. 2013;425(21):4006-4022. doi:10.1016/j.jmb.2013.07.035
206. Lahtinen AM, Havulinna AS, Noseworthy PA, et al. Prevalence of arrhythmia-associated gene mutations and risk of sudden cardiac death in the Finnish population. *Ann Med*. 2013;45(4):328-335. doi:10.3109/07853890.2013.783995
207. Begay RL, Graw S, Sinagra G, et al. Role of Titin Missense Variants in Dilated Cardiomyopathy. *J Am Heart Assoc*. 2015;4(11):e002645. doi:10.1161/JAHA.115.002645
208. Herman DS, Lam L, Taylor MRG, et al. Truncations of Titin Causing Dilated Cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2012;366(7):619-628. doi:10.1056/NEJMoa1110186
209. Hall CL, Akhtar MM, Sabater-Molina M, et al. Filamin C variants are associated with a distinctive clinical and immunohistochemical arrhythmogenic cardiomyopathy phenotype. *Int J Cardiol*. 2020;307:101-108. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2019.09.048
210. Dalal D, Tandri H, Judge DP, et al. Morphologic variants of familial arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy a genetics-magnetic resonance imaging correlation study. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(15):1289-1299. doi:10.1016/j.jacc.2008.12.045
211. Posch MG, Posch MJ, Perrot A, Dietz R, Ozcelik C. Variations in DSG2: V56M, V158G and V920G are not pathogenic for arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2008;5(12):E1. doi:10.1038/ncpcardio1434
212. Addison J, Taylor MRG, Mestroni L. Genotype-phenotype correlations in ARVC: Toward a precision medicine approach. *Int J Cardiol*. 2019;286:115-116. doi:10.1016/j.ijcard.2019.03.014
213. Baralle D, Baralle M. Splicing in action: assessing disease causing sequence changes. *J Med Genet*. 2005;42(10):737-748. doi:10.1136/jmg.2004.029538
214. DeWitt ES, Chandler SF, Hyland RJ, et al. Phenotypic Manifestations of Arrhythmogenic Cardiomyopathy in Children and Adolescents. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(3):346-358. doi:10.1016/j.jacc.2019.05.022
215. Quiat D, Witkowski L, Zouk H, Daly KP, Roberts AE. Retrospective Analysis of Clinical Genetic

- Testing in Pediatric Primary Dilated Cardiomyopathy: Testing Outcomes and the Effects of Variant Reclassification. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(11):e016195. doi:10.1161/JAHA.120.016195
216. Caspi O, Huber I, Gepstein A, et al. Modeling of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with human induced pluripotent stem cells. *Circ Cardiovasc Genet.* 2013;6(6):557-568. doi:10.1161/CIRCGENETICS.113.000188
 217. Perrin MJ, Angaran P, Laksman Z, et al. Exercise testing in asymptomatic gene carriers exposes a latent electrical substrate of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(19):1772-1779. doi:10.1016/j.jacc.2013.04.084
 218. Dalal D, James C, Devanagondi R, et al. Penetrance of mutations in plakophilin-2 among families with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48(7):1416-1424. doi:10.1016/j.jacc.2006.06.045
 219. Bhuiyan ZA, Jongbloed JDH, van der Smagt J, et al. Desmoglein-2 and desmocollin-2 mutations in dutch arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy patients: results from a multicenter study. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009;2(5):418-427. doi:10.1161/CIRCGENETICS.108.839829
 220. Lin X, Ma Y, Cai Z, et al. Next-generation sequencing identified novel Desmoplakin frame-shift variant in patients with Arrhythmogenic cardiomyopathy. *BMC Cardiovasc Disord.* 2020;20(1):74. doi:10.1186/s12872-020-01369-5
 221. Lin C-Y, Chung F-P, Lin Y-J, et al. Gender differences in patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: Clinical manifestations, electrophysiological properties, substrate characteristics, and prognosis of radiofrequency catheter ablation. *Int J Cardiol.* 2017;227:930-937. doi:10.1016/j.ijcard.2016.11.055
 222. Elliott P, O'Mahony C, Syrris P, et al. Prevalence of desmosomal protein gene mutations in patients with dilated cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2010;3(4):314-322. doi:10.1161/CIRCGENETICS.110.937805
 223. Smith ED, Lakdawala NK, Papoutsidakis N, et al. Desmoplakin Cardiomyopathy, a Fibrotic and Inflammatory Form of Cardiomyopathy Distinct From Typical Dilated or Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *Circulation.* 2020;141(23):1872-1884. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044934
 224. Tan BY, Jain R, den Haan AD, et al. Shared desmosome gene findings in early and late onset arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *J Cardiovasc Transl Res.* 2010;3(6):663-673. doi:10.1007/s12265-010-9224-4
 225. Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science.* 1995;269(5226):973-977. doi:10.1126/science.7638622
 226. An SS, Park SA, Bagyinszky E, et al. A genetic screen of the mutations in the Korean patients with early-onset Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging.* 2016;11:1817-1822. doi:10.2147/CIA.S116724
 227. Park KW, An SS, Bagyinszky E, Kim S. A case of possibly pathogenic PSEN2 R62C mutation in a patient with probable early-onset Alzheimer's dementia supported by structure prediction. *Clin Interv Aging.* 2017;12:367-375. doi:10.2147/CIA.S128884
 228. Hershberger RE, Lindenfeld J, Mestroni L, Seidman CE, Taylor MRG, Towbin JA. Genetic evaluation of cardiomyopathy—a Heart Failure Society of America practice guideline. *J Card Fail.* 2009;15(2):83-97.

8. EKLER

EK 1.Etik Kurul Onayı

Tez araştırması için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun 08/09/2021 tarihli 2021/25-25 numaralı kararıyla etik kurul onayı alınmıştır.

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARI**

Sayın Prof.Dr. Derya Erçal

Araştırmaya 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 İçeraltı-İZMİR
TELEFON	0 232 412 22 54-0 232 412 22 58
FAKS	0 232 412 22 43
E-POSTA	gocek@deu.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	6621-GOA
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☒ MÜNFERİT ARAŞTIRMA ☐ ÖÇM ☐ YÜKSEKLİSANS ☐ DOKTORA ☐
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Aritmojenik Sağ Ventrikül Kardiyomiopatisi (ARVC) Hastalarında Yeni Nesil Dizileme ve Çoklu Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonu Yöntemleri ile Mutasyonların Saptanması ve Olası Fenotip İlişkisi
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Prof.Dr. Derya Erçal Tıbbi Genetik A.D.
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐ ÇOK MERKEZLİ ☒

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	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 ☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2021/25-25	Tarih:08.09.2021				
	Prof.Dr. Derya Erçal'ın sorumlusu olduğu "Aritmojenik Sağ Ventrikül Kardiyomiopatisi (ARVC) Hastalarında Yeni Nesli Dizileme ve Çoklu Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonu Yöntemleri ile Mutasyonların Saptanması ve Olası Fenotip İlişkisi" 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 ilişkili 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)	Preventif Onkoloji	Onkoloji Enstitüsü	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan	Moleküler Tıp	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Erkek	E ☒	H ☐	
Prof.Dr. Suna Asilsoy	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Seher Özyürek	Muskuloskeletal Fizyoterapi	DEÜ Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Nil Hocaoglu Aksay	Tıbbi Farmakoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Meryem Öztürk Haney	Halk Sağlığı Hemşireliği	Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Aylin Özgen Alpaydın	Göğüs Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Aliye Akcalı	Periodontoloji	Diş Hekimliği Fakültesi	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Şule Özbilgin	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	DEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Dr.Öğr.Üyesi Özlenen Şimşek Papur	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Kadın	E ☐	H ☒	
Dr.Öğr.Üyesi Tolga Şahin	Spor Yönetim Bilimleri	Necat Hepkon Spor Bilimleri Fakültesi	Erkek	E ☐	H ☒	
Öğr.Gör.Dr.Kıvanç Yüksel	Biyostatistik ve Tıbbi Bilişim	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Bilişim A.D	Erkek	E ☐	H ☒	

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

EK 2. Veri Kayıt Formu

Olgu numarası:

Dosya numarası:

Geliş tarihi:

Doğum tarihi:

Cinsiyeti / Yaş:

Mevcut Şikayet:

İlk Şikayet ve Şikayet başlangıç Yaşı:

Senkop/Presenkop Öyküsü:

Kardiyak Arrest Öyküsü:

Ek sistem bulgusu:

Ek hastalık Öyküsü:

Aile Öyküsü:

Kullandığı ilaçlar:

Ablasyon veya ICD öyküsü:

EKG sonucu:

Holter EKG sonucu:

EKO sonucu:

Kardiyak MRI sonucu:

EPS sonucu:

Hedefli Yeni Nesil Dizileme Panel Sonucu:

MLPA Sonucu:

Pedigri: