



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**NON-IMMUNE HYDROPS FETALIS İLİŞKİLİ
SİNYAL YOLAĞININ
IN SILICO YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Fikret YANAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi GÖKHAN YILDIZ

TRABZON-2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY

BEYAN

İthaf

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER

vi

TABLolar DİZİNİ

viii

ŞEKİLLER DİZİNİ

ix

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

x

ÖZET

xii

ABSTRACT

xiii

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1

2. GENEL BİLGİLER

3

2.1. Hidrops Fetalis

4

2.1.2. İmmün Hidrops Fetalis

4

2.1.3. Non-İmmün Hidrops Fetalis

5

2.2. Sistem biyolojisi

8

3. GEREÇ ve YÖNTEM

12

3.1.NIHF'nin Genetik Etiyolojisinde Yer Alan Tek Gen Varyasyonlarının Belirlenmesi

12

3.1.1. NIHF ilişkili Genlerin Belirlenmesi

12

3.1.2. NIHF ilişkili Genlerin Daha Önceden İlişkilendirildiği Diğer Genetik Hastalıkların ve Hastalık Gruplarının Belirlenmesi

13

3.2.Fonksiyonel Zenginleşme Analizleri (FZA)

13

3.3.Protein-Protein Etkileşim (PPE) Ağı Analizleri

14

3.4.NIHF ilişkili Sinyal Yolağının Belirlenmesi

15

4. BULGULAR

16

4.1.NIHF'nin Genetik Etiyolojisinde Yer Alan Genlerin ve Varyasyonların Listesinin Belirlenmesi

17

4.1.1. NIHF Genlerinin Hastalık Gruplarıyla İlişkilendirilmesi

34

4.2.NIHF Etiyolojisindeki Genlerin Kodladıkları Proteinlerin Birlikte Rol Oynayabildikleri Biyolojik Süreçlerin Belirlenmesi	52
4.3.NIHF İlişkili Proteinlerin Protein-Protein Etkileşim Ağının Belirlenmesi	62
4.4.NIHF Hücre Sinyal Yolağının Belirlenmesi	65
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	69
6. KAYNAKLAR	92
EKLER	130
Ek 1. NIHF İlişkili Genlerin STRING Veri Tabanına Göre Birbirleriyle Etkileşimi	131
Ek 2. NIHF ile İlişkili Hücre Sinyal Yolağı	132
Ek 3. NIHF ile İlişkili Hücre Sinyal Yolağına Ait Referanslar	133
ÖZGEÇMİŞ	160

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	NIHF ile ilişkili tek gen varyasyonlarının listesi	17
Tablo 2.	NIHF genlerinin OMIM veri tabanında ilişkilendirildiği hastalıkların ve hastalık gruplarının listesi	35
Tablo 3.	Gene Ontology veri tabanındaki terimler arasında zenginleşen ilk 20 terimin listesi	55
Tablo 4.	KEGG veri tabanındaki terimler arasında zenginleşen ilk 20 terimin listesi	57
Tablo 5.	WikiPathways veri tabanındaki terimler arasında zenginleşen ilk 20 terimin listesi	59
Tablo 6.	REACTOME veri tabanındaki terimler arasında zenginleşen ilk 20 terimin listesi	61
Tablo 7.	Arasındalık ve Derece merkezilik skorlarından en az biri ortalamanın üstünde olan proteinlerin skorları	65
Tablo 8.	NIHF sinyal yolağına göre NIHF'nin potansiyel alt grupları	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	NIHF ile ilişkili hücre sinyal yolağının oluşturulmasında kullanılan akış şeması	12
Şekil 2.	En az üç farklı varyasyonu NIHF ile ilişkili olan genlerin sembolleri ve varyasyon sayıları	33
Şekil 3.	NIHF ilişkili genlere ilişkin OMIM veri tabanında bulunan veriler dikkate alınarak NIHF genlerinin ilişkili oldukları hastalık grupları ve bu gruplardaki genlerin dağılımları	51
Şekil 4.	NIHF genlerinin ilişkilendirildiği hastalık gruplarının dağılım grafiği	52
Şekil 5.	NIHF genlerinin GO, KEGG, Wikipathways ve Reactome veri setleri kullanılarak yapılan FZA sonuçlarına göre en yüksek Gen Oranına sahip ilk 20 terimin nokta grafikleri	54
Şekil 6.	NIHF ilişkili genlerin STRING veri tabanına göre birbirleriyle etkileşimi	63
Şekil 7.	NIHF ilişkili PPE ağının merkezi proteinlerinin belirlenmesinde kullanılan CentiScaPe uygulamasının sonucu	64
Şekil 8.	NIHF ile ilişkili hücre sinyal yolağı	67

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

As	Asit Birikimi
Bhet	Birleşik Heterozigot
BOR	Biallelik Otozomal Resesif
DAÖ	Deri Altı Ödem
EF	Eritroblastosis Fetalis
ERC	Elastin Reseptör Kompleksi
FZA	Fonksiyonel Zenginleşme Analizi
GO	Gene Ontology
GSEA	Gen Seti Zenginleşme Analizi
Hem	Hemizigot
Het	Heterozigot
HF	Hidrosp Fetalis
HGVS	Human Genome Variation Society
Hom	Homozigot
HP	Hidropik Plasenta
HPO	Human Phenotype Ontology
IgG	İmmüoglobulin G
IHF	İmmün Hidrops Fetalis
KEGG	Kyoto Genler Ve Genom Ansiklopedisi
KH	Kistik Higroma
mm	Milimetre
NGS	Yeni Nesil DNA Dizileme
NIHF	Non-İmmune Hidrops Fetalis
OD	Otozomal Dominant
OIH	Oligohidramnion
OMIM	Online Mendelian Inheritance İn Man
OR	Otozomal Resesif
ORPHA	Nadir Hastalıklar Ve Yetim İlaçlar Portalı
PeE	Perikardiyal Efüzyon
PH	Polihidramnion

PK	Plasenta Kalınlaşması
PIE	Plevral Efüzyon
PPE	Protein-Protein Etkileşimi
RC	Reactome
Rh	Rhesus
SMFM	Society For Maternal-Fetal Medicine
v	Versiyon
WP	Wikipathways
XOD	X'e Bağlı Otozomal Dominant
XOR	X'e Bağlı Otozomal Resesif



ÖZET

Non-Immune Hydrops Fetalis İlişkili Sinyal Yolağının

In Silico Yöntemlerle Araştırılması

Non-Immune Hydrops Fetalis (NIHF), fetal dönemde maternal alloimmünizasyon dışındaki nedenlerle deri altı ödem, plevral efüzyon, perikardiyal efüzyon ve asit birikimi bulgularından en az ikisinin görülmesiyle karakterize ölümcül bir patolojidir. NIHF'nin görülme sıklığı 1/1700-3000, mortalite oranını %50-98 aralıklarındadır. Tek gen mutasyonlarının NIHF'nin etiyolojisinin yaklaşık %85'ini oluşturduğu bilinmektedir ancak NIHF ilişkili genlerin ve mutasyonların listesi kesin olarak bilinmemektedir. Buna ek olarak, NIHF'nin moleküler etiyopatogenezi aydınlatılmamış, NIHF oluşumunda merkezi rol oynayan moleküller ve biyolojik süreçler tanımlanmamış ve NIHF'nin potansiyel alt grupları tespit edilmemiştir. Ayrıca, NIHF'ye özgü moleküler hedefli bir tedavi yöntemi bulunmuyor olup tüm dünyada NIHF tanılı gebeliklerin tıbbi müdahaleyle sonlandırılması önerilmektedir. Bu tez çalışmasının amacı, NIHF'nin monogenik genetik etiyolojisini derlemek ve bu gen listesini ve çeşitli *in silico* analiz yöntemlerini kullanarak NIHF ilişkili hücre sinyal yolağını belirlemektir. Bu kapsamda ilk olarak yapılan literatür taramasıyla 175 farklı gendeki toplam 415 tek gen varyasyonunun NIHF oluşumuna neden olduğu belirlendi. Bu gen listesiyle yapılan fonksiyonel zenginleşme analiziyle (FZA) NIHF oluşumunda rol oynayan ilk üç biyolojik süreçte Ras/MAPK sinyal yolağı, kas kasılması ve lizozom ilişkili proteinlerin bulunduğu tespit edildi. Bunun ardından, NIHF proteinlerinin yaptığı 113 protein ve 229 bağlantıdan oluşan protein-protein etkileşimleri (PPE) ağı ve ağda merkezi konumda bulunan proteinler belirlendi. Son olarak, elde edilen FZA ve PPE verileri ile yolak veri tabanlarındaki ve literatürdeki veriler dikkate alınarak NIHF ilişkili hücre sinyal yolağı oluşturuldu. NIHF sinyal yolağı, NIHF'nin altı alt gruba ayrılabilceğini ve bunlardan organizasyon ve üye sayısına göre önce çıkan ilk üç alt grubun “FLT4/Ras/MAPK Sinyal Yolağı”, “Ca²⁺ Sinyal Yolağı” ve “Biyoenjetik ve Metabolizma” olduklarını gösterdi. Sonuç olarak, bu tez çalışmasıyla NIHF'nin monogenik genetik etiyolojisini oluşturan genlerin ve mutasyonların listesi derlenmiş ve bu liste kullanılarak yapılan *in silico* analizlerle NIHF ilişkili hücre sinyal yolağı haritası ve NIHF'nin potansiyel alt grupları tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Fonksiyonel zenginleşme analizi, Hücre sinyal yolağı analizi, Non-Immune Hydrops Fetalis (NIHF), Protein-protein etkileşimi ağı

ABSTRACT

Investigation Of The Non-Immune Hydrops Fetalis-Related Signaling Pathway Using In Silico Methods

Non-Immune Hydrops Fetalis (NIHF) is a fatal pathology characterized by the presence of at least two of the following findings; subcutaneous edema, pleural effusion, pericardial effusion or ascites, in a fetus for reasons besides maternal alloimmunization. The incidence and mortality rates of NIHF are 1/1700-3000 and 50-98%, respectively. It is known that monogenic mutations account for approximately 85% of the etiology of NIHF, but the exact list of NIHF-related genes and mutations is not known. In addition, the molecular etiopathogenesis of NIHF, the molecules and biological processes that play a central role in NIHF formation and potential subgroups of NIHF have not been identified. Additionally, there is no molecularly-targeted treatment method specific to NIHF, and when NIHF is diagnosed medical termination of the pregnancy is recommended all over the world. The aim of this thesis study is to review the monogenic genetic etiology of NIHF and to determine the NIHF-associated cellular signaling pathway using this gene list and various *in silico* analysis methods. In this context, it was determined that a total of 415 single gene variations in 175 different genes are associated with the formation of NIHF. The functional enrichment analysis (FEA) performed with this gene list indicated that Ras/MAPK signaling pathway, muscle contraction, and lysosome proteins are present in the top three biological processes that play a role in NIHF. After that, the protein-protein interactions (PPE) network consisting of 113 proteins and 229 junctions made by the NIHF proteins and the hub proteins of the network were determined. Finally, NIHF-associated cell signaling pathway was established by considering the data obtained via FEA and PPE, from pathway databases and literature. The NIHF signaling pathway showed that the NIHF could be divided into six subgroups, and the first three subgroups, according to organization and number of members, were "FLT4/Ras/MAPK Signaling Pathway", "Ca⁺² Signaling Pathway", and "Bioenergetics and Metabolism". In conclusion, with this thesis, the list of genes and mutations that make up the monogenic genetic etiology of NIHF was compiled and by using this list and *in silico* analysis methods the map of the NIHF-related cell signal pathway and the potential subgroups of NIHF were determined.

Keywords: Cell signal pathway analysis, Functional enrichment analysis, Non-Immune Hydrops Fetalis (NIHF), Protein-protein interaction network

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yaşayan tüm organizmaların ortak özelliklerinden biri, genetik mirasını taşıyan canlıların sayısını üreme yoluyla arttırmak istemesidir. İnsanoğlu ise diğer canlılardan farklı olan düşünsel yeteneklerini kullanarak bu biyolojik sürecin temel unsurlarını ve mekanizmalarını keşfetmenin ve müdahale etmenin yollarını uzun yıllardır aramaktadır. İlk olarak Gregor Mendel'in bezelyeler üzerinde yaptığı çalışmalarını 1866 yılında sunarak kalıtımın temel ilkelerini ortaya koymasının ve Watson ve Crick'in 1953 yılında kalıtsal materyal olan DNA'nın yapısını belirlemesinin ardından geçen süreçte kalıtımın genetik ve biyolojik mekanizmaları hakkındaki bilgilerimiz hızla artmıştır (1). İnsan genom diziliminin ve organizasyonunun 2003 yılında tamamlanan İnsan Genom Projesi (İGP) ile bir diğer tarihi dönüm noktalarından birisini oluşturmuştur (2). İGP'nin sunduğu bilgiler sayesinde kalıtsal hastalıkların nedenlerinin araştırıldığı moleküler biyoloji ve genetik (veya tıbbi biyoloji ve genetik) araştırmaların önem kazandığı dönem başlamıştır. Bu süreçte genetik hastalıklarla ilişkili genler ve bu genlerden kodlanan moleküllerin biyolojik fonksiyonları tanımlanırken nükleotid dizileme teknolojileri, biyoenformatik analiz yöntemleri ve hatta insan genomuna müdahale edilmesini sağlayan çeşitli yöntemler de hızla gelişmiştir. Geline aşamada günümüzde mevcut olan bilgi ve teknoloji düzeyine rağmen nedeni bilinmeyen veya tedavi edilemeyen çok sayıda konjenital hastalık bulunması nedeniyle dünya genelinde çok sayıda birey çocuk sahibi olamamaktadır. Bu tez çalışmasında ele alınan non-immune hydrops fetalis (NIHF) etnik orijinden bağımsız olarak tüm dünyada 1:1 700-3 000 oranında görülme sıklığı, prenatal veya neonatal dönemde %50-98 oranında ölümle sonuçlanması ve tedavi edilemiyor olması nedenleriyle çok önemli bir konjenital hastalık durumundadır (3, 4).

NIHF, prenatal dönemde deri altı, akciğer zarı (plevra), kalp zarı (perikard) ve karın zarı (periton) boşluklarından en az ikisinde aşırı sıvı birikimi görülen ve bağışıklık sistemi yanıtı dışındaki mekanizmalarla ortaya çıkan ölümcül bir patolojidir (3, 4). NIHF, uzun yıllardır biliniyor olup zamanın bilgi birikimine ve teknolojik imkanlarına göre önceleri NIHF'li fetüslerdeki morfolojik farklılıklar üzerinde durulmuş, daha sonraları NIHF'li fetüslerde NIHF ile birlikte görülen sorunlar tanımlanıp gruplandırılmıştır. Genetik alanındaki gelişmelerle birlikte çeşitli kromozomal anomalilerin ve tek gen varyasyonlarının NIHF'nin genetik etiolojisinde yer aldığı belirlenmiş ve özellikle son yıllarda yeni nesil DNA dizileme ve biyoenformatik alanındaki gelişmeler sayesinde de çok sayıda farklı

gendeki tek gen varyasyonları NIHF oluşumuyla ilişkilendirilmiştir. Bu bilgiler ışığında günümüzde çeşitli kromozom anomalilerinin ve enfeksiyonların NIHF oluşmasına neden olduğu ama NIHF etiyojisinin büyük bir kısmının çok sayıda farklı tek gen mutasyonu ile ortaya çıktığı bilinmektedir. Öte yandan, bilimsel literatürde bu durumu ortaya koyan çok sayıda makale ve derleme bulunmasına rağmen NIHF'nin monogenik etiyojisini oluşturan genlerin ve mutasyonların neler olduğunu ortaya koyan yayınlar arasında büyük farklılıklar görülmekte ve bu nedenle NIHF'nin genetik etiyojisinin kanıta dayalı listesi bilinmemektedir. Oysa bu veriler bilimsel literatürdeki münferit yayınlarda bulunmakta olup literatürün taranıp derlenmesiyle hazırlanabilir durumdadır. Bu bağlamda tez çalışmasında ilk olarak hakemli dergilerde yayımlanmış yayınları tarayarak Amerikan maternal-fetal tıp topluluğu'nun (SMFM) tanı kriterlerine uyan hastalarda NIHF ile ilişkilendirilen genlerin ve mutasyonların kanıta dayalı listesinin hazırlanması hedeflenmiştir. NIHF'nin günümüzde hala genetik yöntemlerin yaygınlaştığı dönemlerin öncesinde yaygın olarak kullanılan yöntemler kullanılarak NIHF ile birlikte sıklıkla gözlenen patolojilere dayalı olarak ele alınıyor olması nedeniyle tez çalışmasının bir sonraki basamağında yeni bir yaklaşımı ele alarak NIHF gen listemizdeki genlerin daha önceden ilişkilendirildiği genetik hastalıkların vücutta etkiledikleri yerlere dayalı olarak gruplandırılması hedeflenmiştir. Tez çalışmasının bir sonraki basamağında NIHF'nin moleküler etiyopatogenezinin aydınlatılmasına yönelik in silico biyoenformatik analizlerin gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir. NIHF ilişkili sinyal yolağını belirleyebilmek için ilk olarak NIHF ilişkili proteinlerin bilinen fonksiyonlarına ve hücre içinde bulundukları konumlara göre istatistiksel olarak zenginleştiği biyolojik süreçlerin belirlenmesi hedeflenmiştir. Ardından NIHF ilişkili proteinlerin yaptıkları protein etkileşimlerine dayalı olarak öne çıkan proteinlerin belirlenmesi hedeflenmiştir. Son olarak, elde edilen veriler, literatürdeki veriler ve yolak veri tabanlarındaki veriler dikkate alınarak NIHF ilişkili hücre sinyal yolağının belirlenmesi hedeflenmiştir. Sonuç olarak, çok sayıda farklı tek gen mutasyonunun prenatal dönemde ortak patolojiye neden olması, NIHF genlerinin bir hücre sinyal yolağının farklı bileşenlerini kodluyor olabileceği düşüncesini doğurmuştur; bu tez çalışmasıyla NIHF'nin monogenik etiyojisinin belirlenmesi ve bu genlerden kodlanan proteinler hakkında bilinenlerin çeşitli sistem biyolojisi ve biyoenformatik yöntemlerle analiz edilmesiyle NIHF ilişkili hücre sinyal yolağının ve potansiyel alt gruplarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Genetik faktörlerin rol oynadığı hastalıklar üç ana gruba ayrılır. Bunlar multifaktöriyel hastalıklar, kromozom anomalileri ve tek gen hastalıklarıdır. Multifaktöriyel hastalıklar genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkan hastalıklardır. Kromozom anomalileri, kromozomlardaki sayısal ve yapısal değişikliklerin neden olduğu hastalıklardır. Tek gen hastalıkları (monogenik hastalıklar) ise, tek bir gendeki mutasyonun neden olduğu genetik hastalıklardır. Tek gen hastalıkları sıklıkla mendelyen kalıtım kalıbı ile uyumluluk gösterirler. Monogenik hastalıklarda bir gendeki mutasyonun farklı bireylerde farklı fenotiplere neden olması klinik heterojenite; farklı genlerdeki mutasyonlar sonucunda aynı veya benzer fenotip görülmesi genetik heterojenite olarak adlandırılmaktadır (5).

Genetik, biyoenformatik ve bilişim sistemleri alanlarında son yıllarda yaşanan olumlu gelişmelerle birlikte günümüzde birçok genetik hastalığın etiyolojisi tanımlanmıştır. Buna ek olarak, preimplantasyon genetik tanı alanındaki olumlu gelişmeler sayesinde insan genetiği araştırmalarıyla elde edilen bilgilerden yararlanılarak genetik hastalıkların önlenmesine katkı sağlanmaktadır. Öte yandan, tüm bu olumlu gelişmelere rağmen şimdiye kadar tanımlanmış olan 6000'den fazla genetik hastalıktan sadece yaklaşık 600 tanesi tedavi edilebilmektedir (6, 7). Genetik hastalıkların tedavi edilebilirliğinin düşük olmasının sebeplerinden biri, hastalıkların çoğunda hastalığa neden olan moleküler mekanizmalarının aydınlatılamamış olmasıdır. Nitekim, tüm genetik hastalıkların tedavisi genetik müdahale gerektirmeyip kanser, kistik fibroz, talasemi gibi bazı hastalıklarının tedavisinde kullanılan akıllı ilaçlar, immünoterapi, kemoterapi, gen terapi, kök hücre nakli yaklaşımlarında olduğu gibi hastalığın etiyopatogeneze özgü moleküler hedefli farklı tedavi yaklaşımları da başarıyla uygulanabilmektedir (8-10). Genetik hastalıklara özgü başarılı tedavi yaklaşımlarının geliştirilebilmesi için öncelikli olarak genetik hastalıkların etiyolojisinde yer alan genlerin ve mutasyonların tespit edilmesi ve bu genlerden kodlanan proteinlerin fonksiyonlarının belirlenmesi gerekmektedir. Bu nedenlerle genetik hastalıkların önlenmesine ve tedavi edilebilmesine yönelik araştırmalarda ilk olarak bu hastalıkların genetik etiyolojilerinin aydınlatılmış olmasına ihtiyaç duyulmaktadır (5).

Non-immune hidrops fetalis (NIHF), etiyolojisinde monogenik varyasyonların, kromozomal anomalilerin ve çevresel faktörlerin rolü bulunan bir patoloji olup, genetik etiyolojisi ve moleküler etiyopatogenezi bilinmemektedir.

2.1. Hidrops Fetalis

Hidrops fetalis (HF), fetal yumuşak dokularda ve seröz boşluklarda aşırı sıvı birikimine (hidrops: Yunanca su toplama) verilen addır (3). Bu tanımlamaya uyan fetal bulguların ilk kez 1892 yılında yayımlanan “The diseases and deformities of the foetus” adlı çalışmada geçmesi nedeniyle HF’nin bilimsel literatürünün bu tarihten itibaren başladığı değerlendirilmektedir (11). Geçen zaman içinde elde edilen bilimsel veriler göz önünde bulundurularak 1943 yılında HF’nin iki alt sınıfa ayrılması gerektiği ileri sürülmüş olup, bu yaklaşım hala geçerliliğini korumaktadır (12).

HF, prenatal ve neonatal dönemlerde görülebilen; deri altı, akciğer zarı (plevra), kalp zarı (perikard) ve karın zarı (periton) boşluklarından en az ikisinde aşırı sıvı birikimiyle karakterize ölümcül bir patolojidir (3). HF, Online Mendelian Inheritance In Man (OMIM) veri tabanında (OMIM No: #236 750) bir hastalık değil patoloji olarak nitelendiriliyor olmakla birlikte nadir hastalıklar ve yetim ilaçlar portalında (Orphanet) (13) bir hastalık olarak sınıflandırılmıştır (ORPHA No: 1041). Klinikte, bu iki farklı yaklaşımdan yaygın olarak geçerliliğini koruyan sınıflandırma HF’nin bir patoloji olduğu şeklindedir. HF tanısı, gebeliğin 10-16. haftalarından itibaren ultrasonografiyle belirlenebilmektedir. Ultrason bulguları HF’yi düşündüren gebeliklerde doğru tıbbi hizmetin sunulabilmesi için HF’nin iki alt tipinden hangisi olduğu belirlenmeye çalışılmaktadır. Bunun için ebeveynlerin kan grupları ile Coombs testi adı verilen biyokimyasal bir test verileri dikkate alınmaktadır (3, 4, 14). Buna göre HF’nin immünolojik yanıt nedeniyle ortaya çıkan alt tipine “immün hidrops fetalis (IHF)” ve bunun dışında kalan tipine ise immün yanıt dışında ortaya çıkan hidrops fetalis anlamında “non-immune hidrops fetalis (NIHF)” adı verilmektedir.

2.1.2. İmmün Hidrops Fetalis

IHF (ORPHA No: 364 013), Eritroblastosis Fetalis (EF)’in (halk arasında “kan uyuşmazlığı” olarak bilinir) ilerlemesiyle ortaya çıkmaktadır. EF, annenin Rhesus (Rh) antijeni bakımından negatif (-), fetüsün ise Rh pozitif (+) olması durumunda, annede fetüsün eritrositlerinin yüzeyindeki Rh faktörlerini tanıyan Rh(D) immunoglobulin üretilmesiyle gelişir. Bu antikorların fetüsün kanındaki eritrositlere bağlanıp eritrositleri parçalaması sonucunda fetal anemi, fetal aneminin ilerlemesi ile de IHF ortaya çıkar (15-17). IHF’nin etiyopatogenezinin biliniyor olması sayesinde moleküler hedefli tedavi yöntemi geliştirilmiş olup, Rh alloimmünizasyonu tespit edilen gebeliklerde anti-Rh(D) IgG antikorunun uygulanmasıyla IHF ve bağımlı ölümler önlenmektedir (4, 17). Bununla birlikte, anti-

Rh(D) IgG antikor muamelesinin etkili olamadığı IHF hastaları da bulunabilmektedir. Bu bireylerde, Rh antijeni dışındaki popülasyonda daha az bulunan eritrosit yüzey antijenleri (Kell, Duffy, Kidd, MNSs antijenleri gibi) veya yine eritrositlerin yüzeyinde bulunarak immünolojik yanıtı tetikleyebilen mutant CD36 antijeni gibi farklı eritrosit yüzey faktörlerinin bulunabildiği belirlenmiştir (3, 18-20). IHF'nin genellikle henüz ortaya çıkmadan ve büyük oranda tedavi edilebiliyor olması nedeniyle, günümüzde rapor edilen IHF vakaları toplam HF vakalarının en fazla %10'luk kısmını oluşturmakta, HF tanılı vakaların %90'ını ise NIHF tanılılar oluşturmaktadır (21).

2.1.3. Non-İmmün Hidrops Fetalis

NIHF (ORPHA No: 363 999; OMIM No: #236 750), HF'nin bağışıklık yanıtı dışındaki nedenlerle ortaya çıkan alt tipidir. NIHF'nin görülme sıklığı ve mortalite oranı, farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalara ve hasta sayısına bağlı olarak değişkenlik göstermekte olup, NIHF'nin görülme sıklığının 1/1700-3000, mortalite oranının ise %50-98 arasında olduğu rapor edilmektedir (3, 4, 22-26). NIHF'li fetüslerin gelişimlerinde çeşitli ağır anormallikler görülebilmesi ve NIHF'li gebeliğin sürdürülmesinin fetüsün yanında annenin yaşamını da tehdit edebilmesi nedeniyle, gebelik sırasında NIHF tanısı koyulduğunda gebeliğin tıbbi müdahaleyle sonlandırılması tavsiye edilmektedir (14). NIHF, OMIM veri tabanında çok sayıda farklı genetik hastalık sonucunda ortaya çıkan bir patoloji olarak nitelendirilirken, Orphanet'te nadir hastalık olarak nitelendirilmektedir. NIHF'nin sınıflandırılmasına ilişkin bu farklılığın temelinde NIHF bulgulu hastalarda sıklıkla çok çeşitli başka hastalıkların ve patolojilerin gözlenmesidir (3, 4, 14, 26). NIHF'nin çok sayıda farklı patolojik durumla birlikte görülebilmesi, NIHF'nin oluşum mekanizmasının aydınlatılması hususunda önemli bir zorluk oluşturmaktadır. Buna ek olarak, NIHF'nin bir hastalık değil, etiyolojisini oluşturan hastalıkların ilerlemesiyle ortaya çıkan bir sonuç olduğu yönündeki klinik uygulamalarda geçerliliğini koruyan yaygın görüş de NIHF'nin tek başına ele alınarak etiyopatogenezinin aydınlatılmasını uzun yıllardır sınırlandıran bir diğer önemli sorundur.

NIHF'nin etiyolojisine ilişkin yapılan çalışmalarla NIHF'li hastalarda çok çeşitli patolojilerin görüldüğü rapor edilmiştir. Amerikan maternal-fetal tıp topluluğu (SMFM) NIHF'li hastaların % 17-35'inde kardiyovasküler sorunların, % 7-16'sında kromozomal anomalilerinin, % 4-12'sinde hematolojik sorunların, % 5-7'sinde enfeksiyonların, % 6'sında torasik sorunların, % 3-10'unda ikizden ikize transfüzyonun, % 2-3'ünde idrar yolu

anormalliklerinin, % 0.5-4'ünde gastrointestinal sorunların, % 5-6'sında lenfatik displazinin, % 2-3'ünde tümörlerin, % 3-4'ünde iskelet displazilerinin, % 3-4'ünde sendromların, % 1-2'sinde metabolik sorunların görüldüğünü ve hastaların % 15-25'inin idiyopatik olduğunu belirtmektedir (3). Bu veriler doğrultusunda birden fazla geni etkilemesi nedeniyle kromozomal anomalilerinin, çevresel etiyolojiyi oluşturması nedeniyle enfeksiyonların ve ikizden ikize transfüzyonun dışlanması durumunda geriye kalan %67-85'lik etiyolojinin tek gen varyasyonları nedeniyle fetal dönemde görülebilmesi sebebiyle NIHF'nin büyük bir kısmının tek gen varyasyonlarıyla ortaya çıktığı fikri literatürde sıklıkla ifade edilmektedir (3, 27, 28).

Mortalite ve insidans oranlarının yüksek olması, genetik etiyolojisinin aydınlatılmamış olması, moleküler mekanizmasının bilinmemesi ve özgün tedavi yönteminin bulunmuyor olması gibi nedenlerle NIHF güncelliğini koruyan bir araştırma konusudur. Özellikle son yıllarda yeni nesil DNA dizileme (NGS) ve biyoenformatik veri analizi yöntemlerinde yaşanan olumlu gelişmelerle birlikte, birçok farklı tek gen varyasyonunun NIHF oluşumuna neden olduğunu ortaya koyan çok sayıda yayın yakın zamanlarda literatürde girmiştir (29-32). Bu münferit çalışmalara rağmen, NIHF'nin genetik etiyolojisinde yer alan genlerin ve mutasyonların kanıta dayalı listesi ve toplam sayısı hala kesin olarak bilinmemektedir. Human Phenotype Ontology (HPO) ve DisGeNET gibi hastalıklarla ilişkili gen listelerinin sunulduğu veri tabanlarında ve yeni nesil dizileme panellerinde 45 ile 1010 arasında değişen farklı sayıda genin NIHF'nin genetik etiyolojisinde yer aldığı belirtilmektedir (33-37). Buna ek olarak, NIHF'nin genetik etiyolojisinin derlenmesi amacıyla yapılan yayınlarda uzun yıllardır uygulanan ve süregelen yaygın yaklaşım ise NIHF ile ilişkilendirildiğine dair kanıt bulunan genler ve mutasyonlar üzerinde değil, NIHF'li bireylerde NIHF'ye sıklıkla eşlik eden hastalık grupları üzerinde durularak hastalığın etiyolojisinin derlenmesi şeklindedir (30, 38-40). Son yıllarda yayımlanan derlemelerde ise NIHF ile ilişkilendirilen tek gen varyasyonları hakkında artan veriler dikkate alınarak, NIHF'nin genetik etiyolojisinin derlenmeye çalışıldığı görülmektedir. Öte yandan, söz konusu güncel derlemelerde NIHF'nin genetik etiyolojisinde yer aldıkları belirtilen genlerin referanslarının verilmediği, yada SMFM klinik rehberdeki tanı kriterlerine uyulmadığı bu nedenle farklı yayınlarda birbirleriyle çelişen sayıda genlerin yer aldığı da görülmüştür. Buna örnek vermek gerekirse, 2019 yılında yayımlanan bir derlemede (30) Zellweger sendromuyla ilişkili olduğu bilinen ve NIHF ile de ilişkili olduğu yazılan *PEX1*, *PEX2*, *PEX3*, *PEX5*, *PEX6*, *PEX10*, *PEX11B*, *PEX12*, *PEX13*, *PEX14*, *PEX16*, *PEX19* ve

PEX26 isimli 13 gene ait literatür verilerini incelediğimizde sadece *PEX3*'ün NIHF ile ilişkili olduğu (41) ve Zellweger sendromuyla ilişkili olan diğer 12 genin kanıta dayalı olmadan NIHF etiyolojisiyle ilişkilendirildiği görülmüştür. Aynı yayındaki bir diğer örnekte; Meckel Gruber sendromu ile ilişkili olduğu bilinen ve NIHF ile de ilişkili olduğu belirtilen *B9D1*, *B9D2*, *CC2D2A*, *CEP290*, *MKS1*, *RPGRIP1L*, *TMEM67* ve *TMEM216* isimli sekiz gene ait literatürdeki çalışmaları incelediğimizde, bu genlerin kanıta dayalı olmayarak NIHF etiyolojisiyle ilişkilendirildiği belirlenmiştir (30). Ayrıca, NIHF'nin genetik etiyolojisi ile ilişkili olduğu bilinen *GBE1*, *KRAS* ve *PPP3CA* gibi genlerin ise dahil edilmediği görülmüştür (42-44). Ek olarak, benzer sorunların yakın tarihli başka yayınlarda da olduğu tespit edilmiştir. 2020 yılında yayınlanan başka bir çalışmada (31) NIHF'nin yeni nesil DNA dizileme yöntemiyle belirlenmesi amacıyla geliştirilen 119 genlik NIHF tanı panelinde yer alan genlerden bazılarının (Ör; *BLOC1S3*, *CLN3*, *GNPTG* gibi) NIHF ile ilişkili olduklarını ortaya koyan herhangi bir literatür verisi bulunmamasına rağmen panelde yer aldığı, öte yandan NIHF ile ilişkili olduğu bilinen genlerin (Ör; *AHCY*, *BICD2* ve *PSAT1* gibi) ise gen listesinde yer almadığı görülmüştür. 2021 yılında yayımlanan başka bir çalışmada (29) da önceki örneklerle benzer şekilde NIHF'nin genetik etiyolojisinde yer aldıklarına ilişkin herhangi bir kanıt olmayan genlerin NIHF ile ilişkilymiş gibi listelendiği ve hastalıkla ilişkili olan genlerin ise yayınlanan listede yer almadığı görülmüştür. Yakın tarihli olmaları nedeniyle öne çıkarılan bu örnek yayınların haricindeki diğer NIHF ilişkili yayınlarda da ortak olarak göze çarpan problem, kanıta dayalı olmadan genlerin NIHF ile ilişkilendirildiği veya NIHF etiyolojisinden dışlandığı çalışmalar olmalarıdır. Bu nedenle veri tabanları ve derlemelerdeki bilgileri direkt kullanarak NIHF ile ilişkili genlerin ve varyasyonlar listesi belirlenmemektedir. NIHF ilişkili gen listesinin kesin olarak bilinmiyor olması, NIHF'nin moleküler mekanizmasının aydınlatılması sürecini de sınırlandırmaktadır. Bu durum, NIHF tanılı ailelere fayda sağlayacak tıbbi yaklaşımların geliştirilebilmesini sınırlandırmakta olup, uzun yıllardır dünya genelinde tanımlanan NIHF bulgulu gebeliklere yönelik yaygın tedavi seçeneği olarak hala gebeliğin tıbbi müdahaleyle sonlandırılması yöntemi sunulmaktadır. Oysa NIHF'nin immün yanıt nedeniyle ortaya çıktığı bilinen benzer hastalığı olan IHF'nin moleküler mekanizması bilimekte ve henüz IHF bulguları gelişmeden fetal dönemde moleküler hedefli antikör uygulamasıyla IHF ortadan kaldırılabilir.

Her ne kadar birbirleriyle uyumluluk göstermeseler de bilimsel literatürdeki yayınlarda ve veri tabanlarında çok sayıda farklı gendeki tek gen varyasyonun NIHF ile ilişkilendiriliyor olması NIHF'nin genetik olarak heterojen olduğuna, etiyopatogenezinin

çok bileşenli ve karmaşık olduğuna işaret etmektedir. Özellikle son yıllarda, biyoenformatik, bilişim teknolojileri ve biyoteknoloji alanlarında yaşanan gelişmeler sayesinde kanser ve otizm gibi etiyolojisinde çok sayıda bileşen yer alan karmaşık hastalıkların mekanizmalarının aydınlatılmasında ve bu hastalıklara özgü yeni tanı ve tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde hastalık mekanizmasında rol oynayan bileşenlerin bira arada gözlenip analiz edilebileceği yeni yaklaşımlar uygulanmaktadır (45-49). Sistem biyolojisi araştırma yöntemleri, günümüzde bu amaçla kullanılan ve başarılı sonuçlar veren *in silico* bir yaklaşımdır.

2.2. Sistem Biyolojisi

Sistem biyolojisi, çok sayıda biyolojik molekülün ve/veya hücrelerin birbirleriyle fonksiyonel ilişki içinde olduğu karmaşık sistemlerin bütüncül yaklaşımlı modeller oluşturarak incelendiği bir araştırma yaklaşımıdır. Sistem biyolojisi yaklaşımlarıyla, sistemin parçaları ve birbirleriyle olan ilişkileri hakkında bilinenlerden yola çıkıp bütüne doğru ilerleyerek sistemin anlaşılmasını sağlayacak modeller geliştirilmektedir. Bilgisayar teknolojilerinin yardımıyla hazırlanan sistem modelleri günümüzde başta sağlık ve biyoteknoloji alanları olmak üzere birçok alanda ilerlemeler yaşanmasına katkı sağlamaktadır. Günümüzde, hastalıkların moleküler mekanizmalarının sistem biyolojisi yöntemleriyle araştırılması amacıyla sıklıkla üç temel yaklaşım uygulanmaktadır. Bunlar; gen ontoloji verilerine dayalı fonksiyonel zenginleşme analizleri (FZA), protein-protein etkileşimi (PPE) ağlarının oluşturulması ve hastalığa özgü sinyal yolağı oluşturulmasıdır (50-52).

FZA, belirli bir gen listesinin (gen seti) önceden belirlenmiş çok sayıdaki gen setleri arasında hangi oranda bulunduğu (zenginleştiğinin) istatistiksel olarak belirlenmesini sağlayan bir yöntemdir (53). Buna göre FZA yapılabilmesi için öncelikle gen setleri kümesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla en sık olarak Gene Ontology (GO) veri tabanındaki gen setleri kullanılmaktadır (54). GO veri tabanında, genler ve proteinler hakkında daha önceden yapılmış araştırmalarla elde edilen bilimsel verilere dayanarak moleküller biyolojik süreçler, moleküler fonksiyon ve hücrede yer aldıkları yerlere göre üç ana kategori altında gen setleri halinde düzenlenmiş durumdadır. Yeni bilimsel gelişmeler dikkate alınarak GO veri tabanındaki gen setleri sürekli olarak güncellenmekte ve gen setleri açık erişimle sunulmaktadır. Bu nedenle GO veri tabanındaki gen setleri FZA çalışmalarında ihtiyaç duyulan gen seti evreni olarak en sık kullanılan veri tabanı durumundadır. Bununla

birlikte istenirse GO veri tabanı yerine yolak veri tabanları, moleküler etkileşim ağları veri tabanları ve hastalık (veya fenotip) veri tabanları gibi ihtiyaca özgü farklı veri setleri de kullanılabilir. FZA, istatistiksel analizlerin yapılması için, girdi olarak kullanıcıların tanımladığı bir gen listesine ihtiyaç duymaktadır. Bu gen listesi, belirli bir hastalıkla ilişkilendirilen genlerin listesi, RNA dizileme veya mikrodizin analizleriyle elde edilen ekspresyonu değişen genlerin ekspresyon değerli listesi veya gen sembolleri içermek koşuluyla herhangi bir özgün yaklaşımla oluşturulan her türlü gen listesi olabilmektedir. FZA yapılarak, girdi olarak sunulan gen listesinin incelenen evrendeki tüm gen setleri içinde hangi oranda örtüştüğü (zenginleştiği) istatistiksel değerlerle birlikte belirlenmektedir (55). Temel çalışma prensipleri aynı olmakla birlikte bazı algoritma farklılıklarına sahip çok sayıda FZA aracı bulunuyor olup, bunlardan en yaygın olarak kullanılanları GSEA (53), g:Profiler (56), WebGestalt (57) ve Enrichr (58) araçlarıdır. FZA, temelde basit bir yaklaşıma dayanıyor olmasına rağmen bilgisayarların hesaplama gücünü kullanarak bir gen setinin ön yargısız, istatistiğe dayalı ve hızlı bir şekilde analiz edilerek karmaşık sistemlerin anlaşılmasına son derece büyük katkı sağlıyor olması nedeniyle günümüzde kullanımı giderek artmaktadır.

PPE ağlarının oluşturulması, çok bileşenli karmaşık sistemlerdeki proteinlerin birbirleriyle olan etkileşimlerinin analiz edilmesi amacıyla sistem biyolojisinde sıklıkla kullanılan bir diğer uygulamadır. Küçük veya büyük ölçekli ıslak laboratuvar deneylerinin verilerine göre birbirleriyle etkileştiği belirlenen proteinlere ilişkin veriler Human Protein Reference Database (59), Database of Interacting Proteins (60), Molecular Interaction Database (MINT) (61), IntAct (62), ve BioGRID (63) gibi çeşitli PPE veri tabanlarında saklanmaktadır. Bu veri tabanlarındaki PPE verileri sayesinde araştırmacılar kendi protein listeleriyle PPE ağları oluşturulabilmekte ve analiz edebilmektedir. Bu veri tabanları arasında en çok kullanılanı, PPE ağı oluşturmada sağladığı kolaylıklar nedeniyle, STRING veri tabanıdır (64). PPE ağları, matematiksel olarak grafiğe dönüştürülmüş, kenarlar (edges) aracılığıyla birbirine bağlı düğümlerden oluşmaktadır. PPE ağlarında proteinler "düğüm" ve proteinler arasındaki bağlantılar ise "kenar" olarak adlandırılır. PPE ağları üzerinde yapılan analizlerin başında ağda kilit rol oynayan proteinlerin belirlenmesi analizleri gelmektedir. Bu amaçla sıklıkla "Derece (Degree)" ve "Arasındalık(Betweenness)" merkezilik ölçütleri dikkate alınmaktadır. Derece, bir düğümün diğer düğümlerle yaptığı bağlantı sayısını belirtirken; Arasındalık, bir düğümün ağda ne kadar merkezi olduğunun bir ölçüsüdür. Bu nedenle, Arasındalık değeri yüksek olan düğümler, ağı farklı bölümleri arasında köprü

görevi görmeleri bakımında ağda önemli rol oynarken (65), ağda diğer proteinlere kıyasla ortalamadan çok daha yüksek Dereceye sahip bir düğüm “hub/merkez” olma potansiyeli taşıması nedeniyle önemlidir. Çok sayıda proteinin rol oynadığı karmaşık biyolojik etkileşimlerin bir arada kolaylıkla görülebilmesi ve merkezi proteinlerin belirlenebilmesi nedeniyle PPE ağlarının oluşturulması ve analizi çalışmalarının sayısı son yıllarda giderek artmaktadır (66).

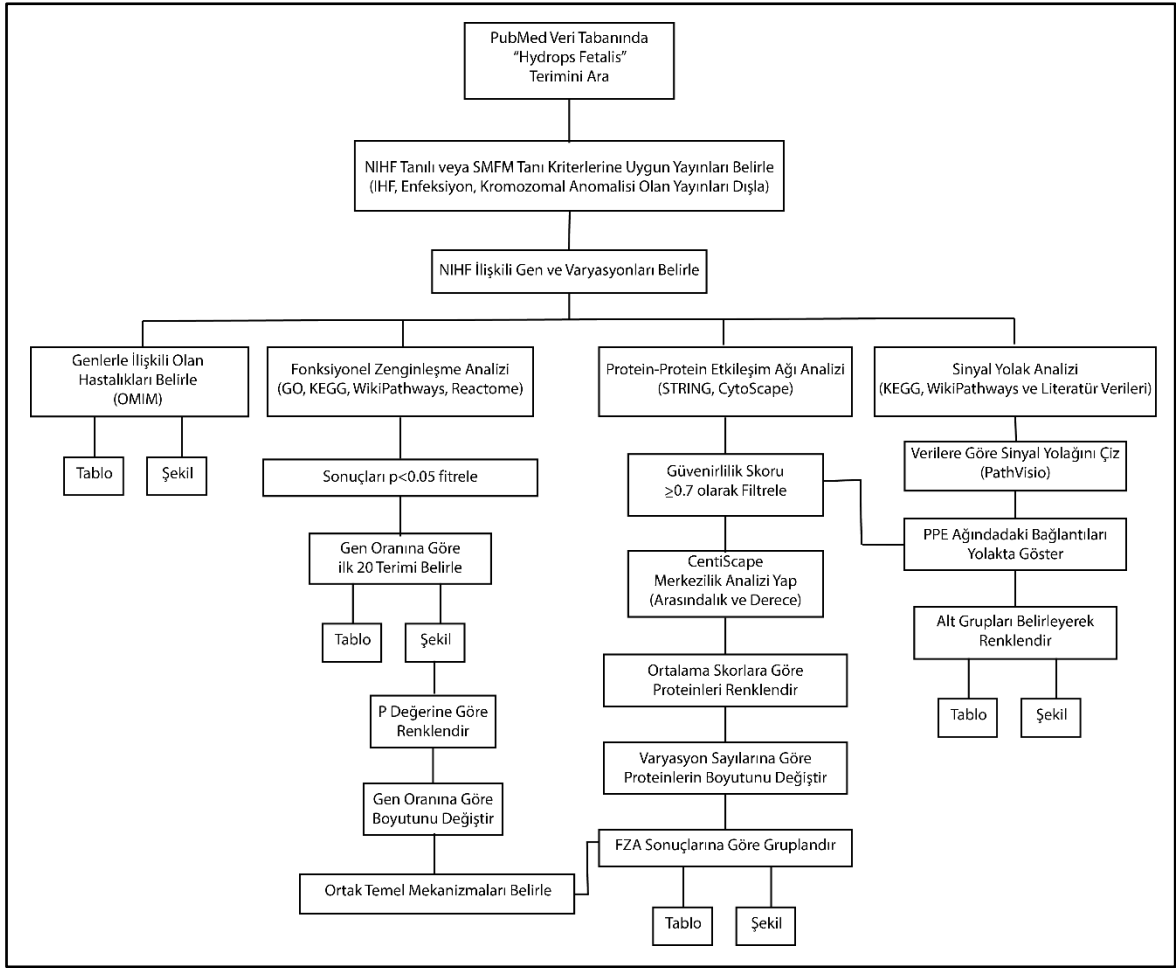
Sinyal yollarının tamamının veya bir bölümünün sürekli aktif veya baskılanmış durumda kalması ya da normalde işlevsel olmayan alternatif bağlantıların oluşması gibi normal yolak aktivitelerinin bozulduğu durumların çok sayıda yaygın veya nadir hastalığa neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle hastalıkların moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesine ve araştırılmasına katkı sağlayacak hem sağlıklı hem de hastalıklarla ilişkili sinyal yolağı modellerinin oluşturulmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Hücre sinyal yolağı oluşturulması çalışmaları FZA ve PPE ağ analizlerine kıyasla, biyolojik süreçlerin üst ve alt akım hiyerarşilerinin kurulması, aktivasyon, inhibisyon ve post translasyonel modifikasyon değişimi gibi süreçlerin görselleştirilebilmesi ve enzimatik reaksiyonlara ve metabolitlere de yolakta yer verilebilmesi gibi çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Şimdiye kadar gerçekleştirilen bilimsel araştırmaların verilerine dayalı olarak, sinyal yolak analizlerinde kullanmaya uygun bir şekilde paylaşıldığı çeşitli veri tabanları bulunmaktadır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanları Kyoto Genler ve Genom Ansiklopedisi (KEGG), Wikipathways ve Reactome veri tabanlarıdır (67-69). Sinyal yolak analizlerini gerçekleştirmek amacıyla araştırmacılar çeşitli araçlar yardımıyla yollar üzerinde gen ifadesi artan/azalan genlerin veya hastalıklarla ilişkili mutasyonlar belirlenenlerin görselleştirilmesini yapabilmekte ya da veri tabanlarındaki bilgileri temel alarak sıfırdan yollar oluşturup analizler yapabilmektedir. Hem hastalıklarla ilgili mekanizmaların gerçeğe yakın ve kolay anlaşılır görsellerinin sağlanması, hem de yolların matematiksel modellerinin geliştirilmesine imkân tanınması nedeniyle hastalıklarla ilişkili sinyal yolak analizleri son yıllarda giderek yaygınlaşan bir sistem biyolojisi yaklaşımıdır.

NIHF hakkındaki literatür verileri, NIHF’nin genetik etiyolojisinde çok sayıda genin yer aldığını ancak bu genlerin kanıta dayalı listesinin belirlenmemiş olduğunu ortaya koymaktadır. Çok sayıda farklı gendeki tek gen varyasyonunun aynı fenotip olan NIHF’ye neden olması, bu genlerin NIHF etiyopatogenezine yol açan ana bir sistemde birlikte rol oynadıklarını ve belirlenen mutasyonların bu sistemi bozarak NIHF’ye neden olduğunu

düşündürmektedir. Sistem biyolojisi biyoenformatik yöntemleri kullanarak, *in silico* analizlerle bir gen listesinden başlayarak hastalıklarla ilişkili olan mekanizmaları, kilit konumda yer alan elemanları ve karmaşık hastalıkların alt grupları belirlenebilmektedir. Bu tez çalışmamın amacı, NIHF'nin genetik etiyojijisinde yer alan gen listesini belirleyip, çeşitli *in silico* yöntemlerle analiz ederek, NIHF ile ilişkili hücre sinyal yolağının anlaşılmasına katkı sağlayacak veriler üretmektir.



3. GEREÇ ve YÖNTEM



Şekil 1. NIHF ile ilişkili hücre sinyal yolağının oluşturulmasında kullanılan akış şeması

NIHF ile ilişkili hücre sinyal yolağının oluşturulmasında kullanılan yöntemleri özetlemek amacıyla oluşturulan iş şeması Şekil 1’de verilmiştir.

3.1. NIHF’nin Genetik Etiyolojisinde Yer Alan Tek Gen Varyasyonlarının Belirlenmesi

3.1.1. NIHF İlişkili Genlerin Belirlenmesi

NIHF’nin genetik etiyolojisinde yer alan tek gen varyasyonlarını (NIHF ilişkili genlerin ve mutasyonların listesini) belirlemek için bilimsel literatürde yer alan ve hakemli dergilerde yayımlanan çalışmalar tarandı. PubMed internet sitesinde “Non-immune hydrops fetalis” ve “Hydrops fetalis” kelimeleri aratıldığında çıkan tüm yayınlar incelemeye alındı. Bu çalışmalarda SMFM tarafından önerilen ve halen geçerli olan NIHF tanı kriterlerine uyan hidrops vakalarına (ultrasografiyle deri altı ödemi (5 mm’den fazla kalınlaşma), plevral

efüzyon, perikardiyal efüzyon ve asit birikimi bulgularından en az ikisinin tespit edildiği vakalar) ait bulgular ile makalede hasta tanısı direkt NIHF olarak belirtilen vakalara ait bulgular dikkate alındı (3). Buna ek olarak, IHF tanısı olan, kromozom anomalisi olan (birden fazla geni etkilemesi nedeniyle) ve enfeksiyon öyküsü olan (NIHF'ye neden olduğu bilinen Parvovirüs B19, Toksoplazmoz, Sitomegalovirüs, Kızamıkçık, Herpes virüsü, Frengi, Suçiçeği, Adenovirüs, Cocksackie virüsü, Leptospiroz, Trypanosoma Cruzi, Listeria, Solunum Sinsityal virüsü, Konjenital Lenfositik Koriomenenjit virüsü gibi) (70-72), vakalara ait veriler ile ailede NIHF öyküsü bulunmasına rağmen NIHF'li hastanın kendi genomik DNA'sı kullanılmayan genetik çalışmalara ait veriler çalışmaya dahil edilmedi. Bu kriterlere uyan hastalarda NIHF ile ilişkilendirilen tek gen varyasyonlarına ait gen sembolü, DNA varyasyonu, protein varyasyonu, zigotluk, kalıtım kalıbı ve hastaya ait bulgular tek bir tabloda ilgili referanslarıyla birlikte düzenlendi. Varyasyonların, Human Genome Variation Society (HGVS)'nin yazım kuralları uygun olarak yazıldı (73).

3.1.2. NIHF İlişkili Genlerin Daha Önceden İlişkilendirildiği Diğer Genetik Hastalıkların ve Hastalık Gruplarının Belirlenmesi

NIHF genlerinin ilişkilendirildiği diğer genetik hastalıkların listesi OMIM veri tabanındaki bilgiler kullanılarak hazırlandı. Aynı hastalığın genetik etiolojisinde yer alan farklı genler bir araya getirilerek hastalık alt grupları, bu alt grupların ortak olarak etkiledikleri sistemler dikkate alınarak da hastalık ana grupları belirlendi. Birden fazla hastalık ana gurubu tanımına uyan farklı genetik hastalıklarla ilişkili olan genlerin gruplara atanmasında, bu genlerin daha fazla sayıda üyesi olan hastalık alt gruplarına dahil edilmesi yaklaşımı uygulandı. Hazırlanan tablodaki verilere göre hazırlanan şekil Adobe Illustrator 2020 programı kullanılarak hazırlandı.

3.2. Fonksiyonel Zenginleşme Analizleri (FZA)

FZA'lar; GO, KEGG, Wikipathways ve Reactome ontoloji ve yolak veri tabanlarındaki verileri GeneSCF v1.1-p2 isimli araç kullanılarak gerçekleştirildi (54, 67-69, 74). GeneSCF programıyla, veri tabanlarının 01.02.2021 tarihinde erişim sağlanan verilerine göre zenginleşen terimler ve istatistiksel değerleri elde edildi. Çıkan sonuçlardan düzeltilmiş p değeri 0,05'ten küçük olanlar tutulup diğer sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olmamaları nedeniyle filtrelenerek dışlandı. Geriye kalan listelerde gen oranı (bir terimin içinde yer alan NIHF genlerinin toplam sayısının o terimdeki toplam gen sayısına bölünmesiyle elde edilen oran) en yüksek olandan en düşüğe sıralandı. Elde edilen listelerde ilk 20 sırada yer alan

terimlerin verileri tablolar ve grafikler halinde yeniden düzenlendi. Grafiklerin hazırlanmasında R programlama dilindeki ggplot2 kütüphanesi kullanıldı (75).

3.3. Protein-Protein Etkileşim (PPE) Ağı Analizleri

NIHF genlerinden kodlanan proteinlerin birbirleriyle yaptıkları PPE ağı STRING veri tabanındaki PPE verilerine dayalı olarak Cytoscape v3.8.2 programı (76) ve Cytoscape'in StringAPP eklentisi (77) kullanılarak belirlendi (erişim tarihi: 26.07.2021). PPE ağı oluşturulurken proteinlerin STRING veri tabanında $\geq 0,7$ değeriyle sınıflandırdığı yüksek güvenilirlik değerindeki etkileşimlere ait veriler kullanıldı. STRING veri tabanındaki tüm etkileşim verileri 0 ile 1 aralığındadır; 0 en düşük 1 en yüksek olacak şekilde kategorize edilmiştir (64, 78).

En az bir etkileşim yapan proteinlerle analize devam edildi. Girdi olarak kullandığımız NIHF genleri listemizdeki genlerin NIHF ile ilişkilendirilen farklı varyasyonlarının sayısına göre daha fazla sayıda NIHF ilişkili varyasyona sahip protein daha büyük olacak şekilde proteinlerin büyüklükleri yeniden düzenlendi. Ağda merkezi durumda bulunan proteinleri belirleyebilmek için CentiScaPe isimli ağ merkezilik eklentisi kullanıldı (79). Merkezilik ölçütleri olarak her bir proteinin Arasındalık (Betweenness) ve Derece (Degree) değerleri dikkate alındı. Derece, ağdaki bir proteinin diğer proteinlerle etkileşime girerek merkezi düzenleyici rol üstlenebilmesi ve bundan dolayı ilgili proteinin merkezi protein olabileceğinin ölçütüdür. Arasındalık, ağdaki proteinin, fonksiyonel olarak iletişim halindeki diğer proteinleri bir arada tutabilme kabiliyetini gösteren ölçüttür (79).

Bu ölçütlere göre ağın ortalama Arasındalık ve Derece değerleri hesaplandıktan sonra proteinlerin bu ortalama değerlerin üstünde veya altında skorlara sahip olmalarına göre ağdaki proteinler renklendirildi. Bu iki ölçüt bakımından ortalamanın altında kalan proteinler mavi, sadece bir ölçüte göre ortalamanın üstünde olan proteinler sarı ve her ikisi için ortalamanın üstünde olan proteinler ise kırmızı renkli olarak gösterildi. Son olarak, elde edilen PPE ağı sonucu ile FZA sonuçlarının birlikte değerlendirilebilmesi için FZA verilerine göre aynı grupta olan proteinlerin arka plan renkleri PPE ağında değiştirildi ve FZA sonuçlarına ilişkin sayılar eklendi.

3.4. NIHF İlişkili Sinyal Yolağının Belirlenmesi

NIHF ilişkili sinyal yolağı, KEGG (67) ve Wikipathways (68) yolak veri tabanlarındaki veriler ile henüz yolak veri tabanlarına girmemiş olan yeni literatür verilerine dayalı olarak PathVisio v3.3.0 programı (80) kullanılarak oluşturuldu. Bu kaynaklardaki verilerle uyumlu olacak şekilde her bir protein, hücrede lokalize olduğu yere ve diğer proteinlerle olan hiyerarşisine göre konumlandırıldı. Hazırlanan yolaktaki proteinlerin renklendirilmesi NIHF gen listesindeki genlerin varyasyon sayılarına göre yapıldı. Buna göre, NIHF ile ilişkilendirilen genlerden varyasyon sayısı en fazla olan koyu kırmızı olup, sadece bir varyasyonu olan gen yeşil renkte olacak şekilde renklendirme yapıldı.



4. BULGULAR

4.1. NIHF'nin Genetik Etiyolojisinde Yer Alan Genlerin ve Varyasyonların Listesinin Belirlenmesi

Literatürde, çok sayıda farklı tek gen mutasyonunun NIHF ile ilişkilendirildiği çalışma bulunmasına rağmen NIHF'nin monogenik etiyolojisini oluşturan genlerin ve varyasyonların kanıta dayalı bir listesi bulunmamaktadır. Bu nedenle, NIHF ilişkili sinyal yolağını belirleme amacımız doğrultusunda ilk olarak tek gen varyasyonlarıyla ortaya çıkan NIHF'lerin genetik etiyolojisini belirlenmeyi hedefledik. Bunun için, PubMed'de listelenen makaleler “Non-immune hydrops fetalis” ve “hydrops fetalis” kelimeleriyle aratılınca listelenen toplam 3.670 makaleyi inceledik. Bu makalelerde NIHF'nin tanısının koyulmasında önerilen kriterlere uyan vakaların (fetüste ultrasonografiyle genel deri altı ödemi (5mm'den fazla kalınlaşma), plevral efüzyon, perikardiyal efüzyon ve asit birikimi bulgularından en az ikisinin belirlendiği ve IHF'nin dışlandığı hidrops vakaları) verileri dikkate alınmış olup, çevresel etkiyle ortaya çıkması nedeniyle hastada veya annede enfeksiyon belirlenen ve birden fazla geni etkilemesi nedeniyle kromozom anomalisi belirlenen hastalara ait veriler çalışmadan dışlanmıştır. Bu ölçütlere göre yaptığımız literatür taraması sonucunda 175 farklı gendeki toplam 415 farklı tek gen mutasyonunun NIHF'nin genetik etiyolojisini oluşturduğu tespit edilip bir tabloda listelendi (Tablo 1).

Tablo 1. NIHF ile ilişkili tek gen varyasyonlarının listesi

No	Gen	DNA Varyasyonu	Protein Varyasyonu	Zigotluk	Kalıtım Modeli	NIHF Bulguları	Referanslar
1	AARS2	NM_020745.4:c.2027A>C	NP_065796.2:p.(Gln676Pro)	Hom	OR	NIHF	(81)
		NM_020745.4:c.[1774C>T];[647_647dupC]	NP_065796.2:p.[(Arg592Trp)];[(Cys218Leufs*6)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As, PIE), PH	(82)
2	ACAD9	NM_014049.5:c.[1109delC];[796C>T]	NP_054768.2:p.[(Pro370Leufs*13)];[(Arg266Trp)]	BHet	BOR	NIHF (PeE, As)	(32)
3	ACTA1	NM_001100.4:c.[49G>A];[49=]	NP_001091.1:p.[(Gly17Ser)];[(Gly17=)]	Het	OD	NIHF (PIE, As), PH	(83)
		NM_001100.4:c.[110T>G];[110T=]	NP_001091.1:p.[(Val37Gly)];[(Val37=)]	Het	OD	NIHF, PH	(84)
		NM_001100.4:c.[430C>T];[430=]	NP_001091.1:p.[(Leu144Phe)];[(Leu144=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(85)
4	ACTB	NM_001101.5:c.[209C>T];[209=]	NP_001092.1:p.[(Pro70Leu)];[(Pro70=)]	Het	OD	NIHF	(86)
		NM_001101.5:c.[220G>A];[220=]	NP_001092.1:p.[(Gly74Ser)];[(Gly74=)]	Het	OD	NIHF, PH	(87)
		NM_001101.5:c.[359C>T];[359=]	NP_001092.1:p.[(Thr120Ile)];[(Thr120=)]	Het	OD	NIHF, PH	
5	ADAMTS3	NM_014243.3:c.280C>T	NP_055058.2: p.(Arg94*)	Hom	OR	NIHF	(88)
6	AHCY	NM_000687.4:c.[145C>T];[257A>G]	NP_000678.1:p.[(Arg49Cys)];[(Asp86Gly)]	BHet	BOR	NIHF	(89)
		NM_000687.4:c.[322G>A];[982T>G]	NP_000678.1:p.[(Glu108Lys)];[(Tyr328Asp)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(90)
7	ALG1	NM_019109.5:c.773C>T	NP_061982.3:p.(Ser258Leu)	Hom	OR	NIHF	(91)
8	ALG8	NM_024079.5:c.[139A>C];[1090C>T]	NP_076984.2:p.[(Thr47Pro)];[(Arg364*)]	BHet	BOR	NIHF (PeE, As), OIH	(92)
						NIHF (DAÖ, PeE, As)	(93)
		NM_024079.5:c.[96-2A>G];[139A>C]	NP_076984.2:p.[?];[(Thr47Pro)]	BHet	BOR	NIHF (PeE, As)	(94, 95)
9	ALG9	NM_001077691.c.1075G>A	NP_079016.2:p.(Glu359Lys)	Hom	OR	NIHF	(96)
		NM_024740.2:c.1588G>A	NP_079016.2:p.(Glu530Lys)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PeE, As)	(97)
10	ALPK3	NM_020778.5:c.3175C>T	NP_065829.4:p.(Arg1059*)	Hom	OR	NIHF	(98)
11	ALPL	NM_000478.6:c.1559delT	NP_000469.3:p.(Leu520Argfs*86)	Hom	OR	NIHF	(99)
12	AMER1	NM_152424.4:c.1000G>T	NP_689637.3:p.(Glu334*)	Hem	XOR	NIHF	(100)
13	ASAH1	NM_177924.5:c.[917+4A>G];[917+4A=]	NP_808592.2:p.?	Het	OD	NIHF	(101)
14	ASCC1	NM_001198800.3:c.157_157dupG	NP_001185729.1:p.(Glu53Glyfs*19)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE)	(102)
		NM_001198800.3:c.871+1G>A	NP_001185729.1:p.?	Hom	OR	NIHF	(103)
		NM_001198799.3:c.[1027C>T];[exon7-10_del]	NP_001185728.1:p.(p.Arg343*);[?]	Bhet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE)	(104)
15	ATP11C	NM_173694.5:c.1675+2T>C	NP_775965.3:p.?	Hem	XOR	NIHF	(105)

Tablo 1. (Devam)

16	ATP1A2	NM_000702.4:c.835delC	NP_000693.1:p.(Arg279Glyfs*4)	Hom	OR	NIHF	(106)
		NM_000702.4:c.2104_2105delTG	NP_000693.1:p.(Cys702Serfs*12)	Hom	OR	NIHF	
17	BICD2	NM_001003800.2:c.[2081G>A];[2081=]	NP_001003800.1:p.[(Arg694His)];[(Arg694=)]	Het	OD	NIHF	(100)
		NM_001003800.2:c.[2100C>G];[2100=]	NP_001003800.1:p.[(Asn700Lys)];[(Asn700=)]	Het	OD	NIHF (PIE, As), PH	(83)
18	BRAF	NM_004333.6:c.[721A>C];[721=]	NP_004324.2:p.[(Thr241Pro)];(Thr241=)]	Het	OD	NIHF	(107)
		NM_004333.6:c.[1405G>A];[1405=]	NP_004324.2:p.[(Gly469Arg)];[(Gly469=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PeE, PIE)	(108)
		NM_004333.6:c.[1741A>C];[1741=]	NP_004324.2:p.[(Asn581His)];[(Asn581=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PeE, PIE), KH	(32)
19	BRAP	NM_006768.5:c.199C>T	NP_006759.3:p.(Arg67*)	Hom	OR	NIHF	(105)
20	CALCRL	NM_005795.6:c.614_616delTAG	NP_005786.1:p.(Val205del)	Hom	OR	NIHF, PH	(109)
21	CANT1	NM_001159772.2:c.228_229insC	NP_001153244.1:p.(Trp77Leufs*13)	Hom	OR	NIHF, KH	(110)
22	CBL	NM_005188.4:c.[1096-1G>T];[1096-1=]	NP_005179.2:p.?	Het	OD	NIHF (DAÖ, As, PIE), PH	(111)
		NM_005188.4:c.[1100A>C];[1100=]	NP_005179.2:p.[(Gln367Pro)];[(Gln367=)]	Het	OD		
23	CCBE1	NM_133459.4:c.223T>A	NP_597716.1:p.(Cys75Ser)	Hom	OR	NIHF (PIE, As), PH	(112)
		NM_133459.4:c.[c.335C>T];[683_684insT]	NP_597716.1:p.[(Thr112Ile)];[(Leu229fs*8)]	BHet	BOR	NIHF (PIE, PeE, As), KH	(113)
		NM_133459.4:c.398T>C	NP_597716.1:p.(Leu133Pro)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, As), PK	(114)
24	CDAN1	NM_138477.4:c.[1744C>T];[2140C>T]	NP_612486.2:p.[(Gln582*)];[(Arg714Trp)]	BHet	BOR	NIHF (PeE, As), PK	(115)
		NM_138477.4:c.2059C>T	NP_612486.2:p.(Arg687Cys)	Hom	OR	NIHF	(116)
25	CDC42	NM_001039802.2:c.[191A>G];[191=]	NP_001034891.1:p.[(Tyr64Cys)];[Tyr64=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(117, 118)
26	CHRNA1	NM_000079.4:c.254T>C	NP_000070.1:p.(Leu85Pro)	Hom	OR	NIHF	(105)
		NM_001039523.3:c.760C>T	NP_001034612.1:p.(Arg254Cys)	Hom	OR	NIHF	(119) (120)
27	CHRND	NM_000751.3:c.[283T>C];[1390C>T]	NP_000742.1:p.[(Phe95Leu)];[(Arg464*)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE, As), KH	(121)
28	CHRNA1	NM_005199.5:c.459dupA	NP_005190.4:p.(Val154Serfs*24)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE)	(122)
		NM_005199.5:c.753_754delCT	NP_005190.4:p.(Pro251Profs*46)	Hom	OR		
29	COG6	NM_020751.3:c.1167-24A>G	NP_065802.1:p.(Gly390Phefs*6)	Hom	OR	NIHF	(96)
30	COL2A1	NM_001844.5:c.[1637G>T];[1637=]	NP_001835.3:p.[(Gly546Val)];[(Gly546=)]	Het	OD	NIHF, KH	(123)
31	CYP11A1	NM_000781.3:c.[358C>T]	NP_000772.2:p.(Arg120*)	Hom	OR	NIHF	(124)

Tablo 1. (Devam)

32	CTSA	NM_001167594.2:c.[114delG];[347A>G]	NP_001161066.1:p.[(Ser39Phefs*71)];[(His116Arg)]	BHet	BOR	NIHF	(125)
		NM_000308.4:c.[146A>G];[1184A>G]	NP_000299.3:p.[(Gln49Arg)];[(Tyr395Cys)]	BHet	BOR	NIHF	(126)
		NM_000308.4:c.575T>C	NP_000299.3:p.(Leu192Pro)	Hom	OR	NIHF	(103)
		NM_000308.4:c.649delC	NP_000299.3:p.(Leu217Phefs*59)	Hom	OR	NIHF	(120)
33	DMPK	NM_001081563.2:c.[*224_*226CTG[750]];[*224_*226=]	NP_001075031.1:p.?	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(127)
		NM_001081563.2:c.*224_*226CTG[1730];[*224_*226=]	NP_001075031.1:p.?	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(128)
		NM_001081563.2:c.*224_*226CTG[2000];[*224_*226=]	NP_001075031.1:p.?	Het	OD	NIHF, PH	(129)
34	DNAH9	NM_001372.4:c.2984delG	NP_001363.2:p.(Arg995Lysfs*5)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, As), PH	(32)
35	DNAH14	NM_001373.c.3755T>A	NP_001364.1:p.(Met1252Lys)	Hom	OR	NIHF	(120)
36	DOK7	NM_173660.5:c.331+1G>T	NP_775931.3:p.Asp34_Val111del	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE)	(130)
		NM_173660.5:c.1263_1263dupC	NP_775931.3:p.(Ser422Leufs*97)	Hom	OR	NIHF (PIE, As)	(131)
37	DUOXA1	NM_144565.4:c.[1186G>T];[[1186=]	NP_653166.2:p.[(Glu396*)];[(Glu396=)]	Het	OD	NIHF	(124)
38	DYNC2H1	NM_001080463.2:c.[4267C>T];[10594C>T]	NP_001073932.1:p.[(Arg1423Cys)];[(Arg3532*)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As)	(132)
		NM_001080463.2:c.[6834G>T];[10886G>C]	NP_001073932.1:p.[(Trp2278Cys)];[(Arg3629Pro)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	
		NM_001080463.2:c.[6387G>T];[8339T>C]	NP_001073932.1:p.[(Trp2129Cys)];[(Leu2780Ser)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As)	
39	E2F4	NM_001950.4:c.947_958del12	NP_001941.2:p.(Ser316_Ser319del)	Hom	OR	NIHF	(105)
40	ENPP1	NM_006208.3:c.784A>G	NP_006199.2:p.(Ser262Gly)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, PeE), PH	(133)
		NM_006208.3:c.2344C>T	NP_006199.2:p.(Arg782*)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, PeE, As), PK	(134)
41	EPHB4	NM_004444.4:c.[2216G>A];[2216=]	NP_004435.3:p.[(Arg739Glu)];[(Arg739=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PeE, As)	(135)
		NM_004444.5:c.[2345T>G];[2345=]	NP_004435.3:p.[(Ile782Ser)];[(Ile782=)]	Het	OD		
		NM_004444.5:c.[2334+1G>C];[2334+1=]	NP_004435.3:p.[(Leu778_Gly779insLeuMetLeuGly)];[Leu778_Gly779=]	Het	OD	NIHF	(136)
		NM_004444.5:c.[2354G>A];[2354=]	NP_004435.3:p.[(Arg785Gln)];[(Arg785Gln=)]	Het	OD	NIHF, PH	(84)
42	ERCC5	NM_000123.4:c.2766_2766dupA	NP_000114.3:p.(Leu923Thrfs*7)	Hom	OR	NIHF	(137)
43	FCRL4	NM_031282.3:c.847+1G>A	NP_112572.1:p.?	Hom	OR	NIHF	(103)
44	FEN1	NM_004111.6:c.704G>A	NP_004102.1:p.(Cys235Tyr)	Hom	OR	NIHF	(103)
45	FKTN	NM_006731.2:c.78C>G	NP_006722.2:p.(Tyr26*)	Hom	OR	NIHF	(103)

Tablo 1. (Devam)

46	FLT4	NM_182925.5:c.2632G>A	NP_891555.2:p.(Val878Met)	Hom	OR	NIHF (PIE, As), PH	(138)
		NM_182925.5:c.[3121C>T];[3121=]	NP_891555.2:p.[(Arg1041Trp)];[(Arg1041=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(32)
		NM_182925.5:c.[3131T>C];[3131=]	NP_891555.2:p.[(Leu1044Pro)];[(Leu1044=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(139)
		NM_182925.5:c.[3316G>A];[3316=]	NP_891555.2:p.[(Glu1106Lys)];[(Glu1106=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(140)
		NM_182925.5:c.[3391G>A];[3391=]	NP_891555.2:p.[(Gly1131Ser)];[(Gly1131=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(141)
		NM_182925.5:c.[3410C>T];[3410=]	NP_891555.2:p.[(Pro1137Leu)];[(Pro1137=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), KH	(142)
		NM_182925.5:c.[3823A>G];[3823=]	NP_891555.2:p.[(Ser1275Gly)];[Ser1275=]	Het	OD	NIHF	(143)
47	FLVCR2	NM_017791.3:c.[1509+1G>A];[1001_1001dupT]	NP_060261.2:p.[?];[(Met334Ilefs*37)]	BHet	BOR	NIHF, KH	(144)
48	FOXC2	NM_005251.3:c.[361C>T];[361=]	NP_005242.1:p.[(Arg121Cys)];[Arg121=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, PeE, As)	(145)
		NM_005251.3:c.[939C>A];[939=]	NP_005242.1:p.[(Tyr313*)];[(Tyr313=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(146)
		NM_005251.3:c.[943C>T];[943=]	NP_005242.1:p.[(Gln315*)];[(Gln315=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), KH, PH	(142)
49	FOXP3	NM_014009.4:c.319_320delTC	NP_054728.2:p.[(Ser107Asnfs*204)]	Hem	XOR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(147)
		NM_014009.4:c.[543-2A>G]	NP_054728.2:p.?	Hem	XOR	NIHF (DAÖ, PIE, PeE, As)	(32)
		NM_014009.4:c.749delA	NP_054728.2:p.[(Lys250Argfs*4)]	Hem	XOR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(148)
		NM_014009.4:c.906delT	NP_054728.2:p.[(Asp303fs*87)]	Hem	XOR	NIHF	(149)
		NM_014009.4:c.1009C>T	NP_054728.2:p.[(Arg337*)]	Hem	XOR	NIHF	(150)
		NM_014009.4:c.1033C>T	NP_054728.2:p.[(Leu345Phe)]	Hem	XOR	NIHF	(151)
		NM_014009.4:c.1189C>T	NP_054728.2:p.[(Arg397Trp)]	Hem	XOR	NIHF	(137)
50	FZD6	NM_001164616.2:c.773A>G	NP_001158088.1:p.(Tyr258Cys)	Hom	OR	NIHF	(120)
51	GAA	NM_000152.5:c.[258_258dupC];[1115A>T]	NP_000143.2:p.[Asn87Glnfs*9];[His372Leu]	BHet	BOR	NIHF	(152)
52	GALNS	NM_000512.5:c.[463G>A];[13-1G>A]	NP_000503.1:p.[(Gly155Arg)];[?]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE)	(153)
53	GALNT14	NM_024572.4:c.1273C>T	NP_078848.2:p.(Arg425*)	Hom	OR	NIHF	(120)
54	GATA1	NM_002049.4:c.613G>A	NP_002040.1:p.[(Val205Met)]	Hem	XOR	NIHF (PIE, PeE), PK	(154)
55	GATA2	NM_032638.5:c.[310_311insCC];[310_311=]	NP_116027.2:p.[(Leu105Profs*15)];[(Leu105=)]	Het	OD	NIHF	(155)
56	GATA5	NM_080473.5:c.[56G>C];[605C>T]	NP_536721.1:p.[(Ser19Trp)];[(Arg202Gln)]	BHet	BOR	NIHF, As	(156)
57	GBA	NM_000157.4:c.516C>A	NP_000148.2:p.(Tyr172*)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(157)
		NM_001005741.3:c.(115+1_116-1)_ (1616+1_?)del	NP_001005741.1:p.?	Hom	OR	NIHF (DAÖ, As)	(158)

Tablo 1. (Devam)

57	GBA	NM_000157.4:c.1255G>A	NP_000148.2:p.(Asp419Asn)	Hom	OR	NIHF, PH	(159)
		NM_001005741.3:c.1448T>C	NP_001005741.1:p.(Leu483Pro)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(145)
58	GBE1	NM_000158.4:c.[563A>C];[1618+1G>A]	NP_000149.4:p.[(His188Pro)];[?]	BHet	BOR	NIHF	(143)
		NM_000158.4:c.[773C>T];[1229T>G]	NP_000149.4:p.[(Ala258Val)];[(Ile410Arg)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(145)
		NM_000158.4:c.2181_2941del760	NP_000149.4:p.(Trp717_Ter2941del)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, As)	(42)
		NM_000158.4:c.271+G>A	NP_000149.4:p.?	Hom	OR	NIHF (DAÖ, As)	(160)
59	GDF2	NM_016204.4:c.451C>T	NP_057288.1:p.(Arg151*)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, Ple), PH	(161)
60	GLB1	NM_000404.4:c.[75+1delG];[931G>A]	NP_000395.3:p.[?];[(Gly311Arg)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As)	(32)
		NM_000404.4:c.172_173insG	NP_000395.3:p.(Ser58Cysfs*33)	Hom	OR	NIHF	(162)
		NM_000404.4:c.1825_1828delATGA	NP_000395.3:p.(Met609Profs*27)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, As)	(158)
61	GLE1	NM_001003722.2:c.433-10A>G	NP_001003722.1:p.(Thr144_Glu145insProPheGln)	Hom	OR	NIHF	(163)
		NM_001003722.2:c.[433-10A>G];[1706G>A]	NP_001003722.1:p.[(Thr144_Glu145insProPheGln)];[(Arg569His)]	BHet	BOR		
62	GRIN2B	NM_000834.5:c.[2332G>T];[2332=]	NP_000825.2:p.[(Leu778Ile)];[(Leu778=)]	Het	OD	NIHF	(164)
63	GRIP1	NM_021150.4:c.2113+1G>C	NP_066973.2:p.(Arg658fs13*)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, As)	(165)
64	GUSB	NM_000181.4:c.[35T>C];[210+1G>A]	NP_000172.2:p.[(Leu12Pro)];[?]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, PeE, As)	(32)
		NM_000181.4:c.307C>T	NP_000172.2:p.(Arg103Trp)	Hom	OR	NIHF	(105, 120)
		NM_000181.4:c.[323C>T];[1610T>C]	NP_000172.2:p.[(Pro108Leu)];[(Ile537Thr)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(145)
		NM_000181.4:c.398G>C	NP_000172.2:p.(Trp133Ser)	Hom	OR	NIHF	(120)
		NM_001284290.2:c.542G>T	NP_001271219.1:p.(Arg181Leu)	Hom	OR	NIHF	(166)
		NM_000181.4:c.1069C>T	NP_000172.2:p.(Arg357*)	Hom	OR	NIHF	(120)
		NM_000181.4:c.[1084G>A];[1084=]	NP_000172.2:p.[(Asp362Asn)];[(Asp362=)]	Het	OD	NIHF	(100)
		NM_000181.4:c.[1091C>T];[104C>A]	NP_000172.2:p.[(Pro364Leu)];[(Ser35*)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(145)
		NM_000181.4:c.1144C>T	NP_000172.2:p.(Arg382Cys)	Hom	OR	NIHF	(120)
		NM_000181.4:c.1192C>T	NP_000172.2:p.(Arg398Cys)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(145)
		NM_000181.4:c.1422_1506_del84	NP_000172.2:p.(Lys474_Gly502del)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PeE, As)	(32)
		NM_000181.4:c.1429C>T	NP_000172.2:p.(Arg477Trp)	Hom	OR	NIHF	(103)
						NIHF (PIE, As)	(167)
		NM_000181.4:c.1586A>G	NP_000172.2:p.(Tyr529Cys)	Hom	OR	NIHF	(120)

Tablo 1. (Devam)

64	GUSB	NM_000181.4:c.1617C>T	NP_000172.2:p.(Ser539=)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(168)
65	HADHB	NM_000183.3:c.1109+243_1438-703del	NP_000174.1:p.?	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE)	(169)
66	HBA1	NM_000558.5:c.179G>A	NP_000549.1:p.(Gly60Asp)	Hom	OR	NIHF	(170)
67	HBA2	NM_000517.6:c.179G>A	NP_000508.1:p.(Gly60Asp)	Hom	OR	NIHF	(170)
68	HBB	NM_000518.5:c.52A>T	NP_000509.1:p.(Lys18*)	Hom	OR	NIHF	(171)
		NM_000518.5:c.126_129delCTTT	NP_000509.1:p.(Phe42Leufs*19)	Hom	OR	NIHF	(171)
		NM_000518.5:c.278A>G	NP_000509.1:p.(His93Arg)	Hom	OR	NIHF	(171)
		NM_000518.5:c.316-197C>T	NP_000509.1:p.?	Hom	OR	NIHF	(171)
69	HRAS	NM_005343.4:c.[34G>T];[34=]	NP_005334.1:p.[(Gly12Cys)];[(Gly12=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(172)
		NM_005343.4:c.[35G>A];[35=]	NP_005334.1:p.[(Gly12Asp)];[(Gly12=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(173)
		NM_176795.5:c.[37G>C];[37=]	NP_789765.1:p.[(Gly13Arg)];[(Gly13=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PeE, PIE, As), KH	(32)
		NM_005343.4:c.[38G>A];[38=]	NP_005334.1:p.[Gly13Asp];[Gly13=]	Het	OD	NIHF	(124)
		NM_005343.4:c.[266C>G];[266=]	NP_005334.1:p.[(Ser89Cys)];[(Ser89=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(174)
70	HSPB1	NM_001540.5:c.[476_477delCT];[476_477=]	NP_001531.1:p.[(Pro159Argfs*42)];[(Pro159=)]	Het	OD	NIHF (PIE, As), PH	(175)
71	IFT122	NM_052985.4:c.[3184G>C];[3228_3228dupG;3231_3233delCAT]	NP_443711.2:p.[(Ala1062Pro)];[(Tyr1077Valfs*10)]	BHet	BOR	NIHF	(100)
72	IKZF1	NM_006060.6:c.629A>G	NP_006051.1:p.(Tyr210Cys)	Het	OD	NIHF	(176)
73	INPPL1	NM_001567.4:c.[2327-1G>C];[1152_1153delGA]	NP_001558.3:p.[(Asn849_Arg878del)];[(Lys385Glyfs*80)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As)	(177)
74	INVS	NM_014425.5:c.753T>G	NP_055240.2:p.(Try251*)	BHet	BOR	NIHF, PH	(178)
75	ITGA9	NM_002207.3:c.[1210G>A];[1210=]	NP_002198.2:p.[(Gly404Ser)];[(Gly404=)]	Hom	OR	NIHF	(103)
		NM_002207.3:c.1210G>A	NP_002198.2:p.(Gly404Ser)	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(139)
						NIHF	(179)
76	ITPR1	NM_001168272.2:c.[7591G>A];[7591=]	NP_001161744.1:p.[(Val2531Met)];[Val2531=]	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE)	(139)
77	KAT6B	NM_001370136.1:c.5T>G	NP_001357065.1:p.(Val2Gly)	Het	OD	NIHF	(143)
78	KCTD1	NM_001258221.2:c.[86A>G];[86=]	NP_001245150.1:p.[(Asn29Ser)];[(Asn29=)]	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE), KH, PH	(180)
79	KIAA0586	NM_001244189.2:c.230C>G	NP_001231118.1:p.(Ser77*)	Het	OD	NIHF (DAÖ, PeE)	(143)
80	KIAA1109	NM_015312.3:c.[997dup;11567_12352delinsG]	NP_056127.2:p.[(Ile333Asnfs*5)];[(Lys3856Argfs*44)]	Hom	OR	NIHF	(181)
				BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE), KH	(182)

Tablo 1. (Devam)

80	KIAA1109	NM_015312.3:c.12067G>T	NP_056127.2:p.(Glu4023*)	Hom	OR	NIHF, PH	(103)
81	KIAA1328	NM_020776.3:c.[586A>T];[586=]	NP_065827.1:p.[(Arg196*)];[(Arg196=)]	Het	OD	NIHF	(105)
82	KIDINS220	NM_020738.4:c.208delG	NP_065789.1:p.(Asp70Ilefs*18)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(183)
83	KLHL40	NM_152393.4:c.1405G>T	NP_689606.2:p.(Gly469Cys)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE)	(184)
		NM_152393.4:c.1516A>C	NP_689606.2:p.(Thr506Pro)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PeE, PIE, As), PH	(32)
84	KLF1	NM_006563.5:c.[90G>A];[954_954dupG]	NP_006554.1:p.[(Trp30*)];[(Arg319Glufs*34)]	BHet	BOR	NIHF	(185)
		NM_006563.5:c.[525_526insCGGCGCCC];[1012C>A]	NP_006554.1:p.[(Gly176Argfs*179)];[(Pro338Thr)]	BHet	BOR	NIHF	(186)
		NM_006563.5:c.[973G>A];[973=]	NP_006554.1:p.[(Glu325Lys);(Glu325=)]	Het	OD	NIHF	(187)
							(188)
							(100)
85	KMT2D	NM_003482.4:c.[1434G>T];[1434=]	NP_003473.3:p.[(Glu4781*)];[(Glu4781=)]	Het	OD	NIHF, KH	(137)
		NM_003482.4:c.[15239_15240delTG];[15239_15240=]	NP_003473.3:p.[(Val5080Glyfs*57)];[(Val5080=)]	Het	OD	NIHF	(100)
		NM_003482.4:c.[15535C>T];[15535=]	NP_003473.3:p.[(Arg5179Cys)];[(Arg5179Cys=)]	Het	OD	NIHF (PIE, As)	(189)
86	KRAS	NM_001369786.1:c.[173C>T];[173=]	NP_001356715.1:p.[(Thr58Ile)];[(Thr58=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(43, 190)
		NM_004985.5:c.[204G>C];[204=]	NP_004976.2:p.[(Arg68Ser)];[Arg68=]	Het	OD	NIHF	(143)
		NM_033360.4:c.[220A>C];[220=]	NP_203524.1:p.[(Thr74Pro)];[(Thr74=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(32)
87	KRIT1	NM_194455.1:c.992A>G	NP_919437.1:p.(Tyr331Cys)	Hom	OR	NIHF	(103)
88	LAMB2	NM_002292.4:c.[4304C>T];[3339G>T]	NP_002283.3:p.[(Pro1435Leu)];[(Gln1113His)]	BHet	BOR	NIHF	(84)
		NM_002292.4:c.4684C>T	NP_002283.3:p.(Arg1562*)	Hom	OD	NIHF (DAÖ, PeE, As), PK	(191)
89	LARS2	NM_015340.4:c.[388G>A];[2099C>T]	NP_056155.1:p.[(Ala130Thr)];[(Thr700Ile)]	BHet	BOR	NIHF (PIE, As)	(192)
		NM_015340.4:c.[683G>A];[1313A>G]	NP_056155.1:p.[(Arg228His)];[(Asp438Gly)]	BHet	BOR	NIHF (PeE, As)	(192)
		NM_015340.4:c.[1289C>T];[1565C>A]	NP_056155.1:p.[(Ala430Val)];[(Thr522Asn)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE, As)	(193)
90	LBR	NM_002296.4:c.366+1G>T	NP_002287.2:p.(Glu112Serfs*39)	Hom	OR	NIHF	(194)
		NM_002296.4:c.1639A>G	NP_002287.2:p.(Asn547Asp)	Hom	OR	NIHF	(195)
91	LMOD3	NM_198271.5:c.882_882dupA	NP_938012.2:p.(Asp295Argfs*2)	Hom	OR	NIHF	(196)
92	LZTR1	NM_006767.4:c.[27_27dupG];[1A>G]	NP_006758.2:p.[(Gln10Alafs*24)];[(Met1Val)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE)	(145)
		NM_006767.4:c.2317G>A	NP_006758.2:p.(Val773Met)	Hom	OR	NIHF	(103)

Tablo 1. (Devam)

93	MAP2K1	NM_002755.4:c.[383G>A];[383=]	NP_002746.1:p.[Gly128Asp];[Gly128=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(174)
94	MAP2K2	NM_030662.4:c.[169T>A];[169=]	NP_109587.1:p.[(Phe57Ile)];[(Phe57=)]	Het	OD	NIHF, PH	(197)
95	MGAT2	NM_002408.4:c.711G>C	NP_002399.1:p.(Lys237Asn)	Hom	OR	NIHF	(96)
96	MED13L	NM_015335.5:c.[2591T>A];[2591=]	NP_056150.1:p.[(Met864Lys)];[(Met864=)]	Het	OD	NIHF	(198)
97	MMACHC	NM_015506.3:c.271_271dupA	NP_056321.2:p.(Arg91Lysfs*14)	Hom	OR	NIHF	(199)
98	MOCS3	NM_014484.5:c.1027C>T	NP_055299.1:p.(Arg343*)	Hom	OR	NIHF	(103)
99	MRPS16	NM_016065.4:c.331C>T	NP_057149.1:p.(Arg111*)	Hom	OR	NIHF	(103)
100	MRPS22	NM_020191.4:c.[509G>A];[878+1G>T]	NP_064576.1:p.[(Arg170His)];[p.?]	BHet	BOR	NIHF	(200)
		NM_020191.c.[768_769delTG];[509G>A]	NP_064576.1:p.[(Gly257Lysfs*3)];[(Arg170His)]	BHet	BOR	NIHF	(124)
101	MUSK	NM_005592.4:c.40_40dupA	NP_005583.1:p.Thr14Asnfs*9	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(201)
		NM_005592.4:c.[1724T>C];[2408A>G]	NP_005583.1:p.[(Ile575Thr)];[(Tyr803Cys)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE)	(143)
102	MVK	NM_000431.4:c.1162C>T	NP_000422.1:p.(Arg388*)	Hom	OR	NIHF (PIE, As), PH	(202)
103	MYBPC3	NM_000256.3:c.2449C>T	NP_000247.2:p.(Arg817Trp)	Hom	OR	NIHF	(103)
104	MYBPHL	NM_001010985.3:c.212T>G	NP_001010985.2:p.(Val71Gly)	Hom	OR	NIHF	(103)
105	MYH3	NM_002470.4:c.[2114T>C];[2114=]	NP_002461.2:p.[(Ile705Thr)];[(Ile705=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(32)
106	MYH7	NM_000257.4:c.[2135G>A];[2135=]	NP_000248.2:p.[(Arg712His)];[(Arg712=)]	Het	OD	NIHF	(84)
107	MYOM1	NM_003803.4:c.4987G>A	NP_003794.3:p.(Val1663Met)	Hom	OR	NIHF	(120)
108	MYRF	NM_001127392.3:c.[789_789dupC];[789=]	NP_001120864.1:p.[(Ser264Glnfs*74)];[(Ser264=)]	Het	OD	NIHF (PIE, PeE, As)	(32)
109	MYSM1	NM_001085487.3:c.1168G>T	NP_001078956.1:p.[(Glu390*)]	Hom	OR	NIHF	(105)
110	NDUFB10	NM_004548.3:c.[319T>C];[207_207dupT]	NP_004539.1:p.[(Cys107Ser)];[(Glu70*fs*1)]	BHet	BOR	NIHF	(203)
		NM_004548.3:c.373_375delCAG	NP_004539.1:p.(Gln125del)	Hom	OR	NIHF	(105)
111	NEB	NM_004543.5:c.10872+1G>T	NP_004534.3:p.(Ala3624Cys)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PeE, PIE), PH, KH	(204)
		NM_001164507.1:c.20974delA	NP_001157979.1:p.(Val6993Serfs*8)	Hom	OR	NIHF	(103)
		NM_001164507.1:c.21076C>T	NP_001157979.1:p.(Arg7026*)	Hom	OR	NIHF	(120)
		NM_001164508.1:c.2920C>T	NP_001157980.1:p.(Arg974*)	Hom	OR	NIHF, KH	(205)
		NM_001271208.2:c.[18786C>G];[18981C>G]	NP_001258137.2:p.[(Tyr6262*)];[(Tyr6327*)]	BHet	BOR	NIHF (PIE, As), KH	(83)
112	NEK9	NM_033116.6:c.1489C>T	NP_149107.4:p.(Arg497*)	Hom	OR	NIHF	(206)
113	NEU1	NM_000434.4:c.[45G>A];[1022G>A]	NP_000425.1:p.[(Trp15*)];[(Arg341Gln]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As), PH	(207)

Tablo 1. (Devam)

113	NEU1	NM_000434.4:c.87G>A	NP_000425.1:p.(Trp29*)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, As), KH	(208)
		NM_000434.4:c.[238C>A];[1230_1234delinsGCCAA A]	NP_000425.1:p.[(Pro80Thr)];[(Ser410Argfs*32)]	BHet	BOR	NIHF	(100)
114	NEXN	NM_144573.4:c.[646C>T];[1606_1607delAA]	NP_653174.3:p.[(Arg216*)];[(Lys536Valfs*7)]	BHet	BOR	NIHF (PeE, As)	(32)
115	NIPBL	NM_015384.5:c.[1435C>T];[1435=]	NP_056199.2:p.[(Arg479*)];[(Arg479=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(189)
116	NMNAT2	NM_015039.4:c.[403_403dupC];[695G>A]	NP_055854.1:p.[Gln135Profs*44];[Arg232Gln]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(209)
117	NPC1	NM_000271.5:c.813_815delCAT	NP_000262.2:p.(Ile271del)	Hom	OR	NIHF	(105)
		NM_000271.5:c.[1831_1836delGATGAA];[3734_3735delCT]	NP_000262.2:p.[(Asp611_Glu612del)];[(Pro1245Argfs*12)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As), PH, PK	(210)
		NM_000271.5:c.[2728G>A];[1547G>A]	NP_000262.2:p.[(Gly910Ser)];[(Cys516Tyr)]	BHet	BOR	NIHF (PeE, As)	(211)
		NM_000271.5:c.[3182T>C];[724C>G]	NP_000262.2:p.[(Ile1061Thr)];[(p.Asp242His)]	BHet	BOR	NIHF	(158)
		NM_000271.5:c.[3182T>C];[2072C>A]	NP_000262.2:p.[(Ile1061Thr)];[(Pro691Gln)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE, As)	(32)
118	NRAS	NM_002524.5:c.[34G>A];[34=]	NP_002515.1:p.[(Gly12Ser)];[(Gly12=)]	Het	OD	NIHF, KH	(212)
		NM_002524.5:c.[35G>T];[35=]	NP_002515.1:p.[(Gly12Val)];[(Gly12=)]	Het	OD	NIHF, KH	(213)
		NM_002524.5:c.[179G>A];[179=]	NP_002515.1:p.[(Gly60Glu)];[(Gly60=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, PeE, As), PH	(213)
119	PEX3	NM_003630.3:c.856C>T	NP_003621.1:p.(Arg268*)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE)	(41)
120	PHGDH	NM_006623.4:c.1030C>T	NP_006614.2:p.(Arg344*)	Hom	OR	NIHF	(105)
		NM_006623.4:c.1297C>T	NP_006614.2:p.(Gln433*)	Hom	OR	NIHF	(214)
121	PIEZO1	NM_001142864.4:c.[307C>T];[7129+1G>C]	NP_001136336.2:p.[(Arg103*)];[?]	BHet	BOR	NIHF	(215)
		NM_001142864.4:c.1264C>T	NP_001136336.2:p.(Gln422*)	Hom	OR	NIHF	(103)
		NM_001142864.4:c.[1669+1G>A];[7289C>T]	NP_001136336.2:p.[?];[(Pro2430Leu)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(216)
		NM_001142864.4:c.[1792G>A];[1792=]	NP_001136336.2:p.[(Val598Met)];[(Val598=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PeE, PIE, As), KH	(32)
		NM_001142864.4:c.1792G>A	NP_001136336.2:p.(Val598Met)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PeE, PIE, As)	(217)
		NM_001142864.4:c.1792G>C	NP_001136336.2:p.(Val598Leu)	Hom	OR	NIHF (PIE, PeE, As)	(217)
		NM_001142864.4:c.[2035G>T]	NP_001136336.2:p.[(Glu679*)]	Hom	OR	NIHF	(124)
		NM_001142864.4:c.[2263G>T];[6682C>T]	NP_001136336.2:p.[(Glu755*)];[(Gln2228*)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(216)
		NM_001142864.4:c.[2610G>A];[2610=]	NP_001136336.2:p.[(Met870Ile)];[(Met870=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(32)
		NM_001142864.4 c.[2815C>A;7374C>G];[7366C>T]	NP_001136336.2:p.[(Leu939Met);(Phe2458Leu)];[(Arg2456Cys)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(216)

Tablo 1. (Devam)

121	PIEZO1	NM_001142864.4:c.[3206G>A];[6208A>C]	NP_001136336.2:p.[(Trp1069*)];[(Lys2070Gln)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, PeE), PH, PK	(218)
						NIHF	(21)
		NM_001142864.4:c.[3455+1G>A];[6085G>C]	NP_001136336.2:p.[?];[(Gly2029Arg)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE)	(219)
		NM_001142864.4:c.[3796+1G>A];[6511G>T]	NP_001136336.2:p.[?];[(Val2171Phe)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(216)
		NM_001142864.4:c.5013_5016delGGCG	NP_001136336.2:p.(Ala1672Cysfs*59)	Hom	OR	NIHF	(105)
		NM_001142864.4:c.[5716_5738del23];[6809T>C]	NP_001136336.2:p.[Pro1906Lysfs*55];[Ile2270Thr]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(32)
		NM_001142864.4:c.[6680C>T];[4640G>A]	NP_001136336.2:p.[(Ala2227Val)];[(Arg1547His)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE, PeE)	(145)
		NM_001142864.4:c.[6905G>A];[1495G>A]	NP_001136336.2:p.[(Arg2303His)];[(Val499Ile)]	BHet	BOR	NIHF	(100)
		NM_001142864.4:c.[7049+1G>C];[5366_5367dupAG]	NP_001136336.2:p.[?];[(Leu1790Serfs*132)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE)	(145)
		NM_001142864.4:c.[7129+1G>C];[307C>T]	NP_001136336.2:p.[?];[Arg103*]	BHet	BOR	NIHF	(143)
		NM_001142864.4:c.[7367G>A];[7367=]	NP_001136336.2:p.[(Arg2456His)];[(Arg2456=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(220)
		NM_001142864.4:c.7479_7484dup	NP_001136336.2:p.(Leu2495_Glu2496dupLeuGlu)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, As)	(217)
122	PIGC	NM_002642.4:c.659T>C	NP_002633.1:p.(Leu220Pro)	Hom	OR	NIHF	(120)
123	PIGN	NM_012327.6:c.[548_549+delAGGTTTGT];[654T>G]	NP_036459.1:p.[?];[(His218Gln)]	BHet	BOR	NIHF	(137)
124	PIK3CA	NM_006218.4:c.[501G>C];[501=]	NP_006209.2:p.[(Arg115Pro)];[(Arg115=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(221)
125	PKD1L1	NM_138295.5:c.[8005C>T];[160+1G>A]	NP_612152.1:p.(p.Arg2669*);[?]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE, PIE, As), KH	(222)
126	PKLR	NM_000298.6:c.[1022G>A];[993C>A]	NP_000289.1:p.[(Gly341Asp)];[(Asp331Gln)]	BHet	BOR	NIHF	(223)
127	PMM2	NM_000303.3:c.[1A>G];[385G>A]	NP_000294.1:p.[(Met1Val)];[(Val129Met)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE)	(224)
		NM_000303.3:c.[58C>T;66+1G>T];[357C>A]	NP_000294.1:p.[(Pro20Ser?)];[(Phe119Leu)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE, As), PH	(225)
		NM_000303.3:c.[62dupG];[385G>T]	NP_000294.1:p.[Gln55Alafs*5];[(Val129Leu)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As)	(226)
		NM_000303.3:c.[357C>A];[160_161insG]	NP_000294.1:p.[(Phe119Leu)];[(Glu54Glyfs*5)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE, PIE, As)	(227)
		NM_000303.3:c.[357C>A];[470T>C]	NP_000294.1:p.[(Phe119Leu)];[(Phe157Ser)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE, As)	(227)
						NIHF	(228)
		NM_000303.3:c.[357C>A];[422G>A]	NP_000294.1:p.[(Phe119Leu)];[(Arg141His)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE, As)	(229)
		NM_000303.3:c.[563A>G];[104T>A]	NP_000294.1:p.[(Asp188Gly)];[(Leu35*)]	BHet	BOR	NIHF (PeE, As)	(229)
		NM_000303.3:c.[691G>A];[710C>G]	NP_000294.1:p.[(Val231Met)];[(Thr237Arg)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE)	(230)
		NM_000303.3:c.[691G>A];[640-15479C>T]	NP_000294.1:p.[(Val231Met)];[?]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE)	(229)

Tablo 1. (Devam)

128	PPP3CA	NM_000944.5:c.[1408T>C];[1408=]	NP_000935.1:p.[(Phe470Leu)];[(Phe470=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, As)	(44)
129	PRF1	NM_005041.6:c.[1A>G];[1090_1091delCT]	NP_005032.2:p.[(Met1Val)];[(Leu364Glufs*93)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As)	(231)
		NM_005041.6:c.666C>A	NP_005032.2:p.(His222Gln)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PeE, PIE, As)	(232)
130	PRKAG2	NM_016203.4:c.[1592G>A];[1592=]	NP_057287.2:p.[(p.Arg531Gln)];[(Arg531=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PeE)	(233)
						NIHF (PeE, As)	(234)
131	PRPF19	NM_014502.5:c.794A>G	NP_055317.1:p.(Lys265Arg)	Hom	OD	NIHF	(103)
132	PROC	NM_000312.4:c.[577_579delAAG];[577_579=]	NP_000303.1:p.[(Lys193del)];[(Lys193=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, As), KH	(145)
133	PSAT1	NM_058179.4:c.296C>T	NP_478059.1:p.[(Ala99Val)]	Hom	OD	NIHF	(235)
134	PTPN11	NM_002834.5:c.[174C>G];[174=]	NP_002825.3:p.[(Asn58Lys)];[(Asn58=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(43)
		NM_002834.5:c.[179_181delGTG];[179_181=]	NP_002825.3:p.[(Gly60del)];[(Gly60=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), KH	(236)
		NM_002834.5:c.[179G>T];[179G=]	NP_002825.3:p.[(Gly60Val)];[Gly60=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PeE, PIE)	(174)
		NM_002834.5:c.[180G>A];[180=]	NP_002825.3:p.[(Asp61Asn)];[(Asp61=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(237)
		NM_002834.5:c.[182A>C];[182=]	NP_002825.3:p.[(Asp61Ala)];[(Asp61=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(139)
		NM_002834.5:c.[182A>G];[182=]	NP_002825.3:p.[(Asp61Gly)];[(Asp61=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(43)
						NIHF	(174)
		NM_002834.5:c.[184T>G];[184=]	NP_002825.3:p.[(Tyr62Asp)];[(Tyr62=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(174)
							(139)
		NM_002834.5:c.[213T>A];[213=]	NP_002825.3:p.[(Phe71Leu)];[(Phe71=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), KH	(237)
		NM_002834.5:c.[213T>G];[213=]	NP_002825.3:p.[(Phe71Leu)];[(Phe71=)]	Het	OD	NIHF	(174)
		NM_002834.5:c.[214G>C];[214=]	NP_002825.3:p.[(Ala72Pro)];[(Ala72=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(174)
						NIHF (DAÖ, PIE), KH	(32)
		NM_002834.5:c.218C>T	NP_002825.3:p.(Thr73Ile)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE)	(31)
		NM_002834.5:c.[227A>T];[227=]	NP_002825.3:p.[(Glu76Val)];[(Glu76=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(43)
						NIHF (DAÖ, PeE)	(238)
						NIHF (DAÖ, PIE, PeE), KH	(212)
		NM_002834.5:c.[317A>C];[317=]	NP_002825.3:p.[(Asp106Ala)];[(Asp106=)]	Het	OD	NIHF	(21)
		NM_002834.5:c.[417G>C];[417=]	NP_002825.3:p.[(Glu139Asp)];[(Glu139=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(239)

Tablo 1. (Devam)

134	PTPN11	NM_002834.5:c.[417G>C];[417=]	NP_002825.3:p.[(Glu139Asp)];[(Glu139=]	Het	OD	NIHF	(21)
						NIHF (DAÖ, PIE)	(21)
		NM_002834.5:c.[854T>C];[854=]	NP_002825.3:p.[(Phe285Ser)];[(Phe285=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PeE, PIE, As)	(21)
						NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(32)
		NM_002834.5:c.[781C>T];[781=]	NP_002825.3:p.[(Leu261Phe)];[(Leu261=]	Het	OD	NIHF	(105)
		NM_002834.5:c.[922A>G];[922=]	NP_002825.3:p.[(Asn308Asp)];[(Asn308=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(189)
						NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(32)
		NM_002834.5:c.[923A>G];[923=]	NP_002825.3:p.[(Asn308Ser)];[(Asn308=]	Het	OD	NIHF	(100)
		NM_002834.5:c.[1381G>A];[1381=]	NP_002825.3:p.[(Ala461Thr)];[(Ala461=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(43)
						NIHF (DAÖ, PIE, As)	(174)
		NM_002834.5:c.[1504T>G];[1504=]	NP_002825.3:p.[(Ser502Ala)];[(Ser502=]	Het	OD	NIHF	(174)
135	RAF1	NM_002834.5:c.[1507G>A];[1507=]	NP_002825.3:p.[(Gly503Arg)];[(Gly503Arg]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(240)
		NM_002834.5:c.[1510A>G];[1510=]	NP_002825.3:p.[(Met504Val)];[(Met504=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(240)
		NM_002834.5:c.[1520C>A];[1520=]	NP_002825.3:p.[(Thr507Lys)];[(Thr507=]	Het	OD	NIHF	(237)
		NM_002834.5:c.[1530G>C];[1530=]	NP_002825.3:p.[(Gln510His)];[(Gln510=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(174)
136	RAPSIN	NM_001354689.3:c.[770C>T];[770=]	NP_001341618.1:p.[(Ser257Leu)];[(Ser257=]	Het	OD	NIHF (PIE, As), PH	(43)
						NIHF	(174)
		NM_001354689.3:c.[775T>C];[775=]	NP_001341618.1:p.[(Ser259Pro)];[(Ser259=]	Het	OD	NIHF (PIE, As), PH	(43)
		NM_001354689.3:c.[778A>C];[778=]	NP_001341618.1:p.[(Thr260Pro)];[(Thr260=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(174)
		NM_002880.4:c.[779C>T];[779=]	NP_002871.1:p.[(Thr260Ile)];[(Thr260=]	Het	OD	NIHF	(100)
137	RARS2	NM_002880.4:c.[1814C>T];[1814=]	NP_002871.1:p.[(Ser605Phe)];[(Ser605=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(241)
		NM_005055.5:c.[188T>C];[1119_1121delGAA]	NP_005046.2:p.[(Leu63Pro)];[(Lys373del)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As)	(145)
		NM_005055.5:c.484G>A	NP_005046.2:p.(Glu162Lys)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(242)
		NM_005055.5:c.[368G>A];[149_153delins24]	NP_005046.2:p.[(Gly123Asp)];[?]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE)	(145)
		NM_005055.5:c.1119_1121delGAA	NP_005046.2:p.(Lys373del)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE)	(145)
		NM_005055.5:c.[1172T>C];[484G>A]	NP_005046.2:p.[(Leu391Pro)];[(Glu162Lys)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE)	(144)
138	RARS2	NM_005055.5:c.1177_1178delAA	NP_005046.2:p.Asn393Glnfs*31	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE)	(144)
		NM_020320.5:c.[1A>G];[613-3927C>T]	NP_064716.2:p.[(Met1Val)];[?]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PeE, PIE), PH	(243)

Tablo 1. (Devam)

138	RASA1	NM_002890.3:c.[1698+2dupT];[1698+2=]	NP_002881.1:p.?	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(244)
		NM_002890.3:c.[2446_2447delGA];[2446_2447=]	NP_002881.1:p.[(Asp816Leufs*13)];[(Asp816=)]	Het	OD	NIHF	(144)
		NM_002890.3:c.[2534_2535insTA];[2534_2535=]	NP_002881.1:p.[(Leu845Phefs*6)];[(Leu845=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(245)
139	RFWD3	NM_018124.4:c.[879G>T];[835A>G]	NP_060594.3:p.[(Gln293His)];[(Met279Val)]	BHet	BOR	NIHF, PH	(84)
140	RIT1	NM_006912.6:c.[170C>G];[170=]	NP_008843.1:p.[(Ala57Gly)];[(Ala57=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(246)
		NM_006912.6:c.[229G>T];[229=]	NP_008843.1:p.[(Ala77Ser)];[(Ala77=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(246)
		NM_006912.6:c.[229G>A];[229=]	NP_008843.1:p.[(Ala77Thr)];[(Ala77=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(246)
		NM_006912.6:c.[245T>G];[245=]	NP_008843.1:p.[(Phe82Cys)];[(Phe82=)]	Het	OD	NIHF	(124)
		NM_006912.6:c.[246T>G];[246=]	NP_008843.1:p.[(Phe82Leu)];[(Phe82=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(246)
		NM_006912.6:c.[268A>G];[268=]	NP_008843.1:p.[(Met90Val)];[(Met90=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH, KH	(248)
		NM_006912.6:c.[270G>C];[270=]	NP_008843.1:p.[(Met90Ile)];[(Met90=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE), PH	(246)
		NM_006912.6:c.[319A>G];[319=]	NP_008843.1:p.[(Met107Val)];[(Met107=)]	Het	OD	NIHF	(100)
		NM_006912.6:c.[319A>G];[319=]	NP_008843.1:p.[(Met107Val)];[(Met107=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(174)
141	RPL11	NM_001199802.1:c.[314_315delGT];[314=]	NP_001186731.1:p.[(Phe105fs*14)];[(Phe105=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PeE), KH	(32)
142	RPL3L	NM_005061.3:c.[76C>G];[76=]	NP_005052.1:p.[(Arg26Gly)];[(Arg26=)]	Het	OD	NIHF	(249)
143	RPL15	NM_001253379.2:c.[85C>T];[85=]	NP_001240308.1:p.[(Gln29*)];[(Gln29=)]	Het	OD	NIHF	(250)
		NM_001253379.2:c.[242dupA];[242=]	NP_001240308.1:p.[(Tyr81*fs*1)];[(Tyr81=)]	Het	OD		
144	RPS19	NM_001022.4:c.[13dupA];[13=]	NP_001013.1:p.[(Thr5Asnfs*46)];[(Thr5=)]	Het	OD	NIHF	(251)
145	RRAS2	NM_001177314.2:c.[110A>T];[110A=]	NP_001170785.1:p.[(Gln37Leu)];[(Gln37=)]	Het	OD	NIHF	(100)
146	RYR1	NM_000540.3:c.2097_2123del27	NP_000531.2:p.(Glu699_Gly707del)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, PeE, As), KH	(252)
		NM_000540.3:c.[4567A>C];[9851G>A]	NP_000531.2:p.(Thr1523Pro);[(Trp3284*)]	BHet	BOR	NIHF (PIE, As), KH	(253)
		NM_000540.3:c.[6721C>T];[14645C>T]	NP_000531.2:p.[(Arg2241*)];[(Thr4882Met)]	BHet	BOR	NIHF	(205)
		NM_000540.3:c.[9221C>T];[14130-2A>G]	NP_000531.2:p.[(Ser3074Phe)];[?]	BHet	BOR	NIHF	(200)
		NM_001042723.2:c.9686-1G>C	NP_001036188.1:p.?	Hom	OR	NIHF	(254)
		NM_000540.3:c.11778+1G>T	NP_000531.2:p.?	Hom	OR	NIHF	(100)

Tablo 1. (Devam)

146	RYR1	NM_000540.3:c.[12013-2A>G];[14344G>A]	NP_000531.2:p.[?];[(Gly4782Arg)]	BHet	BOR	NIHF	(200)
		NM_000540.3:c.[13999-2A>G];[12271delG]	NP_000531.2:p.[?];[(Asp4091Thrfs*31)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE), KH	(102)
147	SCN5A	NM_198056.2:c.[1226T>C];[1226=]	NP_932173.1:p.[(Leu409Pro)];[(Leu409=)]	Het	OD	NIHF (PIE, PeE, As)	(255)
		NM_198056.2:c.[1858C>T];[1858=]	NP_932173.1:p.[(Arg620Cys)];[(Arg620=)]	Het	OD	NIHF	(256)
148	SEC23B	NM_006363.6:c.[325G>A];[325=]	NP_006354.2:p.[(Glu109Lys)];[(Glu109=)]	Het	OD	NIHF	(257)
		NM_006363.6:c.[325G>A];[2101C>T]	NP_006354.2:p.[(Glu109Lys)];[(Arg701Cys)]	BHet	BOR	NIHF	(258)
		NM_006363.6:c.[325G>A];[197G>A]	NP_006354.2:p.[(Glu109Lys)];[(Cys66Tyr)]	BHet	BOR		
		NM_006363.6:c.[325G>A];[221+3A>G]	NP_006354.2:p.[(Glu109Lys)];[?]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, PIE)	(102)
149	SERPINA11	NM_001080451.2:c.643+1G>A	NP_001073920.1:p.?	Hom	OR	NIHF	(103)
150	SGPL1	NM_003901.4:c.664C>T	NP_003892.2:p.(Arg222Trp)	Hom	OR	NIHF	(259)
		NM_003901.4:c.1037G>T	NP_003892.2:p.(Ser346Ile)	Hom	OR	NIHF	(259)
		NM_003901.4:c.1233delC	NP_003892.2:p.(Phe411Leufs*56)	Hom	OR	NIHF	(260)
151	SHOC2	NM_007373.4:c.[4A>G];[4=]	NP_031399.2:p.[(Ser2Gly)];[(Ser2=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As), PH	(261)
						NIHF (DAÖ, PIE)	(262)
						NIHF (DAÖ, PIE)	(174)
		NM_007373.4:c.[519G>A];[519G=]	NP_031399.2:p.[(Met173Ile)];[(Met173=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(32)
152	SLC17A5	NM_012434.5:c.308G>A	NP_036566.1:p.(Trp103*)	Hom	OR	NIHF	(105)
		NM_012434.5:c.533delC	NP_036566.1:p.(Thr178Asn)	Hom	OR	NIHF	(162)
		NM_012434.5:c.738_741delTGGTTA	NP_036566.1:p.(Trp246_Leu247del)	Hom	OR	NIHF	(103)
		NM_012434.5:c.[908G>A];[1259+5G>T]	NP_036566.1:p.[(Trp303*)];[?]	BHet	BOR	NIHF (PIE, As)	(263)
		NM_012434.5:c.979-1G>T	NP_036566.1:p.?	Hom	OR	NIHF, (DAÖ, As), PH	(264)
		NM_012434.5:c.1111+1G>A	NP_036566.1:p.?	Hom	OR	NIHF	(103)
153	SLC26A2	NM_000112.4:c.1987G>A	NP_000103.2:p.(Gly663Arg)	Hom	OR	NIHF	(265)
154	SLC30A5	NM_022902.5:c.832_836delATCTT	NP_075053.2:p.(Ile278Phefs*33)	Hom	OR	NIHF	(266)
		NM_022902.5:c.1981_1982delCA	NP_075053.2:p.(His661Tyrfs*10)	Hom	OR	NIHF	(266)
155	SMAD6	NM_005585.5:c.818A>G	NP_005576.3:p.(Glu273Gly)	Hom	OR	NIHF	(105)
156	SOS1	NM_005633.3:c.[1132A>G];[1132=]	NP_005624.2:p.[(Thr378Ala)];[(Thr378=)]	Het	OD	NIHF	(144)
157	SOX18	NM_018419.3:c.[865C>A];[865=]	NP_060889.1:p.[(C240*)];[(C240=)]	Het	OD	NIHF	(267)

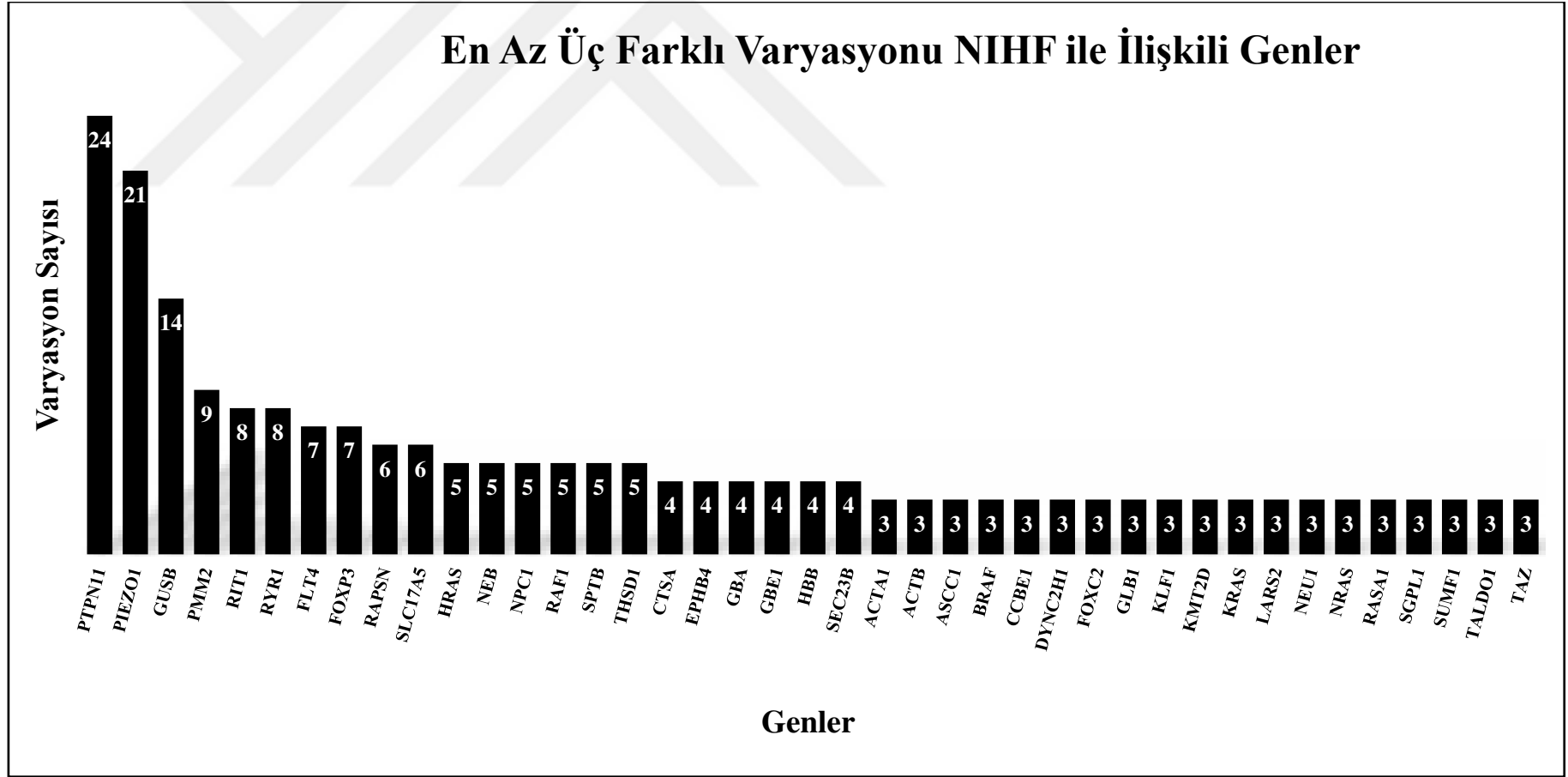
Tablo 1. (Devam)

158	SPTB	NM_001024858.3:c.[5165_5166delTT];[5165_5166=]	NP_001020029.1:p.[(Phe1722*fs*1)];[(Phe1722=)]	Het	OD	NIHF	(268)
		NM_001024858.3:c.6055T>C	NP_001020029.1:p.(Ser2019Pro)	Hom	OR	NIHF (PIE, As)	(269)
		NM_001024858.3:c.[6055T>C];[1041C>A]	NP_001020029.1:p.[(Ser2019Pro)];[(Tyr347*)]	BHet	BOR	NIHF	(270)
		NM_001024858.3:c.[6055T>C];[6224A>G]	NP_001020029.1:p.[(Ser2019Pro)];[(Glu2075Gly)]	BHet	BOR	NIHF	(270)
		NM_001024858.3:c.6074T>G	NP_001020029.1:p.(Leu2025Arg)	Hom	OR	NIHF	(271)
159	STAT3	NM_213662.2:c.[1022C>T];[1022C=]	NP_998827.1:p.[(Thr341Ile)];[(Thr341=)]	Het	OD	NIHF (PIE, As)	(32)
160	SVOPL	NM_174959.3:c.205delT	NP_777619.1:p.(Phe69Leufs*28)	Hom	OR	NIHF	(103)
161	SUMF1	NM_182760.4:c.191C>A	NP_877437.2:p.(Ser64*)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, As)	(272)
		NM_182760.4:c.603-2A>G	NP_877437.2:p.?	Hom	OR	NIHF	(273, 274)
		NM_182760.4:c.691_691dupT	NP_877437.2:p.(Try231Leufs*11)	Hom	OR	NIHF	(100)
162	SUZ12	NM_015355.4:c.[1451delG];[1451G=]	NP_056170.2:p.[Gly484Valfs*4];[Gly484=]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(32)
163	TALDO1	NM_006755.2:c.512_514delCCT	NP_006746.1:p.(Ser171del)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE), HP	(275)
		NM_006755.2:c.574C>T	NP_006746.1:p.(Arg192Cys)	Hom	OR	NIHF	(276)
		NM_006755.2:c.[895_897delAAC];[931G>A]	NP_006746.1:p.[(Asn299del)];[(Gly311Arg)]	BHet	BOR	NIHF	(277)
164	TAPT1	NM_153365.3:c.1058A>T	NP_699196.2:p.(Asp353Val)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(278)
165	TAZ	NM_000116.5:c.[280C>G];[280=]	NP_000107.1:p.[(Arg94Gly)];[(Arg94=)]	Het	XOD	NIHF	(279)
		NM_000116.5:c.481G>A	NP_000107.1:p.[(Gly161Arg)]	Hem	XOR	NIHF	(280)
		NM_000116.5:c.583+5G>A	NP_000107.1:p.?	Hem	XOR	NIHF, PH	(158)
166	TBX5	NM_000192.3:c.[330_334delCGATC];[330_334=]	NP_000183.2:p.[(Asp110Glufs*8)];[(Asp110=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE)	(102)
167	THSD1	NM_018676.4:c.617G>A	NP_061146.1:p.(Cys206Tyr)	Hom	OR	NIHF	(120)
		NM_018676.4:c.617G>A	NP_061146.1:p.(Cys206Tyr)	Hom	OR	NIHF	(103)
		NM_018676.4:c.670G>A	NP_061146.1:p.(Arg224*)	Hom	OR	NIHF	(120)
		NM_199263.3:c.1163_1170delGGCCAGCC	NP_954872.1:p.(Arg388Glnfs*66)	Hom	OR	NIHF (PIE, As), PH	(281)
		NM_018676.4:c.1561C>T	NP_954872.1:p.(Gln521*)	Hom	OR	NIHF (PIE, As)	(282)
168	TPM1	NM_001018005.2:c.[G398A];[G398=]	NP_001018005.1:p.[(Arg133Gln)];[(Arg133=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(234)
169	TSC2	NM_000548.5:c.4703C>T	NP_000539.2:p.(Ser1568Phe)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, As), PH	(283)
		NM_000548.5:c.[557delT];[557=]	NP_000539.2:p.[(Phe186Serfs*16)];[(Phe186=)]	Het	OD	NIHF (PeE, PIE, As)	(284)

Tablo 1. (Devam)

170	UBN1	NM_016936:c.2356T>A	NM_016936:p.(Leu786Met)	Hom	OR	NIHF	(120)
171	UBQLN4	NM_020131.5:c.[976C>T];[976=]	NP_064516.2:p.[(Arg326*)];[(Arg326=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, As)	(234)
172	UNC13D	NM_199242.3:c.1822_1833del12	NP_954712.1:p.(Val608_Ala611del)	Hom	OR	NIHF (DAÖ, PIE, PeE, As)	(285)
173	UROS	NM_001324036.2:c.655T>C	NP_001310965.1:p.(Cys73Arg)	Hom	OR	NIHF	(286)
		NM_001324036.2:c.[655T>C];[655=]	NP_001310965.1:p.[(Cys73Arg)];[(Cys73=)]	Het	OD	NIHF (DAÖ, PIE, PeE, As), KH	(287)
174	WDR35	NM_020779.4:c.1560>G	NP_065830.2:p.(Leu520Pro)	Hom	OR	NIHF, PH	(288)
175	WDR81	NM_001163809.2:c.[218delT];[2836_2839delTTTG]	NP_001157281.1:p.[(Leu73Argfs*181)];[(Phe946Serfs*17)]	BHet	BOR	NIHF (DAÖ, As), KH	(143)

Bir gende aynı hastalıkla ilişkilendirilen farklı mutasyonların sayısının fazla olması o genin hastalıkla olan ilişkisini güçlendirdiği kabul edilmektedir (289). Bu nedenle, NIHF ilişkili genler arasında üç veya daha fazla sayıda farklı mutasyonu NIHF ile ilişkilendirilen genlerin hangileri olduğu incelendi ve bu genlerin sayısının 41 olduğu belirlendi. Bu genler arasında ilk üç sırada en fazla sayıda mutasyonu NIHF ile ilişkilendirilen genlerin 24 farklı mutasyonla *PTPN11*, 21 farklı mutasyonla *PIEZO1* ve 14 farklı mutasyonla *GUSB* olduğu görüldü (Şekil 2).



Şekil 2. En az üç farklı varyasyonu NIHF ile ilişkili olan genlerin sembolleri ve varyasyon sayıları

4.1.1. NIHF Genlerinin Hastalık Gruplarıyla İlişkilendirilmesi

NIHF tanılı hastalarda NIHF'ye ek olarak vücudun farklı sistemlerini etkileyen çok sayıda farklı patolojiler görülmektedir. NIHF'li bireylerdeki klinik bulgular dikkate alınarak NIHF'li hastalarda sıklıkla gözlenen patolojilerin gruplandırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır (3, 24, 25). SMFM'nin belirlediği dağılıma göre NIHF'nin etiyolojisinin % 17-35'ini kardiyovasküler sorunların, % 7-16'sını kromozomal anomalilerinin, % 4-12'sini hematolojik sorunların, % 5-7'sini enfeksiyonların, % 6'sını torasik sorunların, % 3-10'unu ikizden ikize transfüzyonun, % 2-3'ünü idrar yolu anormalliklerinin, % 0,5-4'ünü gastrointestinal sorunların, % 5-6'sını lenfatik displazinin, % 2-3'ünü tümörlerin, % 3-4'ünü iskelet displazilerinin, % 3-4'ünü sendromların, % 1-2'sini metabolik sorunların oluşturduğu rapor edilirken; NIHF'nin etiyolojisinin % 15-25'inin idiyopatik olduğu belirtilmektedir (30). Ancak bu verilerle NIHF'li hastalarda neden çok sayıda farklı patolojinin görüldüğü açıklanamamaktadır. Öte yandan, tek gen hastalıklarında klinik ve genetik heterojenite görülebildiği bilinmekte olup, NIHF'nin genetik etiyolojisindeki genlerin daha önceden ilişkilendirildiği genetik hastalıklarda etkilenen sistemlerden yola çıkarak NIHF'nin etiyolojisini aydınlatmaya katkı sağlayabilecek bir yaklaşımın uygulanabileceği düşünüldü. Bu doğrultuda ilk olarak, NIHF genlerinin daha önceden ilişkilendirildiği genetik hastalıkların OMIM veri tabanında listelenen verilerini bir tabloda toplandı. Ardından bu hastalıkların ortak olarak etkiledikleri biyolojik mekanizmaları ve yerleri göz önünde bulundurarak hastalık alt ve üst grupları derlendi. Bu yaklaşımla, NIHF ilişkili genlerdeki mutasyonların etkiledikleri bilinen 345 farklı hastalık üzerinden NIHF ilişkili 24 farklı hastalık alt grubu ve 11 farklı hastalık ana grubu belirlendi (Tablo 2).

Tablo 2. NIHF genlerinin OMIM veri tabanında ilişkilendirildiği hastalıkların ve hastalık gruplarının listesi

No	Hastalık Ana Grubu	Hastalık Alt Grubu	Gen	İlişkilendirildiği Hastalık Adı	OMIM Kodu
1	Metabolik	Lizozomal Depo Hastalığı	CTSA	Galactosialidosis	256540
			NEU1	Sialidosis, Type I	256550
				Sialidosis, Type II	256550
			SLC17A5	Salla Disease	604369
				Sialic Acid Storage Disorder, Infantile	269920
			GLB1	GM1-Gangliosidosis, Type I	230500
				GM1-Gangliosidosis, Type II	230600
				GM1-Gangliosidosis, Type III	230650
				Mucopolysaccharidosis Type IVB (Morquio)	253010
			GUSB	Mucopolysaccharidosis VII	253220
			GALNS	Mucopolysaccharidosis IVA	253000
			GBA	Gaucher Disease, Perinatal Lethal	608013
				Gaucher Disease, Type I	230800
				Gaucher Disease, Type II	230900
				Gaucher Disease, Type III	231000
				Gaucher Disease, Type IIIC	231005
			NPC1	Niemann-Pick Disease, Type C1	257220
				Niemann-Pick Disease, Type D	257220
			SUMF1	Multiple Sulfatase Deficiency	272200
		Glikozilasyon Kusuru	ALG1	Congenital Disorder Of Glycosylation, Type Ik	608540

Tablo 2. (Devam)

1	Metabolik	Glikozilasyon Kusuru	ALG8	Congenital Disorder Of Glycosylation, Type Ih	608104
				Polycystic Liver Disease 3 With Or Without Kidney Cysts	617874
			ALG9	Congenital Disorder Of Glycosylation, Type II	608776
				Gillessen-Kaesbach-Nishimura Syndrome	263210
			PMM2	Congenital Disorder Of Glycosylation, Type Ia	212065
			MGAT2	Congenital Disorder Of Glycosylation, Type Iia	212066
			COG6	Congenital Disorder Of Glycosylation, Type Iil	614576
				Shaheen Syndrome	615328
			PIGN	Multiple Congenital Anomalies-Hypotonia-Seizures Syndrome 1	614080
		Glikojen Birikimi Hastalığı	GAA	Glycogen Storage Disease II	232300
			GBE1	Glycogen Storage Disease IV	232500
				Polyglucosan Body Disease, Adult Form	263570
		Biyosentez Kusurları	PIGC	Glycosylphosphatidylinositol Biosynthesis Defect 16	617816
			MVK	Mevalonic Aciduria	610377
				Porokeratosis 3, Multiple Types	175900
				Hyper-Igd Syndrome	260920
			PHGDH	Neu-Laxova Syndrome 1	256520
				Phosphoglycerate Dehydrogenase Deficiency	601815
			PSAT1	Neu-Laxova Syndrome 2	616038

Tablo 2. (Devam)

1	Metabolik	Biyosentez Kusurları	PSAT1	Phosphoserine Aminotransferase Deficiency	610992
		Oksidatif Fosforilasyon Kusuru	MRPS16	Combined Oxidative Phosphorylation Deficiency 2	610498
			MRPS22	Combined Oxidative Phosphorylation Deficiency 5	611719
				Ovarian Dysgenesis 7	618117
			AARS2	Combined Oxidative Phosphorylation Deficiency 8	614096
				Leukoencephalopathy, Progressive, With Ovarian Failure	615889
			ACAD9	Mitochondrial Complex I Deficiency, Nuclear Type 20	611126
			NDUFB10	Mitochondrial Complex I Deficiency, Nuclear Type 35	619003
			HADHB	Trifunctional Protein Deficiency	609015
		Diğer	MMACHC	Methylmalonic Aciduria And Homocystinuria, Cblc Type	277400
			AHCY	Hypermethioninemia With Deficiency Of S-Adenosylhomocysteine Hydrolase	613752
			ALPL	Hypophosphatasia, Adult	146300
				Hypophosphatasia, Childhood (İnfantile)	241510
				Odontohypophosphatasia	146300
			TALDO1	Transaldolase Deficiency	606003
			PEX3	Peroxisome Biogenesis Disorder 10A (Zellweger)	614882
				Peroxisome Biogenesis Disorder 10B	617370
			UROS	Porphyria, Congenital Erythropoietic	263700
2	Sendromik	Rasopatiler	RAF1	Noonan Syndrome 5	611553
				LEOPARD Syndrome 2	611554
				Cardiomyopathy, Dilated, 1NN	615916
			PTPN11	Noonan Syndrome 1	163950
				LEOPARD Syndrome 1	151100
				Metachondromatosis	156250
				Leukemia, Juvenile Myelomonocytic, Somatic	607785

Tablo 2. (Devam)

2	Sendromik	Rasopatiler	KRAS	Noonan Syndrome 3	609942
				Cardiofaciocutaneous Syndrome 2	615278
				Arteriovenous Malformation Of The Brain, Somatic	108010
				RAS-Associated Autoimmune Leukoproliferative Disorder	614470
				Schimmelpenning-Feuerstein-Mims Syndrome, Somatic Mosaic	163200
				Bladder Cancer, Somatic	109800
				Breast Cancer, Somatic	114480
				Gastric Cancer, Somatic	137215
				Leukemia, Acute Myeloid, Somatic	601626
				Lung Cancer, Somatic	211980
				Oculoectodermal Syndrome, Somatic	600268
				Pancreatic Carcinoma, Somatic	260350
			NRAS	Noonan Syndrome 6	613224
				Melanocytic Nevus Syndrome, Congenital, Somatic	137550
				Neurocutaneous Melanosis, Somatic	249400
				Schimmelpenning-Feuerstein-Mims Syndrome, Somatic Mosaic	163200
				RAS-Associated Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome Type IV, Somatic	614470
				Colorectal Cancer, Somatic	114500
				Epidermal Nevus, Somatic	162900
				Thyroid Carcinoma, Follicular, Somatic	188470
			BRAF	Noonan Syndrome 7	613706
				LEOPARD Syndrome 3	613707
				Cardiofaciocutaneous Syndrome	115150
				Adenocarcinoma Of Lung, Somatic	211980
				Colorectal Cancer, Somatic	114500

Tablo 2. (Devam)

2	Sendromik	Rasopatiler	BRAF	Melanoma, Malignant, Somatic	155600
			SOS1	Noonan Syndrome 4	610733
				Fibromatosis, Gingival, 1	135300
			LZTR1	Noonan Syndrome 10	616564
				Noonan Syndrome 2	605275
			RIT1	Noonan Syndrome 8	615355
			RRAS2	Noonan Syndrome 12	618624
			HRAS	Costello Syndrome	218040
				Nevus Sebaceous Or Woolly Hair Nevus, Somatic	162900
				Schimmelpenning-Feuerstein-Mims Syndrome, Somatic Mosaic	163200
				Spitz Nevus Or Nevus Spilus, Somatic	137550
				Congenital Myopathy With Excess Of Muscle Spindles	218040
				Bladder Cancer, Somatic	109800
				Thyroid Carcinoma, Follicular, Somatic	188470
			MAP2K1	Cardiofaciocutaneous Syndrome 3	615279
				Melorheostosis, Isolated, Somatic Mosaic	155950
			MAP2K2	Cardiofaciocutaneous Syndrome 4	615280
			CBL	Noonan Syndrome-Like Disorder With Or Without Juvenile Myelomonocytic Leukemia	613563
				Juvenile Myelomonocytic Leukemia	607785
			SHOC2	Noonan Syndrome-Like With Loose Anagen Hair	607721
		Diğer	KMT2D	Kabuki Syndrome 1	147920
			ACTB	Baraitser-Winter Syndrome 1	243310
				Dystonia, Juvenile-Onset	607371
			FLVCR2	Proliferative Vasculopathy And Hydranencephaly-Hydrocephaly Syndrome	225790
			LARS2	Perrault Syndrome 4	615300

Tablo 2. (Devam)

2	Sendromik	Diğer	LARS2	Hydrops, Lactic Acidosis, And Sideroblastic Anemia	617021
			NIPBL	Cornelia De Lange Syndrome 1	122470
			FOXP3	Immunodysregulation, Polyendocrinopathy, And Enteropathy, X-Linked	304790
			CDC42	Takenouchi-Kosaki Syndrome	616737
			GRIP1	Fraser Syndrome 3	617667
			KAT6B	Genitopatellar Syndrome	606170
				SBBYSS Syndrome	603736
			KCTD1	Scalp-Ear-Nipple Syndrome	181270
			MYRF	Cardiac-Urogenital Syndrome	618280
				Encephalitis/Encephalopathy, Mild, With Reversible Myelin Vacuolization	618113
			PKD1L1	Heterotaxy, Visceral, 8, Autosomal	617205
			SUZ12	Imagawa-Matsumoto Syndrome	618786
3	Nöromusküler	Miyastenik Sendrom	CHRNA1	Myasthenic Syndrome, Congenital, 1A, Slow-Channel	601462
				Myasthenic Syndrome, Congenital, 1B, Fast-Channel	608930
				Multiple Pterygium Syndrome, Lethal Type	253290
			CHRND	Myasthenic Syndrome, Congenital, 3B, Fast-Channel	616322
				Multiple Pterygium Syndrome, Lethal Type	253290
				Myasthenic Syndrome, Congenital, 3A, Slow-Channel	616321
				Myasthenic Syndrome, Congenital, 3C, Associated With Acetylcholine Receptor Deficiency	616323
			RAPSN	Myasthenic Syndrome, Congenital, 11, Associated With Acetylcholine Receptor Deficiency	616326
				Fetal Akinesia Deformation Sequence 2	618388
			DOK7	Myasthenic Syndrome, Congenital, 10	254300
				Fetal Akinesia Deformation Sequence 3	618389

Tablo 2. (Devam)

3	Nöromusküler	Miyastenik Sendrom	MUSK	Myasthenic Syndrome, Congenital, 9, Associated With Acetylcholine Receptor Deficiency	616325
				Fetal Akinesia Deformation Sequence 1	208150
		Kontraktür Sendromları	GLE1	Lethal Congenital Contracture Syndrome 1	253310
				Congenital Arthrogryposis With Anterior Horn Cell Disease	611890
			NEK9	Lethal Congenital Contracture Syndrome 10	617022
				Nevus Comedonicus, Somatic	617025
				Arthrogryposis, Perthes Disease, And Upward Gaze Palsy	614262
			MYH3	Arthrogryposis, Distal, Type 2A (Freeman-Sheldon)	193700
				Arthrogryposis, Distal, Type 2B3 (Sheldon-Hall)	618436
				Contractures, Pterygia, And Spondylotarsal Fusion Syndrome 1A	178110
				Contractures, Pterygia, And Spondylotarsal Fusion Syndrome 1B	618469
		Spinal Musküler Atrofi	BICD2	Spinal Muscular Atrophy, Lower Extremity-Predominant, 2A, Autosomal Dominant	615290
				Spinal Muscular Atrophy, Lower Extremity-Predominant, 2B, Autosomal Dominant	618291
			ASCC1	Spinal Muscular Atrophy With Congenital Bone Fractures 2	616867
				Barrett Esophagus/Esophageal Adenocarcinoma	614266
			ASAH1	Spinal Muscular Atrophy With Progressive Myoclonic Epilepsy	159950
				Farber Lipogranulomatosis	228000
		Miyopati	ACTA1	Nemaline Myopathy 3, Autosomal Dominant Or Recessive	161800
				Myopathy, Actin, Congenital, With Cores	161800
				Myopathy, Actin, Congenital, With Excess Of Thin Myofilaments	161800
				Myopathy, Congenital, With Fiber-Type Disproportion 1	255310
				Myopathy, Scapulohumeroperoneal	616852
			NEB	Nemaline Myopathy 2, Autosomal Recessive	256030
				Arthrogryposis Multiplex Congenita 6	619334

Tablo 2. (Devam)

3	Nöromusküler	Miyopati	KLHL40	Nemaline Myopathy 8, Autosomal Recessive	615348
			LMOD3	Nemaline Myopathy 10	616165
			RYR1	Central Core Disease	117000
				Minicore Myopathy With External Ophthalmoplegia	255320
				King-Denborough Syndrome	145600
				Neuromuscular Disease, Congenital, With Uniform Type 1 Fiber	117000
		Kas Distrofisi	DMPK	Myotonic Dystrophy 1	160900
			FKTN	Muscular Dystrophy-Dystroglycanopathy (Congenital With Brain And Eye Anomalies), Type A, 4	253800
				Muscular Dystrophy-Dystroglycanopathy (Congenital Without Mental Retardation), Type B, 4	613152
				Muscular Dystrophy-Dystroglycanopathy (Limb-Girdle), Type C, 4	611588
				Cardiomyopathy, Dilated, 1X	611615
		Diğer	CHRNA1	Multiple Pterygium Syndrome, Lethal Type	253290
				Escobar Syndrome	265000
			HSPB1	Charcot-Marie-Tooth Disease, Axonal, Type 2F	606595
				Neuropathy, Distal Hereditary Motor, Type IIB	608634
			ITPR1	Spinocerebellar Ataxia 15	606658
				Spinocerebellar Ataxia 29, Congenital Nonprogressive	117360
				Gillespie Syndrome	206700
			WDR81	Cerebellar Ataxia, Mental Retardation, And Dysequilibrium Syndrome 2	610185
				Hydrocephalus, Congenital, 3, With Brain Anomalies	617967
4	Hematolojik	Anemi	GATA1	Anemia, X-Linked, With/Without Neutropenia And/Or Platelet Abnormalities	300835
				Leukemia, Megakaryoblastic, With Or Without Down Syndrome, Somatic	190685
				Thrombocytopenia, X-Linked, With Or Without Dyserythropoietic Anemia	300367

Tablo 2. (Devam)

4	Hematolojik	Anemi	GATA1	Thrombocytopenia With Beta-Thalassemia, X-Linked	314050
			SPTB	Anemia, Neonatal Hemolytic, Fatal Or Near-Fatal	617948
				Elliptocytosis-3	617948
				Spherocytosis, Type 2	616649
			CDAN1	Dyserythropoietic Anemia, Congenital, Type Ia	224120
			SEC23B	Dyserythropoietic Anemia, Congenital, Type II	224100
				Cowden Syndrome 7	616858
			KLF1	Dyserythropoietic Anemia, Congenital, Type IV	613673
				Blood Group--Lutheran Inhibitor	111150
			RPS19	Diamond-Blackfan Anemia 1	105650
			RPL11	Diamond-Blackfan Anemia 7	612562
			RPL15	Diamond-Blackfan Anemia 12	615550
			HBA1	Thalassemias, Alpha-	604131
				Heinz Body Anemias, Alpha-	140700
				Erythrocytosis, 7	617981
				Hemoglobin H Disease, Nondeletional	613978
				Methemoglobinemia, Alpha Type	617973
			HBA2	Thalassemias, Alpha-	604131
				Heinz Body Anemia	140700
				Erythrocytosis, 7	617981
				Hemoglobin H Disease, Deletional And Nondeletional	613978
			HBB	Thalassemia, Beta	613985
				Delta-Beta Thalassemia	141749
				Thalassemia-Beta, Dominant Inclusion-Body	603902
				Heinz Body Anemia	140700

Tablo 2. (Devam)

4	Hematolojik	Anemi	HBB	Sickle Cell Anemia	603903
				Erythrocytosis 6	617980
				Hereditary Persistence Of Fetal Hemoglobin	141749
				Methemoglobinemia, Beta Type	617971
			PRF1	Aplastic Anemia	609135
				Hemophagocytic Lymphohistiocytosis, Familial, 2	603553
				Lymphoma, Non-Hodgkin	605027
			PKLR	Pyruvate Kinase Deficiency	266200
				Adenosine Triphosphate, Elevated, Of Erythrocytes	102900
			UNC13D	Hemophagocytic Lymphohistiocytosis, Familial, 3	608898
			RFWD3	Fanconi Anemia, Complementation Group W	617784
			ATP11C	Hemolytic Anemia, Congenital, X-Linked	301015
		Diğer	PROC	Thrombophilia Due To Protein C Deficiency, Autosomal Dominant	176860
				Thrombophilia Due To Protein C Deficiency, Autosomal Recessive	612304
			MYSM1	Bone Marrow Failure Syndrome 4	618116
5	Kardiyovasküler	Kardiyomiyopati	ALPK3	Cardiomyopathy, Familial Hypertrophic 27	618052
			MYBPC3	Cardiomyopathy, Dilated, 1MM	615396
				Cardiomyopathy, Hypertrophic, 4	115197
				Left Ventricular Noncompaction 10	615396
			SCN5A	Cardiomyopathy, Dilated, 1E	601154
				Long QT Syndrome 3	603830
				Atrial Fibrillation, Familial, 10	614022
				Brugada Syndrome 1	601144
				Heart Block, Nonprogressive	113900
				Heart Block, Progressive, Type IA	113900

Tablo 2. (Devam)

5	Kardiyovasküler	Kardiyomiyopati	SCN5A	Sick Sinus Syndrome 1	608567
				Ventricular Fibrillation, Familial, 1	603829
			MYH7	Cardiomyopathy, Dilated, 1S	613426
				Cardiomyopathy, Hypertrophic, 1	192600
				Laing Distal Myopathy	160500
				Left Ventricular Noncompaction 5	613426
				Myopathy, Myosin Storage, Autosomal Dominant	608358
				Myopathy, Myosin Storage, Autosomal Recessive	255160
				Scapuloperoneal Syndrome, Myopathic Type	181430
			NEXN	Cardiomyopathy, Dilated, ICC	613122
				Cardiomyopathy, Hypertrophic, 20	613876
			RPL3L	Cardiomyopathy, Dilated, 2D	619371
			PRKAG2	Cardiomyopathy, Hypertrophic 6	600858
				Glycogen Storage Disease Of Heart, Lethal Congenital	261740
				Wolff-Parkinson-White Syndrome	194200
			TPM1	Cardiomyopathy, Dilated, 1Y	611878
				Cardiomyopathy, Hypertrophic, 3	115196
				Left Ventricular Noncompaction 9	611878
			TAZ	Barth Syndrome	302060
		Kan Damarı Anomalileri	RASA1	Capillary Malformation-Arteriovenous Malformation 1	608354
				Basal Cell Carcinoma, Somatic	605462
			ENPP1	Arterial Calcification, Generalized, Of Infancy, 1	208000
				Hypophosphatemic Rickets, Autosomal Recessive, 2	613312
				Cole Disease	615522
			KRIT1	Cerebral Cavernous Malformations-1	116860
				Cavernous Malformations Of CNS And Retina	116860

Tablo 2. (Devam)

5	Kardiyovasküler	Kan Damarı Anomalileri	KRIT1	Hyperkeratotic Cutaneous Capillary-Venous Malformations Associated With Cerebral Capillary Malformations	116860
			PIK3CA	CLAPO Syndrome, Somatic	613089
				Megalencephaly-Capillary Malformation-Polymicrogyria Syndrome, Somatic	602501
				CLOVES Syndrome, Somatic	612918
				Cowden Syndrome 5	615108
				Nevus, Epidermal, Somatic	162900
				Breast Cancer, Somatic	114480
				Colorectal Cancer, Somatic	114500
				Gastric Cancer, Somatic	613659
				Hepatocellular Carcinoma, Somatic	114550
				Keratosis, Seborrhic, Somatic	182000
				Macroductyly, Somatic	155500
				Nonsmall Cell Lung Cancer, Somatic	211980
				Ovarian Cancer, Somatic	167000
			GDF2	Telangiectasia, Hereditary Hemorrhagic, Type 5	615506
			THSD1	Aneurysm, Intracranial Berry, 12	618734
			SMAD6	Aortic Valve Disease 2	614823
		Diğer	GATA5	Congenital Heart Defects, Multiple Types, 5	617912
6	İskelet	Osteokondrodizplazi	CANT1	Desbuquois Dysplasia 1	251450
				Epiphyseal Dysplasia, Multiple, 7	617719
			TAPT1	Osteochondrodysplasia, Complex Lethal, Symoens-Barnes-Gistelinck Type	616897
			COL2A1	Achondrogenesis, Type II Or Hypochondrogenesis	200610
				Spondyloepiphyseal Dysplasia, Stanescu Type	616583
				Spondyloperipheral Dysplasia	271700

Tablo 2. (Devam)

6	İskelet	Osteokondrodisplazi	COL2A1	SED Congenita	183900
				Czech Dysplasia	609162
				Stickler Sydrome, Type I, Nonsyndromic Ocular	609508
				Kniest Dysplasia	156550
				Platyspondylic Skeletal Dysplasia, Torrance Type	151210
				Avascular Necrosis Of The Femoral Head	608805
				Legg-Calve-Perthes Disease	150600
				Osteoarthritis With Mild Chondrodysplasia	604864
				SMED Strudwick Type	184250
				Stickler Syndrome, Type I	108300
				Epiphyseal Dysplasia, Multiple, With Myopia And Deafness	132450
				Vitreoretinopathy With Phalangeal Epiphyseal Dysplasia	619248
			SLC26A2	Achondrogenesis Ib	600972
				Atelosteogenesis, Type II	256050
				De La Chapelle Dysplasia	256050
				Diastrophic Dysplasia	222600
				Diastrophic Dysplasia, Broad Bone-Platyspondylic Variant	222600
				Epiphyseal Dysplasia, Multiple, 4	226900
			INPPL1	Opsismodysplasia	258480
			LBR	Greenberg Skeletal Dysplasia	215140
				Pelger-Huet Anomaly	169400
				Pelger-Huet Anomaly With Mild Skeletal Anomalies	618019
				Reynolds Syndrome	613471
		İskelet Siliopatileri	DYNC2H1	Short-Rib Thoracic Dysplasia 3 With Or Without Polydactyly	613091
			KIAA0586	Short-Rib Thoracic Dysplasia 14 With Polydactyly	616546

Tablo 2. (Devam)

6	İskelet Siliopatileri	İskelet Siliopatileri	KIAA0586	Joubert Syndrome 23	616490
			WDR35	Short-Rib Thoracic Dysplasia 7 With Or Without Polydactyly	614091
				Cranioectodermal Dysplasia 2	613610
			IFT122	Cranioectodermal Dysplasia 1	218330
		Diğer	AMER1	Osteopathia Striata With Cranial Sclerosis	300373
7	Lenfatik	Lenfödem	ADAMTS3	Hennekam Lymphangiectasia-Lymphedema Syndrome 3	618154
			CCBE1	Hennekam Lymphangiectasia-Lymphedema Syndrome 1	235510
			FOXC2	Lymphedema-Distichiasis Syndrome	153400
				Lymphedema-Distichiasis Syndrome With Renal Disease And Diabetes Mellitus	153400
			GATA2	Emberger Syndrome	614038
				Immunodeficiency 21	614172
			SOX18	Hypotrichosis-Lymphedema-Telangiectasia Syndrome	607823
				Hypotrichosis-Lymphedema-Telangiectasia-Renal Defect Syndrome	137940
		Lenfatik Malformasyon	EPHB4	Lymphatic Malformation 7	617300
				Capillary Malformation-Arteriovenous Malformation 2	618196
			FLT4	Lymphatic Malformation 1	153100
				Congenital Heart Defects, Multiple Types, 7	618780
				Hemangioma, Capillary Infantile, Somatic	602089
			PIEZO1	Lymphatic Malformation 6	616843
				Dehydrated Hereditary Stomatocytosis With Or Without Pseudohyperkalemia And/Or Perinatal Edema	194380
			CALCRL	Lymphatic Malformation 8	618773
8	Nörogelişim	Epileptik Ensefalopati	GRIN2B	Epileptic Encephalopathy, Early Infantile, 27	616139
				Mental Retardation, Autosomal Dominant 6	613970
			PPP3CA	Developmental And Epileptic Encephalopathy 91	617711

Tablo 2. (Devam)

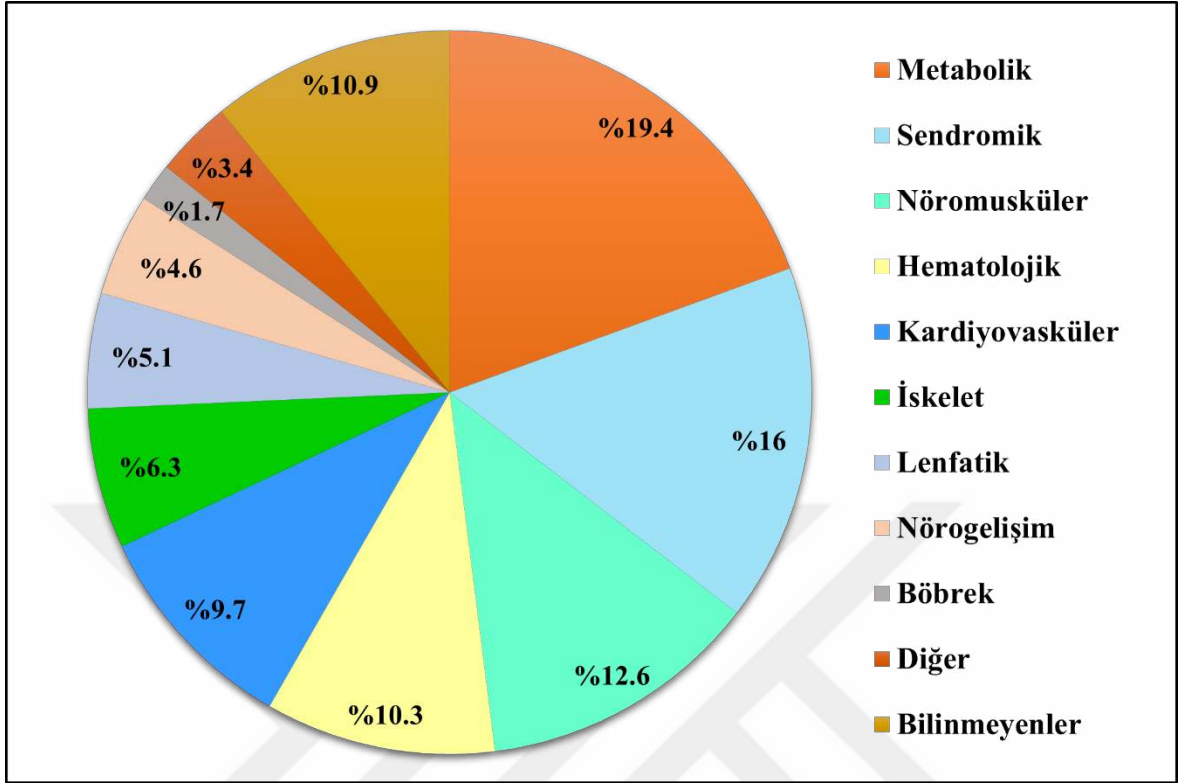
				Arthrogryposis, Cleft Palate, Craniosynostosis, And Impaired Intellectual Development	618265
		Sendromik	KIAA1109	Alkuraya-Kucinskas Syndrome	617822
			ERCC5	Cerebrooculofacioskeletal Syndrome 3	616570
				Xeroderma Pigmentosum, Group G/Cockayne Syndrome	278780
			MED13L	Mental Retardation And Distinctive Facial Features With Or Without Cardiac Defects	616789
				Transposition Of The Great Arteries, Dextro-Looped 1	608808
		Diğer	RARS2	Pontocerebellar Hypoplasia, Type 6	611523
			ATP1A2	Alternating Hemiplegia Of Childhood 1	104290
				Migraine, Familial Basilar	602481
				Migraine, Familial Hemiplegic, 2	602481
			KIDINS220	Spastic Paraplegia, Intellectual Disability, Nystagmus, And Obesity	617296
9	Böbrek	Nefrotik Sendrom	LAMB2	Nephrotic Syndrome, Type 5, With Or Without Ocular Abnormalities	614199
				Pierson Syndrome	609049
			SGPL1	Nephrotic Syndrome, Type 14	617575
		Diğer	INVS	Nephronophthisis 2, Infantile	602088
10	Diğer	-	CYP11A1	Adrenal Insufficiency, Congenital, With 46XY Sex Reversal, Partial Or Complete	613743
			FZD6	Nail Disorder, Nonsyndromic Congenital, 10, (Claw-Shaped Nails)	614157
			DNAH9	Ciliary Dyskinesia, Primary, 40	618300
			TSC2	Lymphangi leiomyomatosis, Somatic	606690
				Tuberous Sclerosis-2	613254
				Focal Cortical Dysplasia, Type II, Somatic	607341
			IKZF1	Immunodeficiency, Common Variable, 13	616873
			STAT3	Hyper-Ige Recurrent Infection Syndrome	147060
				Autoimmune Disease, Multisystem, Infantile-Onset, 1	615952

Tablo 2. (Devam)

11	Bilinmeyenler	-	DNAH14	-	-
			DUOXA1	-	-
			FEN1	-	-
			FCRL4	-	-
			ITGA9	-	-
			GALNT14	-	-
			MOCS3	-	-
			MYBPHL	-	-
			MYOM1	-	-
			NMNAT2	-	-
			PRPF19	-	-
			SERPINA11	-	-
			SVOPL	-	-
			UBN1	-	-
			BRAP	-	-
			E2F4	-	-
			KIAA1328	-	-
			SLC30A5	-	-
			UBQLN4	-	-

NIHF ile ilişkili hastalık gruplarının ve her bir hastalık alt grubunda bulunan NIHF genlerinin sembollerinin ve sayılarının bir şekil üzerinde daha kolayca görülebilmesi için Tablo 2’de sunulan verilerle Şekil 3 hazırlanmıştır. Ek olarak, NIHF’nin etiyolojisini oluşturan hastalık gruplarının yüzdelik dağılımlarını gösteren pasta grafiği de Şekil 4’te sunulmuştur.

Şekil 3. NIHF ilişkili genlere ilişkin OMIM veri tabanında bulunan veriler dikkate alınarak NIHF genlerinin ilişkili oldukları hastalık grupları ve bu gruplardaki genlerin dağılımları



Şekil 4. NIHF genlerinin ilişkilendirildiği hastalık gruplarının dağılım grafiği (Tablo 1 ve Tablo 2’deki veriler kullanılarak hazırlanmıştır)

4.2. NIHF Etiyolojisindeki Genlerin Kodladıkları Proteinlerin Birlikte Rol Oynayabildikleri Biyolojik Süreçlerin Belirlenmesi

NIHF’nin genetik etiyolojisinde yer alan genler listesindeki her bir gende ortaya çıkan mutasyon tek başına NIHF fenotipinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu durum, listedeki genlerin belirli bir biyolojik yolda rolü olan proteinleri kodladıkları ve bu nedenle listedeki genlerden herhangi birindeki mutasyon nedeniyle NIHF ilişkili sinyal yolağının bozularak NIHF’nin ortaya çıkmasına neden olduğu düşüncesini doğurmuştur. Listemizde 175 gen bulunması nedeniyle bu yolağın belirlenmesinde sistem biyolojisi biyoenformatik yöntemlerinin uygulanmasının doğru olacağı düşünülmüştür. Bu kapsamda ilk olarak NIHF ilişkili gen listemizden kodlanan proteinler hakkında literatürde daha önceden yapılmış çalışmalara dayalı fonksiyonel verilerden yola çıkarak NIHF ilişkili sinyal yolağını aydınlatmamıza yardımcı olacak verilerin elde edilmesi hedeflenmiştir. Bu doğrultuda NIHF ilişkili gen listemize ilişkin GO, KEGG, Wikipathways ve Reactome veri tabanlarındaki verilerle FZA’lar gerçekleştirildi. Farklı veri tabanlarının FZA sonuçlarında en yüksek gen

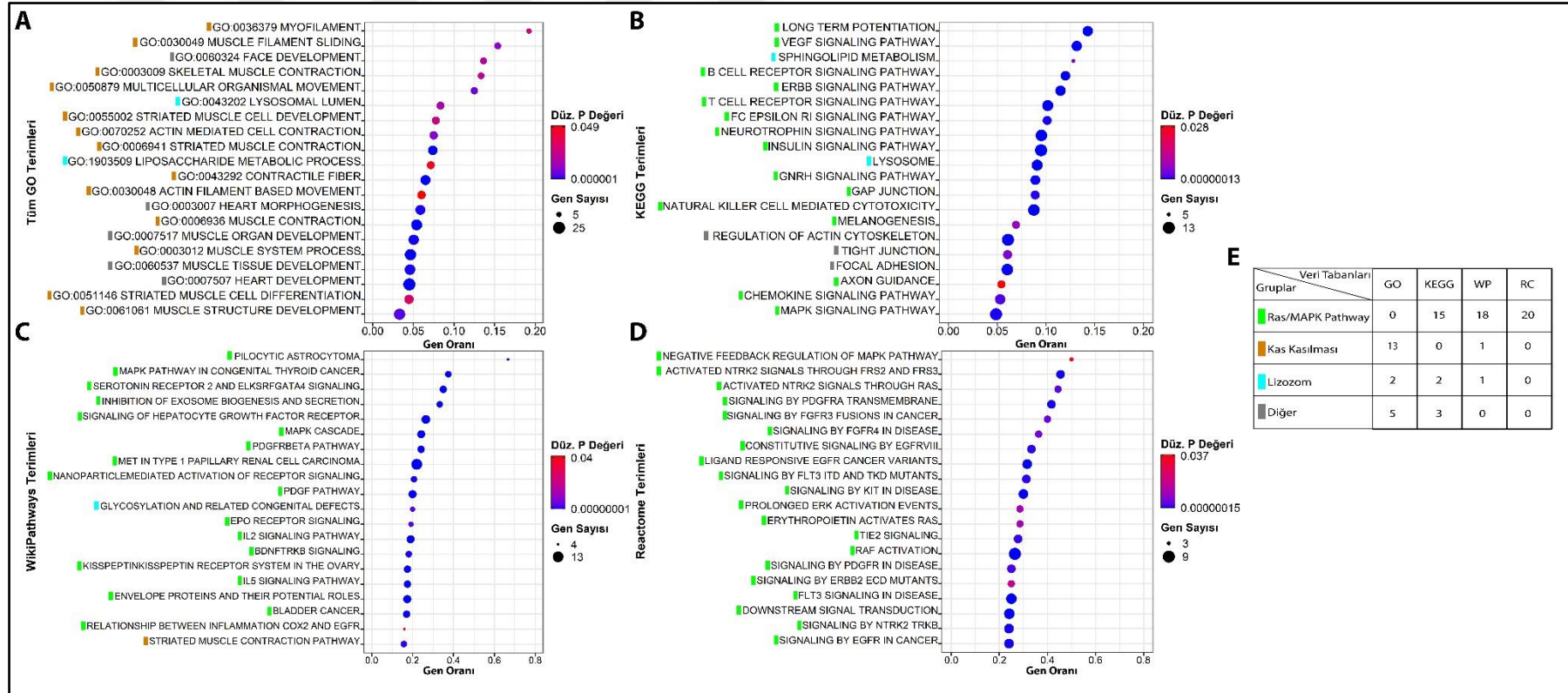
oranına sahip olan ve istatistiksel olarak anlamlı olan ilk 20 terimin sonuçları Şekil 5'te ve Tablo 3-6'da sunulmuştur.

FZA'lar sonucunda GO veri tabanındaki verilere göre zenginleşen ilk 20 terimden 13'ünün (%65) kas dokusuyla, beşinin (%25) kalp ve kas gelişimi süreçleriyle ve ikisinin (%10) ise lizozomda gerçekleşen süreçlerle ilgili oldukları tespit edildi. GO veri tabanının sonuçlarına göre, en yüksek gen oranına "MYOFILAMENT" terimine ait olduğu (0.192), en düşük değerin ise "MUSCLE STRUCTURE DEVELOPMENT" terimine ait olduğu (0.033) görüldü (Şekil 5A ve Tablo 3).

KEGG veri tabanındaki verilerle yapılan FZA sonucunda belirlenen ilk 20 terimden birinin (%5) doğrudan Ras/MAPK sinyal yolağı ve 14'ünün (%70) Ras/MAPK yolağı proteinlerinin görev aldığı diğer biyolojik süreçler/meکانizmalar, üçünün (%15) aktin hücre iskeleti ilişkili hücre etkileşimi ve ikisinin (%10) ise lizozomal aktivitelerle ilişkili terimler oldukları tespit edildi. İlk 20 terim içinden gen oranının en yüksek olduğu terimin "LONG TERM POTENTIATION" olduğu (0.143), en düşük gen oranına sahip terimin ise "MAPK SIGNALING PATHWAY" olduğu (0.049) belirlendi (Şekil 5B, Tablo 4).

WikiPathways veri tabanındaki terimlerle yapılan FZA sonucunda öne çıkan ilk 20 terimin 18'inin (%90) Ras/Mapk sinyal yolağı ile ilgili olup bunlardan ikisinin (%10) doğrudan Ras/MAPK sinyal yolağı oldukları ve geriye kalan iki terimin ise birinin lizozomla ilişkili (%5) (GLYCOSYLATION AND RELATED CONGENITAL DEFECTS) diğerinin ise kas ile ilişkili (%5) (STRIATED MUSCLE CONTRACTION PATHWAY) terimler oldukları görüldü. Wikipathways verilerinde gen oranının en yüksek olduğu terim "PILOCYTIC ASTROCYTOMA" iken (0.667), en düşük gen oranına sahip terimin "STRIATED MUSCLE CONTRACTION PATHWAY" olduğu (0.158) tespit edildi (Şekil C, Tablo 5).

Reactome veri tabanındaki sonuçlara göre gen oranı en yüksek olan ilk 20 terimin tamamının (%100) Ras/MAPK sinyal yolağıyla ilişkili olduğu tespit edildi. Bu terimlerden gen oranının en yüksek olduğu terimin "NEGATIVE FEEDBACK REGULATION OF MAPK PATHWAY" olduğu (0.50), en düşük değere sahip terimin ise "SIGNALING BY NTRK2 TRKB" olduğu (0.24) tespit edildi (Şekil 5D, Tablo 6).



Şekil 5. NIHF genlerinin GO, KEGG, WikiPathways ve Reactome veri setleri kullanılarak yapılan FZA sonuçlarına göre en yüksek gen oranına sahip ilk 20 terimin nokta grafikleri

Tablo 3. Gene Ontology veri tabanındaki terimler arasında zenginleşen ilk 20 terimin listesi

Sıra	GO Numarası	GO Terimi	Genler	Gen Sayısı	Toplam Gen Sayısı	Bonferroni (Düz. P Değeri)	Gen Oranı
1	GO:0036379	MYOFILAMENT	ACTA1, LMOD3, MYBPC3, MYBPHL, TPM1	5	26	0.027983	0.192
2	GO:0030049	MUSCLE FILAMENT SLIDING	ACTA1, MYBPC3, MYH3, MYH7, NEB, TPM1	6	39	0.010571	0.154
3	GO:0060324	FACE DEVELOPMENT	MAP2K1, MYH3, NIPBL, PTPN11, RAF1, SGPL1	6	44	0.019873	0.136
4	GO:0003009	SKELETAL MUSCLE CONTRACTION	CHRNA1, CHRND, DMPK, GAA, MYH3, MYH7	6	45	0.022356	0.133
5	GO:0050879	MULTICELLULAR ORGANISMAL MOVEMENT	CHRNA1, CHRND, DMPK, GAA, ITPR1, MYH3, MYH7	7	56	0.005450	0.125
6	GO:0043202	LYSOSOMAL LUMEN	ASAH1, CTSA, GAA, GALNS, GBA, GLB1, GUSB, NEU1	8	96	0.016052	0.083
7	GO:0055002	STRIATED MUSCLE CELL DEVELOPMENT	ACTA1, KLHL40, LMOD3, MYH3, NEB, PPP3CA, RYR1, TPM1	8	103	0.026090	0.078
8	GO:0070252	ACTIN MEDIATED CELL CONTRACTION	ACTA1, ATP1A2, MYBPC3, MYH3, MYH7, NEB, PIK3CA, SCN5A, TPM1	9	120	0.009052	0.075
9	GO:0006941	STRIATED MUSCLE CONTRACTION	ATP1A2, CHRNA1, CHRND, DMPK, GAA, LMOD3, MYBPC3, MYH3, MYH7, PIK3CA, SCN5A, TAZ, TPM1	13	176	0.000060	0.074
10	GO:1903509	LIPOSACCHARIDE METABOLIC PROCESS	ASAH1, CTSA, GBA, GLB1, NEU1, PIGC, SUMF1, PIGN	8	112	0.046371	0.071
11	GO:0043292	CONTRACTILE FIBER	ACTA1, LMOD3, MYBPC3, MYBPHL, MYH3, MYH7, MYOM1, NEB, NEXN, PPP3CA, RPL15, RYR1, SCN5A, TPM1, KLHL40	15	231	0.000023	0.065
12	GO:0030048	ACTIN FILAMENT BASED MOVEMENT	ACTA1, ATP1A2, MYH3, MYH7, NEB, PIK3CA, SCN5A, TPM1, MYBPC3	9	150	0.049903	0.060
13	GO:0003007	HEART MORPHOGENESIS	EPHB4, FOXC2, GAA, GATA5, MYBPC3, MYH7, NIPBL, RYR1, SMAD6, SOS1, SOX18, TBX5, TPM1, COL2A1	14	239	0.000257	0.059

Tablo 3. (Devam)

14	GO:0006936	MUSCLE CONTRACTION	ACTA1, ATP1A2, CALCRL, CHRNA1, CHRND, CHRNG, DMPK, GAA, LMOD3, MYBPC3, MYH3, MYH7, MYOM1, NEB, PIK3CA, RYR1, SCN5A, TAZ, TPM1	19	352	0.000004	0.054
15	GO:0007517	MUSCLE ORGAN DEVELOPMENT	ACTA1, CHRNA1, CHRND, FKTN, FOXC2, KLHL40, LMOD3, MYBPC3, MYH3, MYH7, MYOM1, NEB, PPP3CA, RYR1, TAZ, TPM1	16	317	0.000207	0.050
16	GO:0003012	MUSCLE SYSTEM PROCESS	ACTA1, ATP1A2, CHRNA1, CHRND, CHRNG, DMPK, GAA, GATA5, LMOD3, MYBPC3, MYH3, MYH7, MYOM1, NEB, PIK3CA, PPP3CA, RYR1, SCN5A, TAZ, TPM1, CALCRL	21	453	0.000007	0.046
17	GO:0060537	MUSCLE TISSUE DEVELOPMENT	ACTA1, ALPK3, CHRND, FOXC2, GATA5, KLHL40, LMOD3, MYBPC3, MYH7, MYOM1, NEB, PPP3CA, RYR1, TAZ, TBX5, TPM1, CHRNA1	17	371	0.000298	0.046
18	GO:0007507	HEART DEVELOPMENT	ALPK3, COL2A1, DYNC2H1, EPHB4, FOXC2, GAA, GATA5, IFT122, MAP2K1, MYBPC3, MYH7, NEB, NIPBL, PTPN11, RAF1, RYR1, SCN5A, SMAD6, SOS1, SOX18, TAZ, TBX5, TPM1, TSC2, CALCRL	25	555	0.000000	0.045
19	GO:0051146	STRIATED MUSCLE CELL DIFFERENTIATION	ACTA1, ALPK3, DMPK, KRAS, LMOD3, MYH3, NEB, PPP3CA, RYR1, TBX5, TPM1, KLHL40	12	269	0.033404	0.045
20	GO:0061061	MUSCLE STRUCTURE DEVELOPMENT	ACTA1, ALPK3, CHRND, DMPK, FKTN, FOXC2, KLHL40, KRAS, LMOD3, MYBPC3, MYH3, MYH7, MYOM1, NEB, PPP3CA, RYR1, TAZ, TBX5, TPM1, CHRNA1	20	607	0.003428	0.033

Tablo 4. KEGG veri tabanındaki terimler arasında zenginleşen ilk 20 terimin listesi

Sıra	KEGG Terimi	Genler	Gen Sayısı	Toplam Gen Sayısı	Bonferroni (Düz. P Değeri)	Gen Oranı
1	LONG TERM POTENTIATION	BRAF, GRIN2B, HRAS, ITPR1, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PPP3CA, RAF1	10	70	0.0000003	0.143
2	VEGF SIGNALING PATHWAY	CDC42, HRAS, HSPB1, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PIK3CA, PPP3CA, RAF1	10	76	0.0000006	0.132
3	SPHINGOLIPID METABOLISM	ASAHI, GBA, GLB1, NEU1, SGPL1	5	39	0.0056143	0.128
4	B CELL RECEPTOR SIGNALING PATHWAY	HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PIK3CA, PPP3CA, SOS1, RAF1	9	75	0.0000079	0.120
5	ERBB SIGNALING PATHWAY	BRAF, CBL, HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PIK3CA, RAF1, SOS1	10	87	0.0000021	0.115
6	T CELL RECEPTOR SIGNALING PATHWAY	CBL, CDC42, HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PIK3CA, PPP3CA, RAF1, SOS1	11	108	0.0000013	0.102
7	FC EPSILON RI SIGNALING PATHWAY	HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PIK3CA, RAF1, SOS1	8	79	0.0001429	0.101
8	NEUROTROPHIN SIGNALING PATHWAY	BRAF, CDC42, HRAS, KIDINS220, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PIK3CA, PTPN11, RAF1, SOS1	12	126	0.0000005	0.095
9	INSULIN SIGNALING PATHWAY	BRAF, CBL, HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PIK3CA, PKLR, PRKAG2, RAF1, SOS1, TSC2	13	137	0.0000001	0.095
10	LYSOSOME	ASAHI, CTSA, GAA, GALNS, GBA, GLB1, GUSB, NEU1, NPC1, SLC17A5, SUMF1	11	121	0.0000037	0.091
11	GNRH SIGNALING PATHWAY	CDC42, HRAS, ITPR1, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, RAF1, SOS1	9	101	0.0000818	0.089
12	GAP JUNCTION	HRAS, ITPR1, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, RAF1, SOS1	8	90	0.0003541	0.089
13	NATURAL KILLER CELL MEDIATED CYTOTOXICITY	BRAF, HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PIK3CA, PPP3CA, PRF1, PTPN11, RAF1, SOS1	12	137	0.0000013	0.088

Tablo 4. (Devam)

14	MELANOGENESIS	FZD6, HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, RAF1	7	101	0.0067545	0.069
15	REGULATION OF ACTIN CYTOSKELETON	ACTB, BRAF, CDC42, HRAS, ITGA9, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PIK3CA, RAF1, RRAS2, SOS1	13	213	0.0000169	0.061
16	TIGHT JUNCTION	ACTB, CDC42, HRAS, KRAS, MYH3, MYH7, NRAS, RRAS2	8	132	0.0048831	0.061
17	FOCAL ADHESION	ACTB, BRAF, CDC42, COL2A1, FLT4, HRAS, ITGA9, LAMB2, MAP2K1, PIK3CA, RAF1, SOS1	12	199	0.0000587	0.060
18	AXON GUIDANCE	CDC42, EPHB4, HRAS, KRAS, NRAS, PPP3CA, RASA1	7	129	0.0286631	0.054
19	CHEMOKINE SIGNALING PATHWAY	BRAF, CDC42, HRAS, KRAS, MAP2K1, NRAS, PIK3CA, RAF1, SOS1, STAT3	10	189	0.0016197	0.053
20	MAPK SIGNALING PATHWAY	BRAF, CDC42, HRAS, HSPB1, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PPP3CA, RAF1, RASA1, RRAS2, SOS1	13	267	0.0001928	0.049

Tablo 5. Wikipathways veri tabanındaki terimler arasında zenginleşen ilk 20 terimin listesi

Sıra	WikiPathways Terimi	Genler	Gen Sayısı	Toplam Gen Sayısı	Bonferroni (Düz. P Değeri)	Gen Oranı
1	PILOCYTIC ASTROCYTOMA	BRAF, PTPN11, RAF1, SOS1	4	6	0.000419	0.667
2	MAPK PATHWAY IN CONGENITAL THYROID CANCER	BRAF, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, RAF1, SOS1	6	16	0.000011	0.375
3	SEROTONIN RECEPTOR 2 AND ELK-SRF/GATA4 SIGNALING	HRAS, ITPR1, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, RAF1	7	20	0.000001	0.350
4	INHIBITION OF EXOSOME BIOGENESIS AND SECRETION BY MANUMYCIN A IN CRPC CELLS	BRAF, HRAS, KRAS, NRAS, RAF1, RRAS2	6	18	0.000019	0.333
5	SIGNALING OF HEPATOCYTE GROWTH FACTOR RECEPTOR	HRAS, MAP2K1, MAP2K2, PIK3CA, PTPN11, RAF1, RASA1, SOS1, STAT3	9	34	0.000000	0.265
6	MAPK CASCADE	BRAF, HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, RAF1, SOS1	8	33	0.000001	0.242
7	PDGFR BETA PATHWAY	HRAS, MAP2K1, PIK3CA, RAF1, RASA1, SOS1, STAT3	7	29	0.000009	0.241
8	MET IN TYPE 1 PAPILLARY RENAL CELL CARCINOMA	BRAF, CBL, CDC42, HRAS, KRAS, MAP2K1, NRAS, PIK3CA, PTPN11, RAF1, RPL11, SOS1, STAT3	13	59	0.000000	0.220
9	NANOPARTICLE-MEDIATED ACTIVATION OF RECEPTOR SIGNALING	HRAS, KRAS, MAP2K1, NRAS, RAF1, SOS1	6	29	0.000208	0.207
10	PDGF PATHWAY	CDC42, HRAS, MAP2K1, PTPN11, RAF1, RASA1, SOS1, STAT3	8	40	0.000003	0.200
11	GLYCOSYLATION AND RELATED CONGENITAL DEFECTS	ALG1, ALG8, ALG9, MGAT2, PMM2	5	25	0.002166	0.200
12	EPO RECEPTOR SIGNALING	MAP2K1, RAF1, RASA1, SOS1, STAT3	5	26	0.002564	0.192
13	IL2 SIGNALING PATHWAY	CBL, HRAS, MAP2K1, MAP2K2, PTPN11, RAF1, SOS1, STAT3	8	42	0.000005	0.190
14	BDNF-TRKB SIGNALING	BRAF, HRAS, MAP2K1, NRAS, SOS1, TSC2	6	33	0.000406	0.182

Tablo 5. (Devam)

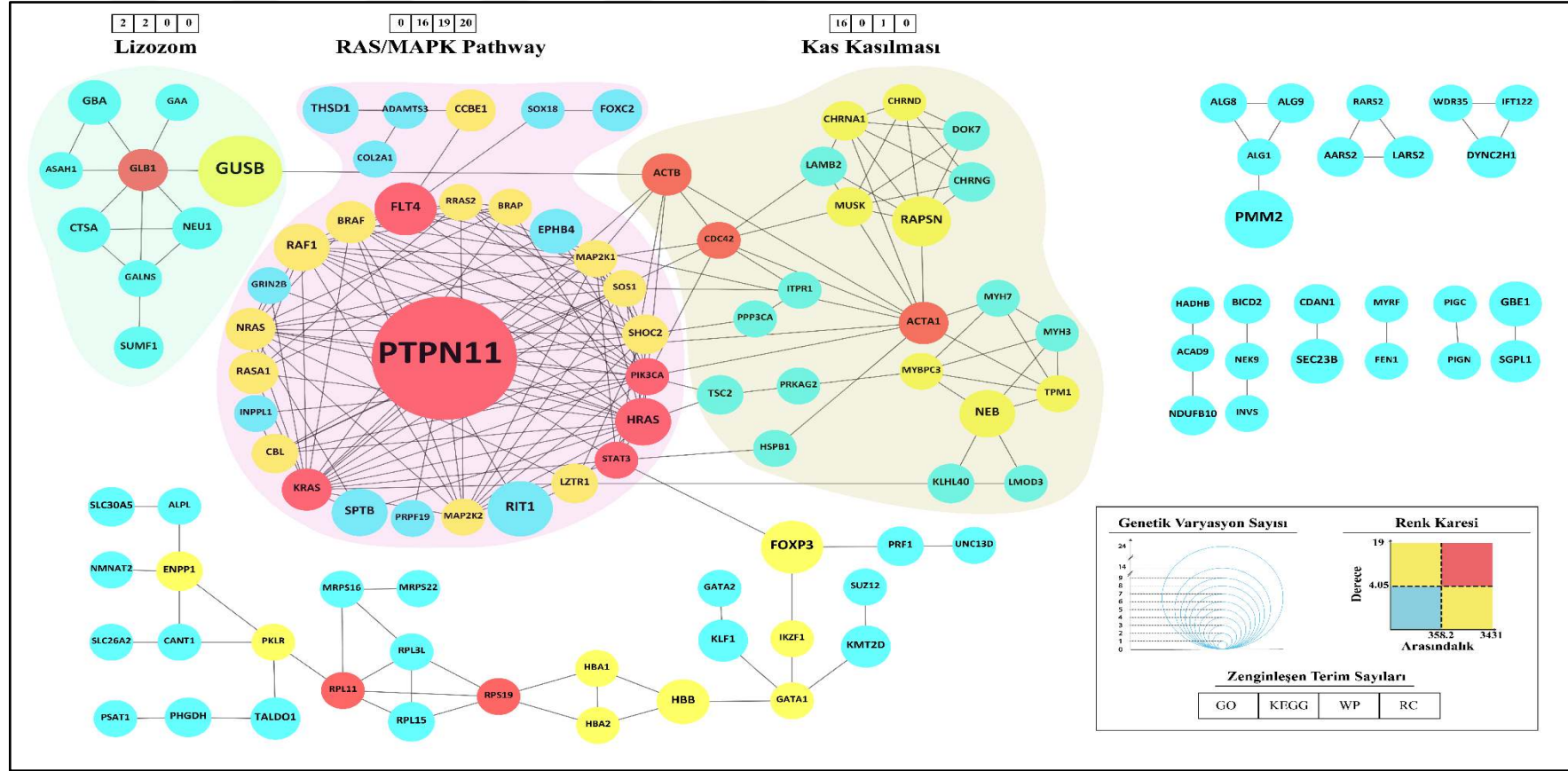
15	IL5 SIGNALING PATHWAY	KRAS, MAP2K1, MAP2K2, PTPN11, RAF1, SOS1, STAT3	7	40	0.000064	0.175
16	KISSPEPTIN/KISSPEPTIN RECEPTOR SYSTEM IN THE OVARY	CYP11A1, HRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, PIK3CA, RAF1	7	40	0.000064	0.175
17	ENVELOPE PROTEINS AND THEIR POTENTIAL ROLES IN EDMD PHYSIOPATHOLOGY	HRAS, KRAS, LBR, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, SOS1, TAZ	8	46	0.000009	0.174
18	BLADDER CANCER	BRAF, HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, RAF1	7	41	0.000074	0.171
19	RELATIONSHIP BETWEEN INFLAMMATION COX2 AND EGFR	BRAF, HRAS, NRAS, PIK3CA	4	25	0.041432	0.160
20	STRIATED MUSCLE CONTRACTION PATHWAY	ACTA1, MYBPC3, MYH3, MYOM1, NEB, TPM1	6	38	0.000846	0.158

Tablo 6. REACTOME veri tabanındaki terimler arasında zenginleşen ilk 20 terimin listesi

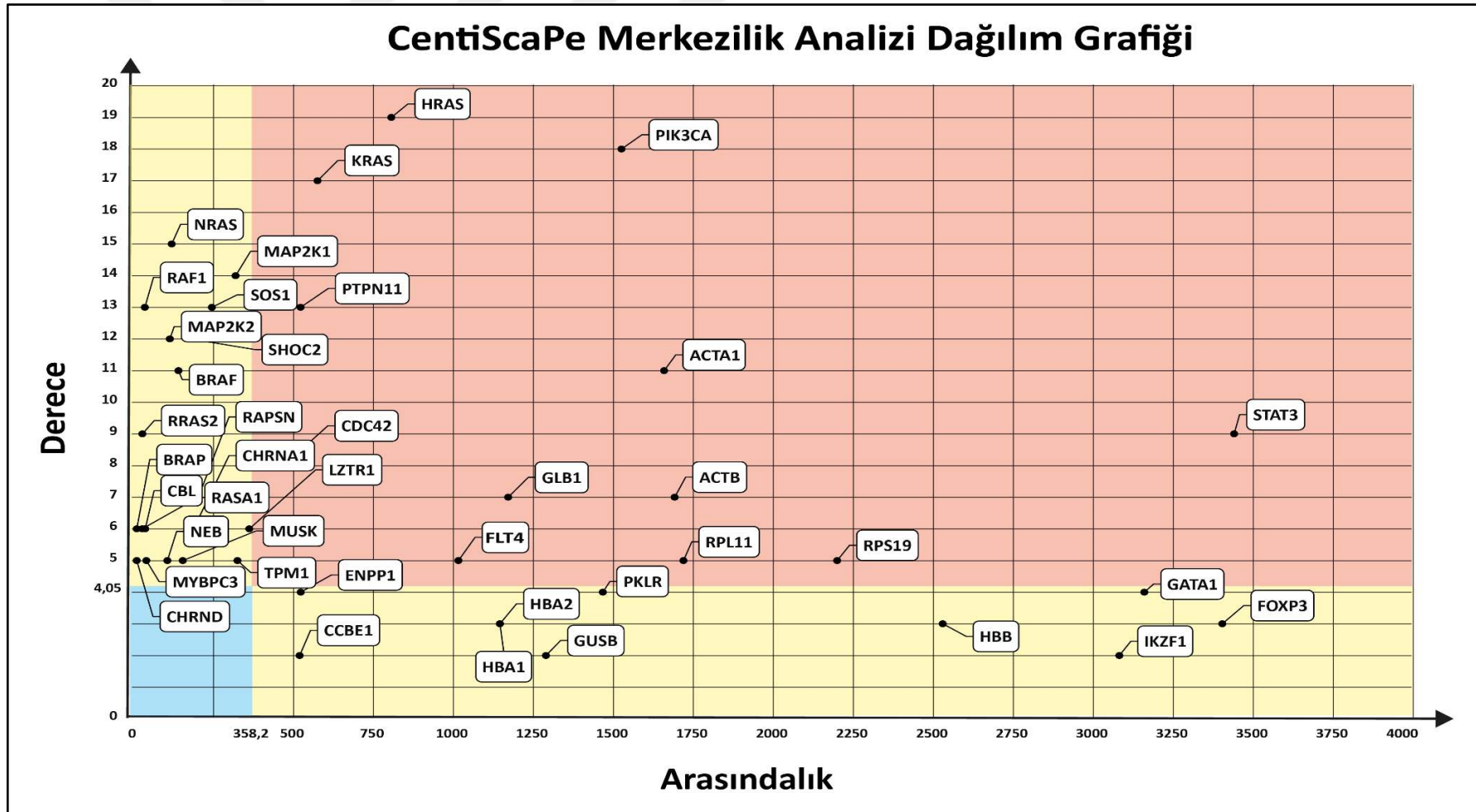
Sıra	REACTOME Terimi	Genler	Gen Sayısı	Toplam Gen Sayısı	Bonferroni (Düz. P Değeri)	Gen Oranı
1	NEGATIVE FEEDBACK REGULATION OF MAPK PATHWAY	BRAF, MAP2K2, RAF1	3	6	0.03766	0.50
2	ACTIVATED NTRK2 SIGNALS THROUGH FRS2 AND FRS3	HRAS, KRAS, NRAS, PTPN11, SOS1	5	11	0.00015	0.45
3	ACTIVATED NTRK2 SIGNALS THROUGH RAS	HRAS, KRAS, NRAS, SOS1	4	9	0.00276	0.44
4	SIGNALING BY PDGFRA TRANSMEMBRANE, JUXTAMEMBRANE AND KINASE DOMAIN MUTANTS	HRAS, KRAS, PIK3CA, STAT3, SOS1	5	12	0.00020	0.42
5	SIGNALING BY FGFR3 FUSIONS IN CANCER	HRAS, KRAS, PIK3CA, SOS1	4	10	0.00384	0.40
6	SIGNALING BY FGFR4 IN DISEASE	HRAS, KRAS, PIK3CA, SOS1	4	11	0.00520	0.36
7	CONSTITUTIVE SIGNALING BY EGFRVIII	HRAS, KRAS, PIK3CA, SOS1, CBL	5	15	0.00050	0.33
8	CONSTITUTIVE SIGNALING BY LIGAND RESPONSIVE EGFR CANCER VARIANTS	HRAS, KRAS, NRAS, PIK3CA, SOS1, CBL	6	19	0.00005	0.32
9	SIGNALING BY FLT3 ITD AND TKD MUTANTS	HRAS, KRAS, PIK3CA, PTPN11, SOS1	5	16	0.00065	0.31
10	SIGNALING BY KIT IN DISEASE	HRAS, KRAS, NRAS, PIK3CA, STAT3, SOS1	6	20	0.00006	0.30
11	PROLONGED ERK ACTIVATION EVENTS	BRAF, KIDINS220, MAP2K1, MAP2K2	4	14	0.01141	0.29
12	ERYTHROPOIETIN ACTIVATES RAS	HRAS, KRAS, NRAS, SOS1	4	14	0.01141	0.29
13	TIE2 SIGNALING	HRAS, KRAS, PIK3CA, PTPN11, SOS1	5	18	0.00106	0.28
14	RAF ACTIVATION	BRAF, BRAP, HRAS, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, NRAS, RAF1, SHOC2	9	34	0.00000	0.26
15	FLT3 SIGNALING IN DISEASE	CBL, HRAS, KRAS, NRAS, PIK3CA, PTPN11, SOS1	7	28	0.00001	0.25
16	SIGNALING BY PDGFR IN DISEASE	HRAS, KRAS, PIK3CA, SOS1, STAT3	5	20	0.00166	0.25
17	SIGNALING BY ERBB2 ECD MUTANTS	HRAS, KRAS, PIK3CA, SOS1	4	16	0.01781	0.25
18	DOWNSTREAM SIGNAL TRANSDUCTION	HRAS, KRAS, PIK3CA, PTPN11, RASA1, SOS1, STAT3	7	29	0.00002	0.24
19	SIGNALING BY EGFR IN CANCER	CBL, HRAS, KRAS, NRAS, PIK3CA, SOS1	6	25	0.00019	0.24
20	SIGNALING BY NTRK2 TRKB	HRAS, KRAS, NRAS, PIK3CA, PTPN11, SOS1	6	25	0.00019	0.24

4.3. NIHF İlişkili Proteinlerin Protein-Protein Etkileşim Ağının Belirlenmesi

FZA'lar ile NIHF ilişkili proteinlerin birlikte görev aldıkları biyolojik süreçler belirlenebiliyor olsa da FZA sonuçları NIHF ilişkili proteinlerin birbirleriyle yaptıkları etkileşimler (PPE) hakkında direkt bilgi sağlamamaktadır. Bu nedenle NIHF ilişkili sinyal yolağını ortaya çıkarabilmek için NIHF ilişkili proteinlerin PPE ağı belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla, STRING PPE veri tabanındaki verilerle NIHF ilişkili PPE ağı belirlenmeye çalışıldı. NIHF listemizdeki 175 proteinden 113'ünün yaptığı 229 bağlantıyı içeren PPE ağı belirlendi (Şekil 6). Bu proteinlerden ise 89 tanesinin 211 bağlantıyla tek bir ağ oluşturduğu görüldü. Ağda bulunan proteinlerden merkezi konumda olanları belirleyebilmek için CentiScaPe eklentisi kullanıldı. Merkezilik ölçütlerinden Arasındalık ve Derece ölçütü seçildi. Her bir proteinin ve ağın ortalama skorları bu kriterlere göre tespit edildi. Bunun sonucunda ağın ortalama Arasındalık değerinin 358.2 olduğu ve Derece değerinin ise 4.05 olduğu belirlendi (Şekil 7). Buna göre, listemizdeki proteinlerin 10 tanesinin sadece Arasındalık ölçütüne göre, 19 tanesinin sadece Derece ölçütüne göre 12 tanesinin ise her iki ölçüte göre ortalama değer üzerinde oldukları (Tablo 7'de "Kalın" olarak verilmiştir) yani merkezi konumda oldukları belirlendi. Bu verilere dayanarak hem Arasındalık hem de Derece bakımından ortalamanın üstünde olan proteinler ağda kırmızı renkle, ölçütlerden sadece birine ortalamanın üstünde olanlar ise sarı renkle gösterildi (Şekil 6 ve 7). Bunun yanı sıra, Cytoscape programı vasıtasıyla NIHF genlerinin belirlenmiş olan varyasyon sayılarına ile proteinlerin şekil içerisindeki boyutları orantılı olarak değiştirildi. Zenginleşme sonuçlarıyla oluşturulan PPE ağının sonuçları arasında uyumu gözleyebilmek amacıyla GO, KEGG, Reactome ve Wikipathways sonuçlarındaki terimlerde yer alan proteinler PPE ağındaki proteinlerle eşleştirildi. Bunun sonucunda Lizozom, Ras/MAPK Pathway ve Kas kasılması olarak üç ayrı grup olduğu tespit edildi (Şekil 6). Bu gruplar PPE ağı üzerinde arka planları renklendirilerek gösterildi.



Şekil 6. NIHF ilişkili genlerin STRING veri tabanına göre birbirleriyle etkileşimi. Merkezilik analizi sonucuna göre ortalama skorlar altında veya üstünde olmasına göre sarı, kırmızı ve mavi olarak proteinler renklendirilmiştir (bkz. Renk Karesi). İlgili proteinlerin Tablo 1’de belirtildiği üzere NIHF ile ilişkili varyasyon sayısına göre boyutları orantılı olarak büyütülmüştür (bkz. Genetik Varyasyon Sayısı). Oluşturulan PPE ağında, “Lizozom”, “RAS/MAPK Pathway” ve “Kas Kasılması” olmak üzere üç ana grupta toplanarak arka planı renklendirilmiştir. PPE ağındaki proteinlerin, zenginleşme analiz sonuçlarına göre kaç adet terimde ortak olarak yer aldığı üç ana grup üzerinde gösterilmiştir (bkz. Zenginleşen Terim Sayıları). Şekil 6’te verilen bu figür daha geniş boyutta Ek 1’de verilmiştir.



Şekil 7. NIHF ilişkili PPE ağının merkezi proteinlerinin belirlenmesinde kullanılan CentiScaPe uygulamasının sonucu. Analiz sonucuna göre Arasındalık ve Derece bakımında ortalamanın üstünde kalan proteinlerin arka planı kırmızı olarak renklendirildi; sadece bir kriter bakımından ortalamanın üstünde olanların ise arka planı sarı olarak renklendirildi. Sarı ve kırmızı alanlar içerisinde yer alan proteinler grafik üzerinde gösterildi.

Tablo 7. Arasındalık ve Derece Merkezilik Skorlarından en az biri ortalamasının üstünde olan proteinlerin skorları

Sayı	Genler	Arasındalık	Derece	Sayı	Genler	Arasındalık	Derece
1	STAT3	3431.1	9.0	22	CCBE1	510.0	2.0
2	RPS19	2190.0	5.0	23	LZTR1	353.1	6.0
3	RPL11	1710.0	5.0	24	TPM1	316.0	5.0
4	ACTB	1682.1	7.0	25	MAP2K1	310.2	14.0
5	ACTA1	1649.3	11.0	26	SOS1	236.3	13.0
6	PIK3CA	1516.0	18.0	27	RAPSN	193.6	7.0
7	GLB1	1162.0	7.0	28	CHRNA1	178.5	6.0
8	FLT4	1006.5	5.0	29	SHOC2	168.8	12.0
9	HRAS	797.0	19.0	30	MUSK	145.2	5.0
10	KRAS	566.2	17.0	31	BRAF	131.4	11.0
11	PTPN11	513.2	13.0	32	NRAS	110.2	15.0
12	CDC42	459.8	8.0	33	MAP2K2	104.4	12.0
13	FOXP3	3394.0	3.0	34	NEB	96.8	5.0
14	GATA1	3150.0	4.0	35	MYBPC3	31.0	5.0
15	IKZF1	3072.0	2.0	36	CBL	27.4	6.0
16	HBB	2520.0	3.0	37	RAF1	26.2	13.0
17	PKLR	1458.0	4.0	38	RRAS2	18.8	9.0
18	GUSB	1280.0	2.0	39	RASA1	18.1	6.0
19	HBA2	1136.0	3.0	40	BRAP	1.1	6.0
20	HBA1	1136.0	3.0	41	CHRND	1.0	5.0
21	ENPP1	514.0	4.0				

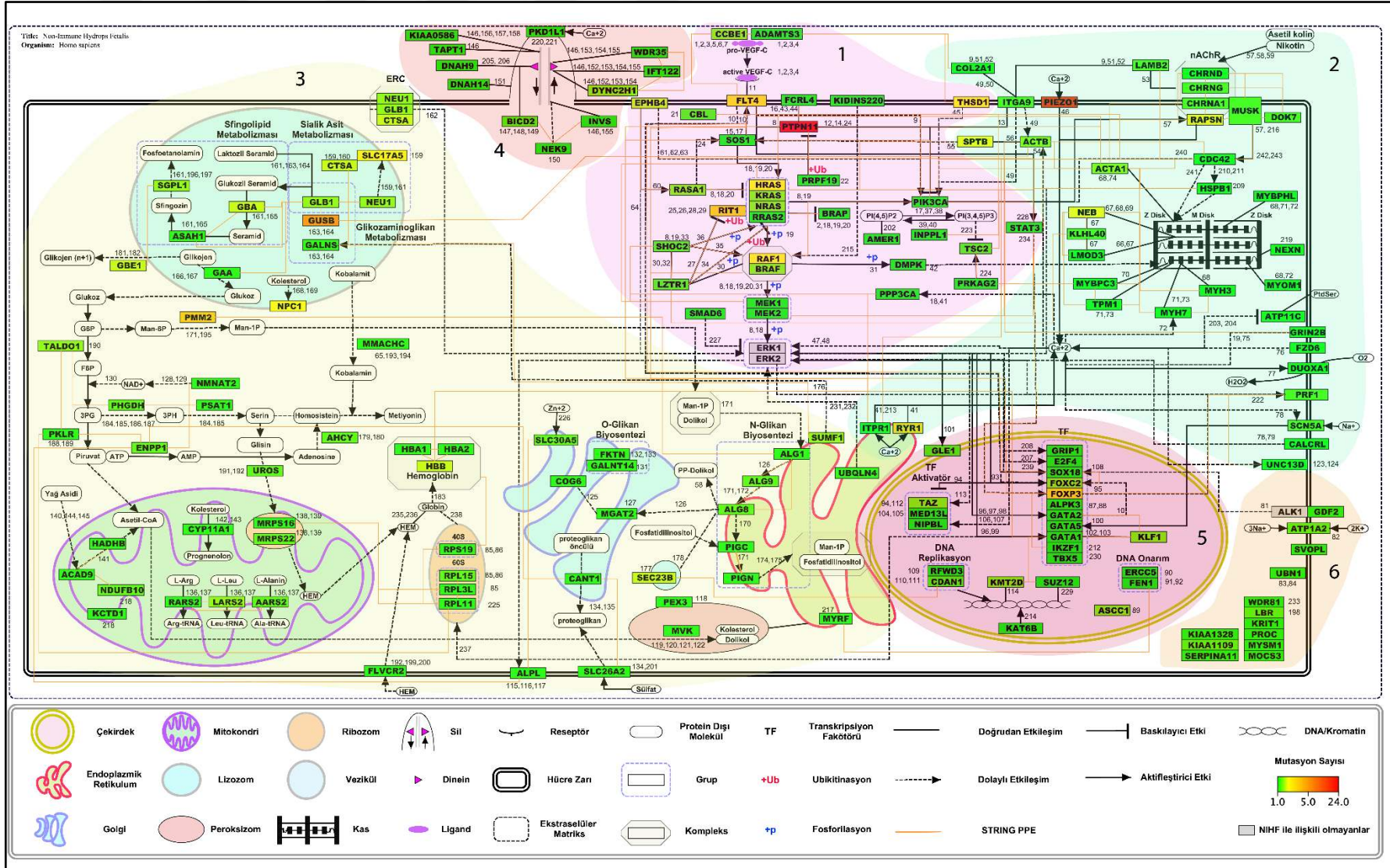
4.4. NIHF Hücre Sinyal Yolağının Belirlenmesi

NIHF'nin moleküler mekanizmasını daha iyi aydınlatabilmek amacıyla bir diğer sistem biyolojisi uygulaması olan hücre sinyal yolağı haritası oluşturma çalışması yapıldı. Bu doğrultuda KEGG ve Wikipathways gibi veri tabanları ve bu veri tabanlarına henüz girmemiş olan yeni literatür verileri dikkate alınarak PathVisio programıyla NIHF ilişkili sinyal yolağı oluşturulmuştur (Şekil 8) (ilgili referanslar Ek 3'te verilmiştir). Ayrıca PPE ağında gösterilen bağlantılar yolak üzerinde "STRING PPE" olarak ifade edilerek, farklı bir renk ile gösterilmiştir. NIHF ilişkili genler Tablo 1'den faydalanarak varyasyon sayılarına göre renklendirilmiştir.

Bu sonuçlar doğrultusunda, NIHF ilişkili genlerden kodlanan 33 proteinin (%18.9) FLT4/Ras/MAPK Yolağında, 36 proteinin (%20.1) Ca⁺² Sinyal Yolağı'nda, 24 proteinin (%13.7) çekirdekte, 11 proteinin (%6.3) sil yapısında, 58 proteinin (%33.1) biyoenerjetik ve metabolizma alt yolağında ve 13 proteinin (%7.4) ise hakkında yeterli fonksiyonel bilgiler bulunmaması nedeniyle diğer proteinlerle ilişkisiz olarak yolakta yer aldıkları görüldü.

Biyoenerjetik ve metabolizma alt yolağında yer alan 58 proteinden, 11 tanesinin (%18.9) lizozomda, 10 tanesinin (%17.2) mitokondride, 7 tanesinin (%12) golgide, 8 tanesinin (%13.7) endoplazmik retikulumda (ER'de), 4 tanesinin (%6) ribozomda, 2 tanesinin (%3) peroksizomda, 2 tanesinin (%3) hücre zarında ve 14 tanesinin (%24) ise sitoplazmada bulunmaktadır.





Şekil 8. NIHF ile ilişkili hücre sinyal yolağı (Açıklaması bir sonraki sayfadadır)

Şekil 8. NIHF ile ilişkili hücre sinyal yolağı. NIHF ilişkili proteinlerin bilinen fonksiyonları, protein etkileşimleri, hücre içindeki lokalizasyonları, yolak veri tabanlarındaki veriler ve literatür verileri göz önünde bulundurularak NIHF ilişkili hücre sinyal yolağı oluşturulmuştur. Fonksiyonlarına ve lokalizasyonlarına göre birbirleriyle daha yakından ilişkili olan proteinler bir ile altı arasında numaralandırılan ve farklı zemin renklerine boyanan altı alt gruba ayrılmışlardır. NIHF ilişkili sinyal yolağı A3 kâğıdı boyutunda Ek 2’de, yolağın hazırlanmasına dayanak oluşturan kaynaklar Ek 3’te sunulmuştur.

Tablo 8. NIHF sinyal yolağına göre NIHF’nin potansiyel alt grupları

No	Alt Gruplar	Gene Sayısı	Yüzdesi	Gen Sembolleri
1	FLT4/Ras/MAPK Yolağı	33	%18.86	ADAMTS3, AMER1, BRAF, BRAP, CBL, CCBE1, DMPK, EPHB4, FCRL4, FLT4, HRAS, INPPL1, KIDINS220, KRAS, LZTR1, MEK1, MEK2, NRAS, PIK3CA, PPP3CA, PRKAG2, PRPF19, PTPN11, RAF1, RASA1, RIT1, RRAS2, SHOC2, SMAD6, SOS1, STAT3, THSD1, TSC2
2	Ca ²⁺ Sinyal Yolağı	36	%20.57	ACTA1, ACTB, ATP11C, ALPL, CALCRL, CDC42, CHRNA1, CHRND, CHRNG, COL2A1, DOK7, DUOXA1, FZD6, GRIN2B, HSPB1, ITGA9, ITPR1, KLHL40, LAMB2, LMOD3, MUSK, MYBPC3, MYBPHL, MYH3, MYH7, MYOM1, NEB, NEXN, PIEZO1, PRF1, RAPSN, RYR1, SCN5A, SPTB, TPM1, UNC13D
3	Biyoenenerjistik ve Metabolizma	58	%33.14	AARS2, ACAD9, AHCY, ALG1, ALG8, ALG9, ASAH1, CANT1, COG6, CTSA, CYP11A1, ENPP1, FKTN, FLVCR2, GAA, GALNS, GALNT14, GBA, GBE1, GLB1, GUSB, HADHB, HBA1, HBA2, HBB, KCTD1, LARS2, MGAT2, MMACHC, MRPS16, MRPS22, MVK, MYRF, NDUFB10, NEU1, NMNAT2, NPC1, PEX3, PHGDH, PIGC, PIGN, PKLR, PMM2, PSAT1, RARS2, RPL11, RPL15, RPL3L, RPS19, SEC23B, SGPL1, SLC17A5, SLC26A2, SLC30A5, SMUF1, TALDO1, UBQLN4, UROS
4	Sil İlişkili Proteinler	11	%6.29	BICD2, DNAH14, DNAH9, DYNC2H1, IFT122, INVS, KIAA0586, NEK9, PKD1L1, TAPT1, WDR35
5	Nükleer Proteinler	24	%13.71	ALPK3, ASCC1, CDAN1, E2F4, ERCC5, FEN1, FOXC2, FOXP3, GATA1, GATA2, GATA5, GLE1, GRIP1, IKZF1, KAT6B, KLF1, KMT2D, MED13L, NIPBL, RFW3, SOX18, SUZ12, TAZ, TBX5,
6	Diğer	13	%7.43	ATP1A2, GDF2, KIAA1109, KIAA1328, KRIT1, LBR, MOCS3, MYSM1, PROC, SERPINA11, SVOPL, UBN1, WDR81

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

HF, antenatal ve neonatal dönemde görülebilen ve deri altı, akciğer zarı (plevra), kalp zarı (perikard) ve karın zarı (periton) boşluklarından en az ikisinde aşırı sıvı birikimiyle karakterize ölümcül bir patolojidir (3). HF ile ilişkili bilimsel literatür verilerinin hangi tarihe kadar uzandığını araştırdığımızda, ilk olarak 1892 yılında fetal hastalıklar ve deformiteler üzerine yazılmış bir kitapta HF bulgularının betimlendiği fetüslerden bahsedildiğini gördük (290). HF'nin bu tarihten de önce sıklıkla gözlemlendiği ama kayıt altına alınmamış olması kuvvetle muhtemeldir. HF, etnik kökenden bağımsız olarak tüm toplumlarda oldukça yaygın olarak görülen ve mortalite oranı yüksek olan bir patolojidir. HF'nin bu özellikleri bilim insanlarının dikkatini çekmiş ve ilk etapta eritroblastosis fetalis ile olan ilişkisi üzerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların verilerinin değerlendirilmesiyle belirleyebildiğimiz kadarıyla ilk defa 1943 yılında yayımlanan bir derlemede HF'nin eritroblastosis fetalis ile ilişkili olan HF (şu an geçerli olan adıyla immün HF) ve ilişkili olmayan HF (bağışıklık yanıtı dışında gelişen HF yani NIHF) olmak üzere iki alt gruba ayrılarak tıbbi pratikte ele alınması önerilmiştir (12). Bunun ardından çok kısa denebilecek bir süre içinde IHF'nin temelde Rh alloimmünizasyonu nedeniyle ortaya çıktığı tespit edilip, IHF'nin moleküler mekanizması aydınlatılmıştır. Rh alloimmünizasyonu, eritrositlerinin yüzeyinde Rh faktörünü taşımayan (Rh negatif) annelerin Rh pozitif fetüse gebe olmaları durumunda annenin bağışıklık sisteminin fetüsün eritrositlerine karşı reaksiyon göstererek, eritrositleri parçalamasına verilen addır. Rh alloimmünizasyonu nedeniyle fetal eritrositlerin parçalanması sonrasında kan ve lenf damarlarındaki normal kompozisyon bozulmakta ve fetüsün seröz boşluklarında yoğun sıvı birikimleri gözlenmektedir. Hastalığın moleküler mekanizmasının belirlenmesi, HF'nin ve özellikle de IHF'nin sık görülen ölümcül bir patoloji olmasını nedenine de açıklık getirmektedir. IHF'nin moleküler mekanizmasının aydınlatılmış olması, tedaviye yönelik moleküler hedefin (annenin anti-Rh antikoru) belirlenmesi ve uygun tedavinin geliştirilebileceği teknolojik yeterliliklerin o dönemde bulunması sayesinde kısa bir zaman içinde IHF tanılı bireylerde annenin anti-Rh antikoruyla bağlanıp onları etkisiz hale getiren antikoru kullanıma dayalı tedavi yöntemi geliştirilmiştir (15, 291). 1960'lı yıllarda geliştirilen bu yöntem, günümüzde de hala fetal dönemde IHF tanılı fetüslerin tedavisinde kullanılıyor olup, bu sayede IHF'ye bağlı ölümler neredeyse ortadan kalkmış durumdadır. Öte yandan NIHF'nin ise günümüzde hala moleküler mekanizması bilinmemekte olup, NIHF'ye özgü olarak uygulanan bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır.

NIHF'nin görülme sıklığı ve mortalite oranları farklı ülkelerde ve merkezlerde yapılan çalışmalarda değişkenlik göstermekle birlikte NIHF'nin görülme sıklığının 1/1,700-3,000 mortalite oranının ise %50-98 aralıklarında olduğu rapor edilmiştir (3, 4, 22-26). NIHF, en erken gebeliğin 10-16. haftalarında belirlenebilmekte olup, NIHF'li fetüslerin gelişimlerinde ağır anormallikler olması ve NIHF'li gebeliğin sürdürülmesinin fetüsün yanında annenin yaşamını da tehdit edebilmesi nedeniyle NIHF belirlenen gebeliklerin tıbbi müdahaleyle sonlandırılması tavsiye edilmektedir (14). Kendiliğinden sonlanmayan veya tıbbi müdahaleyle sonlandırılmayan NIHF'li gebeliklerin yaklaşık yarısı canlı doğabilmekte, ama NIHF'li yenidoğanların yarıdan fazlası erken yenidoğan dönemde yaşamlarını yitirmektedir (3, 4, 14). NIHF, gebeliklerde nadiren tek başına gözlenebilmekte, NIHF bulgulu fetüslerde sıklıkla başka hastalıklar ve patolojiler de tespit edilmektedir (3, 4, 14, 26). NIHF'nin çok sayıda farklı patolojiyle birlikte gözlenebilmesi nedeniyle, Amerikan Maternal-Fetal Tıp Topluluğu (SMFM), NIHF'nin ve sıklıkla NIHF'ye eşlik eden durumların değerlendirilmesi ve NIHF'nin yönetilmesi hususunda bir klinik rehber hazırlamıştır (3). Buna göre NIHF, ultrasonografiyle fetüste yaygın deri altı ödem (5 mm'den fazla deri kalınlığı), plevral efüzyonlar (akciğer zarı altında sıvı birikmesi), perikardiyal efüzyonlar (kalp zarı altında sıvı birikmesi) ve asit (ascites) (karın boşluğunu saran periton zarı altında sıvı birikmesi) durumlarından en az ikisinin belirlendiği ve IHF'nin dışlandığı durum olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca ultrason muayenelerinde NIHF bulgularına sıklıkla plasenta kalınlaşması, polihidramniyoz (amniyon sıvısının normalden fazla olması) ve kistik higromanın (en sık olarak boyun bölgesindeki lenf bezleri olmak üzere lenf bezlerinde sıvı birikmesi) da belirlenebildiği ama bu bulguların NIHF tanısının koyulmasında kullanılan esas bulgular arasında yer almadığı belirtilmiştir (3). NIHF'nin çok sayıda farklı patolojiyle birlikte gözlenebilmesinin ve NIHF'nin moleküler etiyopatogenezinin aydınlatılamamış olmasının neden olduğu bir diğer sonuç, NIHF'nin tek başına bir tanı olarak değil, bir bulgu veya birçok farklı hastalığın ilerlemesiyle ortaya çıkan nihai bir durum olduğu görüşünün yerleşmiş olmasıdır. Bugün hala OMIM'de NIHF (#236750) bu şekilde tanımlanmaktadır. Moleküler genetik, moleküler biyoloji, prenatal tanı yöntemleri, DNA dizileme ve biyoenformatik alanlarında son yıllarda yaşanan hızlı iyileşmelerle birlikte çok sayıda farklı tek gen mutasyonlarının NIHF'ye neden olduğunu ortaya koyan çok sayıda çalışma yayımlanmıştır. Bu gelişmeler diğer birçok hastalığın tanı ve tedavilerinde iyileşmeler yaşanmasına katkı sağlamış olmasına rağmen, NIHF'nin bilimsel literatürüne kazandırılan bilgiler değerlendirilerek NIHF tanı ve tedavisinde

ilerleme sağlama düzeyi sınırlı kalmıştır. Bu durumun başlıca nedeni NIHF araştırma alanında elde edilen bulguların kanıta dayalı ve sistematik bir yaklaşımla düzenlenip analiz edilmemiş olmasıdır. Bu tez çalışmasının temel amacı bu eksikliği gidermektir.

NIHF'nin bilimsel literatüründe çok sayıda farklı monogenik mutasyonun NIHF'ye neden olduğu belirtilmekle birlikte bu genlerin ve mutasyonların kanıta dayalı listesi uzun yıllardır giderilmesi gereken bir eksiklik durumundaydı. Bu nedenle, tez çalışması kapsamında ilk olarak NIHF'nin literatüründeki verileri kanıta dayalı olarak derleyerek monogenik genetik etiyolojisini ortaya çıkarmak istedik. Çalışmamızı yaptığımız sıralarda bilimsel literatürdeki bu eksikliği giderme amacıyla yayımlanan çeşitli yayınlar çıkmış olsa da bu yayınlardaki gen listelerinin birbirleriyle çeliştiklerini ve kanıta dayalı olmayan, keyfi kriterler uygulanarak listede olması gereken bazı genlerin bulunmayıp NIHF ile ilişkili olduğuna dair veri bulunmayan genlerin listelere eklendiğini gördük. NIHF'nin bilimsel literatürünü derleyerek hazırladığımız NIHF ilişkili tek gen mutasyonlarının listesi Tablo 1'de sunulmuştur. Buna göre 175 farklı gendeki toplam 415 farklı tek gen mutasyonunun NIHF oluşumuyla ilişkilendirildiğini belirledik. Bu genler arasında en fazla sayıda farklı mutasyonun NIHF ile ilişkilendirilmiş olması nedeniyle öne çıkan ilk 10 gen sırasıyla 24 farklı mutasyonla *PTPN11*, 21 farklı mutasyonla *PIEZO1*, 14 farklı mutasyonla *GUSB*, dokuz farklı mutasyonla *PMM2*, sekizer farklı mutasyonla *RIT1* ve *RYR1*, yedişer farklı mutasyonla *FLT4* ve *FOXP3* ve altışar farklı mutasyonla *RAPSN* ve *SLC17A5*'tir (Şekil 2). Günümüzde mevcut olup, doğru gen listesine dayalı olarak hazırlanmayan NIHF hedefli yeni nesil DNA dizileme panelleri yerine, Tablo 1'deki verilere dayalı olarak tanı başarısı daha yüksek olan yeni panellerin hazırlanabileceğini, tespit edilen varyasyon verilerinin yorumlanmasında bir başvuru kaynağı görevi göreceğini ve bu yolla NIHF tanı sürecinde iyileştirmeler sağlayacağını düşünüyoruz. Ek olarak, ailede NIHF oluşumuna neden olan mutasyonun belirlenmesi sayesinde ailelerin pre-implantasyon genetik tanı yöntemini kullanarak mutasyon taşımayan embriyolarla sağlıklı çocuk sahibi olabilmelerine katkı sağlayacağını değerlendirmekteyiz. Bu yönleriyle Tablo 1'de sunulan verilerin tüm dünyada Tıbbi Genetik, Kadın Hastalıkları ve Doğum, Çocuk Hastalıkları, Embriyoloji ve Biyoteknoloji alanlarında direkt kullanılabilir nitelikte önemli bir eksikliği gidereceğini düşünüyoruz.

NIHF'nin etiyolojisinde birkaç tane gen yer almayıp 175 farklı gendeki mutasyonların tek başına aynı fenotipin ortaya çıkmasına neden olan fonksiyonel etkilerinin

olması NIHF'nin moleküler mekanizmasının uzun yıllardır anlaşılamamış olmasının önemli sebeplerinden biri olduğu değerlendirilmektedir. Yeni nesil DNA dizileme ve analiz yöntemlerinin yaygınlaşması ve yüksek mortalite oranı nedeniyle NIHF'nin acilen çözüm bekleyen önemli bir ölüm nedeni olması sebebiyle yapılan yeni çalışmalarla yeni genlerin ve mutasyonların belirleneceğini ve bu listenin zaman içinde yenilenmesi gerektiğini öngörüyoruz. Bununla birlikte, bu tarihe kadar elde edilen bilgileri derleyerek oluşturduğumuz listeyi kullanarak tez çalışmasında uzun yıllardır NIHF alanında sorulan bir soruya farklı bir yöntemle cevap aradık. Halen OMIM de dahil birçok kaynakta NIHF hakkındaki güncel değerlendirme NIHF'nin başka hastalıklar nedeniyle ortaya çıkan bir durum olduğu ve bu nedenle NIHF'li bireylerde sıklıkla birçok farklı organı ve sistemi etkileyen patolojiler gözleendiği şeklindedir. Bu nedenle NIHF literatüründe yer alan yayınların çoğunluğunda farklı NIHF popülasyonlarında NIHF ile birlikte gözlenen diğer patoloji gruplarının (kardiyovasküler anomaliler, hematolojik sorunlar, metabolik kusurlar vd.) yüzdeleri sunulmuştur. Bu tez çalışmasıyla, Tablo 1'de sunulan NIHF ilişkili genlerin neden olduğu bilinen ve OMIM'de dizinlenen diğer tüm genetik hastalıkları listeleyip bu hastalıkların etkiledikleri sistemleri göz önünde bulundurarak NIHF ilişkili hastalıkların genetik temelli gruplandırmasını yaptık (Tablo 2, Şekil 3, Şekil 4). SMFM'nin NIHF ilişkili patolojilerden, monogenik temelli olmayan kromozomal anomalilerini, enfeksiyonları ve ikizden ikize transfüzyonu göz ardı ederek diğer dağılım verileri ile bizim elde ettiğimiz genetik hastalıklar temelli dağılım verilerimiz birlikte değerlendirilirse, SMFM NIHF'li hastalarda en sık olarak görülen ilk üç sorunun sırasıyla %17-35 oranında kardiyovasküler, %4-12 oranında hematolojik sorunlar ve %6 oranında torasik sorunlar olduğu belirtirken bizim yaklaşımımızla ilk üç sırada sırasıyla metabolik sorunlar (%19.4), sendromik sorunlar (%16) ve nöromusküler sorunlar (%12.6) bulunduğu ve iki dağılımın birbirleriyle büyük bir uyumsuzluk gösterdiği görülmüştür (Tablo 2, Şekil 3, Şekil 4) (3). NIHF'nin etiyolojisinin derlendiği çalışmalarda uzun yıllardır gözlenen patolojilere dayalı dağılım grafiklerinin NIHF'nin etiyopatogenezinin aydınlatılmasına sınırlı katkı yaptığı göz önünde bulundurulursa, NIHF etiyolojisindeki genlerin etkiledikleri bilinen sistemleri temel alarak hazırladığımız dağılımın dikkate almaya değebilecek bir veri olduğunu düşünüyoruz. Buna göre Tablo 1'deki, Şekil 3'deki ve Şekil 4'teki veriler daha ayrıntılı olarak incelendiğinde, NIHF'nin genetik etiyolojisinde yer alan 175 genden 34'ünün çeşitli metabolik kusurlarla neden olduğu bilinen genler oldukları görülmektedir. 28 genin ise vücudun birçok farklı yerinde anormallikler ortaya çıkmasına neden olan çeşitli sendromik hastalıklara neden

oldukları ve bunların yarısının (14 gen) Rasopatiler adı verilen tek bir sendromik hastalık grubuna ait olmaları Ras/MAPK sinyal yolağının NIHF’de önemli bir yolak olduğuna işaret etmektedir. Genlerden 22’sinin çeşitli nöromusküler hastalıklarla ilişkili olması dikkat çekici diğer bulgulardan biridir; çünkü NIHF ilişkili patolojilerin sınıflandırıldığı çalışmalarda, büyük ihtimalle özel testler uygulamadan gözlenmesinin zor olması nedeniyle, NIHF’li bireylerdeki kas sorunlarından hemen hemen hiç bahsedilmemektedir. Listemizdeki genlerden 18’indeki mutasyonların hematolojik sorunlara neden olduğu biliniyor olup, uzun yıllardır NIHF literatüründe sıkça bahsedildiği gibi NIHF ile ilişkili en önemli hematolojik sorun anemidir (16 gen). Öte yandan, anemilerin NIHF’ye neden olduğundan sıkça tartışılan bir husus olmasına rağmen bizim verilerimiz anemilerin NIHF’lerin %10.3 kadarına eşlik edebileceğine işaret etmektedir. Dağılım grafiğimizde dikkati çeken bir diğer ilginç bulgu NIHF ile birlikte en sık olarak görüldüğü rapor edilen patoloji grubu olan kardiyovasküler sorunlara yol açan genlerin sayısının 17 olması ve bu durumun kardiyovasküler sorunların NIHF etiyolojisindeki payının %9.7 olduğuna işaret etmesidir. Listemizdeki 175 genden 19’u (%10.9) ise daha önceden başka bir genetik hastalıkla ilişkilendirilmemiştir. Sonuç olarak, NIHF’nin genetik etiyolojisindeki genlerin daha önceden ilişkilendirildikleri genetik hastalıklarda etkiledikleri bilinen organlara ve sistemlere dayalı olarak hazırladığımız dağılım verilerinin NIHF’nin genetik temelli olarak farklı bir bakış açısıyla ele alınabilmesini sağlayacak özgün veriler sunması açısından önem taşıdığı değerlendirilmektedir.

NIHF’nin genetik etiyolojisinde 175 genin bulunduğunu ve bu genlerdeki fonksiyon bozukluklarının gelişim sırasında vücudun birçok farklı sistemlerindeki mekanizmaları etkileyebildiğini ortaya koyan bulgularımız NIHF’nin moleküler etiyopatogenezinin oldukça karmaşık olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte, 175 farklı gendeki mutasyonların aynı fenotip bulgusuna neden oluyor olması ise bize aslında NIHF oluşumuna neden olan temel bir mekanizmanın olabileceğini düşündürmüştür. Sistem biyolojisi biyoenformatik analiz yaklaşımlarının kanser tipleri, otizm ve kardiyovasküler hastalıklar gibi etiyolojisinde çok sayıda genin yer aldığı hastalıkların mekanizmalarının anlaşılmasına yaptığı katkıları dikkate alarak bu tez çalışmasında NIHF etiyopatogenezinde rol oynayan başlıca mekanizmaları belirleyebilmek için bu yaklaşımlar uygulanmıştır. NIHF ilişkili 175 genin kodladıkları proteinler hakkında daha önceden yapılmış olan çalışmalarla elde edilen verilere dayalı olarak yapılan FZA analizlerimizle KEGG, Wikipathways ve Reactome veri tabanlarındaki bilgilere göre en çok zenginleşen ilk 20 terimden KEGG veri tabanında

15'inin (%75), Wikipathways veri tabanında 18'inin (%90'ının) ve Reactome veri tabanında 20'sinin (%100) direkt Ras/MAPK sinyal yolağı ile ilişkili mekanizmalar olması NIHF oluşumunda Ras/MAPK sinyal yolağının aktivitesinin önde gelen rolünün olduğuna işaret etmektedir (Şekil 5, Tablo 4-6). Öte yandan GO veri tabanındaki verilere göre Ras/MAPK sinyal yolağı ile ilişkili hiçbir terimin ilk 20 terimlik listede yer almayıp GO veri setinde en çok zenginleşen terimlerin 13 terimle (%65) kas kasılmasıyla ilişkili terimler olması dikkat çekicidir (Şekil 5, Tablo 3). Bu farklılığın temel nedeninin GO veri setinde Ras/MAPK ve onunla ilişkili terimlerin daha çok gen içeren setler olması sebebiyle gen oranı değerinin diğer veri setlerine kıyasla daha düşük olması ve GO veri setinin diğer veri setlerine kıyasla daha ayrıntılı moleküler mekanizmaları yansıtan az sayıda gen içeren terimlerce zengin olması olduğu değerlendirilmektedir. Bu nedenle KEGG, Wikipathways ve Reactome veri tabanlarındaki terimler daha genel mekanizmaları terimleştirerek NIHF'de rol oynayan en dikkat çekici ana mekanizmayı belirlememize katkı sağlarken, GO veri tabanındaki daha ayrıntılı terim yapısı ise diğer veri tabanlarından farklı olarak kas kasılması süreçlerindeki mekanizmaların belirlenmesine katkı sağladığı değerlendirilmektedir. Nitekim kas kasılması süreçleriyle ilgili terimler KEGG ve Reactome'da yer almazken, Wikipathways'te bir (%5) terim kas kasılması mekanizmalarıyla ilişkilidir. Ras/MAPK ve kas kasılması mekanizmalarının ardından üçüncü sırada en çok terimle zenginleşen mekanizma lizozom ile ilgili süreçler olmuştur. Lizozom ile ilgili terimler GO ve KEGG veri setlerinde en çok zenginleşen ilk 20 terimden ikisini (%10), Wikipathways veri setinde ise birini (%5) oluşturmaktadır. Bu bulgulara göre FZA sonuçlarımız, NIHF oluşumuna yol açan moleküler mekanizmada en önemli rol oynayan ilk üç mekanizmanın Ras/MAPK sinyal yolağı, kas kasılması ile ilişkili mekanizmalar ve lizozom organeliyle ilgili biyolojik süreçler olduğuna işaret etmektedir. Bu sonuçları elde ettiğimiz dönemde, sağlık alanında en önde gelen dergilerden biri olan New England Journal Of Medicine dergisinde NIHF tanılı 127 fetüsün DNA'ları kullanılarak ekzom dizileme ve analiz çalışmasıyla fetüslerin %29'unda Ras/MAPK sinyal yolağında rol oynadığı bilinen genlerde (Rasopati ilişkili genlerde) mutasyon belirlendiği rapor edilmiştir (32). NIHF tanılı fetüslerin üçte birinde hastalıkla ilişkili varyasyon olarak Ras/MAPK yolağındaki mutasyonların belirlenmesi bilimsel literatürde NIHF ile Ras/MAPK sinyal yolağını ilk kez ilişkilendirilen çalışma olmasının önemi bu çalışmanın sağlık alanında önde gelen bir dergide yayımlanmasının başlıca sebebidir. Bununla birlikte bu yayın, tez çalışmamızdaki bulgularımızın güvenilirliğini de desteklemektedir. Öte yandan, bu tez çalışmasıyla NIHF'nin genetik etiyolojisini oluşturan

175 genden 14'ünün (%8'inin) Rasopati grubu hastalıklara neden olduğunu belirlerken; Sparks vd. 2020 yayınında NIHF hastalarının %29'unda Rasopatilerle ilişkili genlerdeki mutasyonları NIHF ile ilişkilendirilmiştir (32). Bu tez çalışmasıyla birlikte tüm dünyadaki farklı grupların yayınlarındaki verileri derleyerek belirli bir bölgedeki hasta grubunun genetik özellikleriyle sınırlı kalınmaması sayesinde gerçek dağılıma daha yakın veriler elde etmemiz ve tez çalışmamızda SMFM'nin NIHF tanısının koyulması için önerdiği şekilde deri altı ödem, perikardiyal efüzyon, plevral efüzyon ve asit bulgularından en az ikisinin görüldüğü ve IHF'nin dışlandığı vakaları NIHF olgusu olarak ele alarak geçerli tanı kriterlerine uymuş olmamız bu farklılığın ana sebeplerinden biridir. Buna rağmen Spark vd. 2020 yayınında ise bu bulgulardan sadece birinin görüldüğü veya tanı kriterleri içinde yer almayan kistik higroma veya ense kalınlığı bulgularından birinin tek başına görüldüğü vakaları da NIHF'li olarak çalışmaya dahil ederek güncel bilimsel literatürle çelişen bir NIHF kohortu ile araştırma yapılması olduğunu düşünüyoruz. Öte yandan söz konusu yayın sağlık alanındaki en önde gelen dergilerden birinde yayımlanması, Ras/MAPK sinyal yolağının NIHF etiyolojisiyle ilk kez ilişkilendirilmesi ve tez çalışmamla elde edilen bulguları desteklemesi yönleriyle literatürde yer alan önemli bir çalışma niteliği taşımaktadır.

FZA verilerimizin NIHF'nin moleküler etiyopatogenezi hakkında önemli ip uçları sağlamasına rağmen eğer NIHF'nin monogenik etiyolojisinde yer alan genler belirli bir moleküler mekanizmanın bileşenleri olan proteinleri kodluyorsa listemizdeki proteinlerin bilinen etkileşimlerine dayalı olarak bir PPE ağı oluşturabilirsek NIHF gelişiminde rol oynayan kilit proteinlerin hangileri olduğuna ilişkin önemli veriler elde etmenin mümkün olabileceği düşünüldü. Bu amaçla, STRING veri tabanındaki PPE verilerini kullanarak 175 genden kodlanan proteinlerin etkileşimler ağı sorgulanıp görselleştirildi. Hazırlanan PPE ağında 175 proteinden 113'ünün birbirleriyle bağlantılı tek bir PPE ağı oluşturduğunu gördük (Şekil 6). Bu durum, listemizdeki tüm proteinlerin birbirleriyle ilişkili olabilme ihtimalinin oldukça yüksek olduğunu ancak mevcut ıslak laboratuvar çalışmalarının sonuçlarına göre tüm bağlantıların henüz aydınlatılamamış olabileceğini düşündürmüştür. Bunun ardından, ağda fonksiyonel önem taşıma potansiyelleri diğer proteinlerden daha yüksek olanları ön plana çıkaracak iki temel yaklaşım uygulanmıştır. Bunlardan ilki, proteinlerin daire büyüklüklerinin NIHF ilişkili farklı mutasyon sayılarıyla orantılı olarak çizilmesidir. İkinci yaklaşım ise, bildiğimiz kadarıyla PPE ağ görsellerinde daha önceden uygulanmamış olan özgün bir yaklaşım olup PPE ağının ortalama merkezilik değerleri

olarak dikkate alınan Derece ve Arasındalık kriterlerinden her ikisi bakımından da ortalamanın üstünde değere sahip olan kırmızı renkli proteinler ilk sırada ve sadece bir kritere göre ortalamanın üstünde değere sahip olan sarı renkli proteinler ise ikinci sırada merkezi konumda proteinler olarak ağda dikkat çekecek şekilde görselleştirilmesidir (Şekil 6, Şekil 7, Tablo 7). Bu yaklaşımlara göre hazırlanan PPE ağında ilk bakışta FZA analizlerimizin sonuçlarıyla uyumlu olarak dört alt ağ grubunun bulunduğu görülmektedir. Bunlar Ras/MAPK yolağı, kas kasılması, lizozom ve tam olarak fonksiyonel bir grup adı veremeyeceğimiz için diğer olarak isimlendirilebilecek PPE alt gruplarıdır. 24 farklı mutasyonla en fazla sayıda mutasyonu NIHF ile ilişkilendirilmiş olan genler arasında yer alan *PTPN11*, PPE ağında da Ras/MAPK proteinleri arasında önde gelen kilit konumdaki bir protein olarak öncelikle dikkat çekmektedir (Şekil 2 ve Şekil 6). Ayrıca yedi farklı mutasyonu NIHF ile ilişkilendirilen *FLT4* geninden kodlanan FLT4 proteini ve beş farklı mutasyonu NIHF ile ilişkilendirilen *HRAS* geninden kodlanan HRAS proteini de Ras/MAPK kaskadı PPE alt grubunda bulunan önemli proteinler arasındadır. Daha az sayıda mutasyonu NIHF ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen yaptıkları PPE bağlantı sayılarıyla Ras/MAPK alt grubu proteinlerde öne çıkan diğer proteinler ise KRAS, PIK3CA ve STAT3 proteinleridir. NIHF ilişkili mutasyon sayıları bakımında üçüncü sırada yer alan *GUSB* geninin kodladığı protein, lizozom proteinlerinin yer aldığı etkileşim alt ağında yer almaktadır. Her ne kadar *GUSB* geninde belirlenen mutasyon sayıları fazla olsa da PPE ağ verilerimize göre lizozom alt etkileşim grubunda merkezi konumda bulunan protein GLB1 proteindir. Bununla birlikte GUSB, ACTB ile yaptığı etkileşim ile lizozom ve kas kasılması alt gruplarını birbirlerine bağlayan bir protein olarak ağda önemli role sahip bir protein konumundadır. PPE ağında dikkat çeken diğer alt gruplardan olan kas kasılması alt grubunda NIHF ilişkili mutasyon sayılarının fazlalığı bakımında öne çıkan bir protein bulunmamaktadır. Öte yandan, ACTB, CDC42 ve ACTA1 proteinlerinin ağın bütünün bir arada tutacak nitelikte yaptıkları etkileşimlerin kas kasılması sürecinin NIHF'nin etiyopatogenezendeki önemini vurgular nitelikte olduğu değerlendirilmektedir. Son olarak, FZA bulgularımızla direkt uyuşan bir biyolojik süreçteki proteinleri içermemesi nedeniyle adlandıramadığımız ve zeminini renklendirdiğimiz bir PPE alt ağ grubunun varlığı da dikkat çekmektedir.

FZA ve PPE analizleriyle NIHF'nin moleküler mekanizmasında rol oynama potansiyeli yüksek olan biyolojik süreçler ve önemli proteinler hakkında veri elde edilmiş olmasına rağmen eldeki veriler üst akım üyeleri, alt akım üyeleri, post translasyonel modifikasyon değişimleri, bu değişimlerin aktifleştirici ve baskılayıcı etkileri gibi mekanizmanın daha bütüncül bir şekilde anlaşılmasını sağlayacak düzeyde değildi. Bu nedenle tez çalışmasının son aşamasında sinyal yolağı PPE ağındaki bağlantılar kullanarak ana yolak oluşturuldu ardından veri tabanlarındaki ve bilimsel literatürdeki verileri de kullanarak NIHF oluşumuyla ilişkili hücre sinyal yolağı haritası tamamlanmıştır. Bu yolağı oluştururken KEGG veya Wikipathways gibi hazır yolak veri tabanlarındaki yollardan birini alıp bu yolak üzerinde değişiklik yapılması yaklaşımı uygulanmamıştır. Bunun yerine NIHF ilişkili 175 genden kodlanan proteinlere ilişkin KEGG ve Wikipathways veri tabanlarındaki bilgiler ve bilimsel literatürdeki verileri dikkate alınarak yeni ve özgün bir yolak inşa edilmiştir. Ek olarak, yolağındaki bağlantıların kurulmasını sağlayan referanslar da şekilde sunularak yolağın bilimsel güvenilirliğinin artmasına katkı sağlanmıştır (Şekil 8).

NIHF ilişkili sinyal yolağının sağladığı veriler incelendiğinde ilk dikkati çeken sonuç NIHF etiyojisindeki genlerden kodlanan proteinlerin tez çalışmasına başlarken ileri sürdüğümüz gibi aslında birbirleriyle ilişkili bir mekanizmanın üyeleri olduklarının tek bir görselde görünür durumda olmasıdır. Buna göre, NIHF oluşumuyla ilişkili biyolojik mekanizma oldukça karmaşık olmakla birlikte ortaya çıkarılan yolak haritasının bu karmaşık biyolojik sistemin çözümünde oldukça büyük katkı sağlayabilecek bir başvuru kaynağı olmaya aday olduğunu değerlendirilmektedir.

Karmaşık moleküler mekanizmaya sahip hastalıkların alt gruplara ayrılarak ele alınması durumunda kişiye özgü en doğru tedavi yaklaşımının uygulanabildiği ve bu sayede daha yüksek başarı elde edilebildiği bilinmektedir. Kanseri hastalarının tedavisinde son yıllarda tüm kanser tiplerinde uygulanan genel geçer kemoterapi uygulamalarının yapılması yerine kanserin tipine, o tipe özgü alt gruplara ve hastanın genetik profiline spesifik tedavi yaklaşımlarının uygulanması sayesinde tedavi başarısının kayda değer bir şekilde artması bu yaklaşımın uygulamadaki geçerliliğini destekleyen başlıca kanıt niteliğindedir (292-294). NIHF ilişkili sinyal yolağı dikkatli bir şekilde incelediğinde, NIHF'nin aslında şekilde numaralarla ve farklı zemin renkleriyle belirtilen altı alt gruba ayrılabilceği görülmüştür (Şekil 8, Tablo 8). Bu alt gruplardan ilki, FZA ve PPE ağı sonuçlarında da ilk sırada göze çarpan Ras/MAPK sinyal yolağı proteinlerinin oluşturduğu alt gruptur. Bu alt grubun ligandı

aktifleştiren proteinleri (ADAMTS3 ve CCBE1), reseptörü (FLT4 veya diğer sembolü VEGFR3), adaptör proteinleri (PTPN11 ve SOS1), ana elemanları ve efektör proteinleri (HRAS, KRAS, NRAS, RRAS2, RIT1, RAF1, BRAF, MEK1 ve MEK2) ve sinyal düzeyini kontrol eden diğer proteinleri (LZTR1, RASA1, SHOC2 vd.) içeren elemanlarının NIHF ile ilişkilendirilmiş olduğu görülmüştür. Bu nedenle bu alt gruba reseptörün de sembolü eklenerek “FLT4/Ras/MAPK Yolağı” adı verilmiştir.

Ras/MAPK sinyal yolağını üst akımda aktifleştirebildiği bilinen birçok farklı reseptör arasından FLT4’ün NIHF ile ilişkilendirilmiş olması NIHF ilişkili alt grubun spesifik bir mekanizmaya odaklanabilmesini sağlaması açısından önemli bir bilgi sağlamıştır. FLT4 geni, vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü (VEGFR) ailesinden VEGFR3’ü kodlamaktadır. VEGFR’lardan VEGFR1 ve VEGFR2 esas olarak vasküler endotelde yerleşirlerken VEGFR3 ise lenfatik endotelde lokalizedir (295). VEGFR1, hematopoietik öncül hücrelerin yetiştirilmesi ile monositlerin ve makrofajların göçünde fonksiyon gösterirken VEGFR2 esas olarak vasküler endotel hücrelerde, VEGFR3 ise lenfendotelial hücrelerde işlev göstermektedir (295). VEGFR’lar esas olarak homodimerler olarak fonksiyon göstermektedirler (296). VEGFR’lara bağlanan VEGF ligandlarından A, B, C ve D isminde dört tipinin bulunduğu, VEGF-A ve VEGF-B’nin VEGFR1 ve VEGFR2’ye bağlanırken VEGF-C ve VEGF-D’nin VEGFR3’e bağlandığı bilinmektedir (296). VEGFR1 ve VEGFR2 daha çok kan endotel hücrelerinde bulunan reseptörler olup VEGFR2, endotel hücrelerin filizlenmesi, büyümesi ve bu yolla yeni kan damarlarının oluşması süreçlerini yönetmektedir. VEGFR3 (FLT4) ise gelişimin erken aşamalarında önce hem kan hem lenf endotel hücrelerinde ifade olurken ilerleyen aşamalarda sadece lenfatik endotel hücrelerde ifade olarak lenfatik endotel hücrelerin çoğalmasını, göçünü ve sağ kalımını yöneten sinyalin reseptörü olarak lenfanjiyogenezi ve lenf filizlenmesini yönetir (297, 298). *FLT4* geni, yedi farklı mutasyonla NIHF ile en fazla sayıda mutasyonu ilişkilendirilen genler arasında yedinci sırada yer alan önemli bir gen durumundadır. Buna ek olarak, VEGFR1, VEGFR2 ve VEGFR3’ten sadece FLT4 (VEGFR3) NIHF ile ilişkilendirilmiş olup FLT4’ün reseptörlerinden VEGF-C’nin inaktif durumdan aktif liganda dönüşmesini sağladığı bilinen ADAMTS3 ve CCBE1 proteinlerini kodlayan genlerde de NIHF ilişkili mutasyonlar belirlenmiştir ve VEGF-C FLT4’e bağlanarak reseptörü aktifleştirdiğinde FLT4’ün Ras/MAPK yolağını aktifleştirebildiği de bilinmektedir (299-301). Daha spesifik olarak ise, lenf hücrelerinde VEGF-C ile uyarılan FLT4’ün Ras/MAPK yolağını aktifleştirerek ERK proteinlerini aktifleştirebildiği ve sinyalin lenf hücrelerinde hücre döngüsünü durdurarak

lenf filizlenmesini ve farklılaşmasını indüklediği yakın zamanda belirlenmiştir (302). Bu veriler, endotel ve lenf damarlarının sağlıklı bir şekilde gelişmesi için FLT4/Ras/MAPK sinyalinin aktivitesinin son derece önemli olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca bu veriler, VEGF-C/FLT4/Ras/MAPK şeklinde işleyen bir yolağın NIHF'nin moleküler etiyopatogenezinde işlevi olan bir alt sinyal yolağı grubunu oluşturduğuna da işaret etmektedir (Şekil 8). Lenf sisteminin temel görevlerinden biri, hücrelerarası alanda sıvı ve protein gibi molekülleri toplayarak bunları kan dolaşımına kazandırmaktır. Ayrıca lenf damarlarının etrafını saran düz ve çizgili kasların koordineli kasılmalarıyla toplayıcı lenf damarlarında biriken sıvı akışının gerçekleştiği bilinmektedir (303). VEGF-C/FLT4 etkileşiminin lenf damarlarının gelişimini yönettiği ve NIHF'nin prenatal dönemde vücudun çeşitli bölgelerinde sıvı birikimiyle karakterize olduğu bilgileri dikkate alındığında FLT4/Ras/MAPK sinyal yolağının NIHF oluşumunda kilit rol oynayan bir mekanizma olabileceği değerlendirilmektedir. Nitekim, NIHF hastalarında lenf sistemiyle ilgili patolojilerin gözlenmiş olması ve lenf damarlarıyla ilişkili hastalıklarda rol oynadığı bilinen genlerdeki mutasyonların NIHF ile ilişkilendirilmesi nedeniyle NIHF etiyolojisinde lenf sisteminin bozulmasının önemli bir rolünün olabileceği uzun yıllardır tartışılmaktadır (3, 25, 26). Öte yandan, ilk kez bu çalışmayla sistem bir yolak halinde açığa çıkarılarak FLT4/Ras/MAPK yolağının NIHF ile ilişkili olduğuna işaret eden veriler elde edilmesinin önem taşıdığı değerlendirilmektedir. Bunlara ilaveten, FLT4 dahil VEGFR'ların çok sayıda hastalıkla ilişkilendirilmiş olması nedeniyle bu reseptörlerin aktivitelerini bloke edebilen çok sayıda küçük molekül geliştirilmiştir. FLT4'ün hücre yüzeyinde bulunması, yolağın en üst noktadan hedef alınabilmesi imkânı tanımaya ve küçük moleküllere ek olarak terapötik antikörlerin kullanımına imkân vermesinin de önemli bir avantaj olduğu değerlendirilmektedir (296, 304).

Ras/MAPK sinyal yolağı, sadece FLT4 tarafından değil başta büyüme faktörü reseptörleri olmak üzere çok sayıda farklı hücre yüzey reseptörünün aktifleşmesinin ardından uyarılan bir hücre içi sinyal yolağıdır (305). Ras sinyal yolağı, çok sayıda farklı hücresel süreci etkileyebilen çeşitli fonksiyonel rollere sahip olup kanonik yolak olan Ras/MAPK yolağının temel işlevi hücre büyümesinin ve çoğalmasının uyarılmasıdır (306). Ras/MAPK sinyalinin aktivitesini artıran somatik mutasyonlar en sık olarak başta melanoma (>%80), tiroid kanseri (%70) ve pankreas kanseri (>%60) vakalarında görülmekle birlikte hemen hemen tüm kanser tiplerinde Ras/MAPK sinyal yolağının aşırı aktif durumda olmasına yol açan mutasyonların belirlendiği ve genel olarak kanser hastalarının %19'unda

KRAS, *HRAS* veya *NRAS* genlerinde mutasyonlar belirlendiği rapor edilmektedir (307, 308). Ras sinyal yolağının kanser tiplerinin etiolojisindeki önemli rolü nedeniyle bu yolağının bileşenlerinin, mekanizmasının ve fonksiyonlarının anlaşılmasına ve tedavi amacıyla hedeflenmesine yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu araştırmaların verilerine göre Ras sinyal yolağında aktifleşen hücre yüzey reseptöründen gelen sinyali alarak inaktif Ras proteininin aktif hale dönüşmesi sürecine aracılık eden ve Ras proteinlerinin üst akımında bulunan önemli proteinler bulunduğu belirlenmiştir. Bu proteinlerden PTPN11 (diğer adıyla SHP2) ve SOS1 NIHf ile ilişkilendirilmiş olup, *PTPN11* NIHf ilişkili 24 farklı mutasyonla en fazla sayıda farklı mutasyonu NIHf ilişkili gen olarak ayrıca dikkati çekmektedir (Şekil 1). Bu özelliğiyle *PTPN11*, FLT4/Ras/MAPK alt grubunda dikkati çekiyor olsa da NIHf tedavisi için PTPN11'in hedeflenmesi çok etkili olabilecek bir yaklaşım gibi görünmemektedir çünkü PTPN11'in yaptığı adaptörlük işlevini yapabilecek alternatif proteinlerin bulunduğu (GRB2 gibi) bilinmektedir (309). Bu nedenle, PTPN11'in hedeflendiği bir tedavi yaklaşımının uygulanması durumunda alternatif proteinler üzerinden sinyalin devam etmesi nedeniyle tedavinin işe yaramaması söz konusu olabilir. Öte yandan bu durum bir dezavantaj gibi görünmekle birlikte aynı zamanda iyi bir avantaj da sağlıyor olabilir çünkü PTPN11'in hedeflenerek inhibe edilmesi durumunda sinyalin GRB2 gibi alternatif bir adaptör proteinle devam edebiliyor olması sayesinde gelişim sırasında Ras/MAPK sinyalinin tamamen kapatılmayıp kesintiye uğramaması sağlanarak sağlıklı gelişim için normalde olması gereken düzeyde sinyal biyolojik süreçlerin devam etmesi de sağlanabilir. Sonuç olarak *PTPN11*, en fazla sayıda NIHf ilişkili mutasyona sahip olması, halihazırda PTPN11'i spesifik olarak hedefleyen deneysel aşamadaki inhibitör küçük moleküllerin (RMC-4630, TNO155 ve PHPS1 gibi) geliştirilmiş olması (310, 311), hücre dışındaki sinyalin hücre içine ilk aşamada iletildiği önemli bir aşamada fonksiyon göstermesi ve etkili bir şekilde inhibe edilmesi durumunda alternatif yollar üzerinden Ras/MAPK sinyalinin bozulmayarak sağlıklı bireylerdekine benzer yolak aktivitesinin sağlanması olasılığının bulunması gibi yönleriyle FLT4/Ras/MAPK yolağı üyesi genlerden birinde mutasyon tespit edilen bireylerin tedavisi amacıyla hedeflenebilecek ve üzerinde çalışmaya değebilecek öne çıkan moleküllerden biridir.

FLT4/Ras/MAPK yolağında Ras proteinleri olarak kanonik Ras'lerden *HRAS*, *KRAS* ve *NRAS*'ın ve diğer Ras ailesi üyelerinden *RRAS2*'nin ve *RIT1*'in NIHf ile ilişkili mutasyonlarının rapor edildiği görülmektedir (Şekil 8). Bunlardan *RIT1*'in NIHf ilişkili sekiz farklı mutasyonla en fazla sayıda varyasyonu tanımlanan beşinci protein, *HRAS*'ın ise

beş farklı mutasyonla 11. sıradaki protein olmaları dikkat çekicidir (Şekil 2). Ras proteinlerinin kanser hastalıklarında sıklıkla mutasyona uğraması ve aktif Ras proteininin çok sayıda farklı proteini etkileyerek yukarıdan gelen sinyalin çok çeşitli yan yollarla hücre içinde farklı etkiler gösterebilmesi nedeniyle Ras proteinlerini inhibe edici birçok farklı yaklaşım (küçük molekül inhibitörleri ve proteazomal parçalanmaya yönlendirici kimerik proteinler gibi) araştırılmıştır (312). Bu yaklaşımlar potansiyel olarak NIHF tedavisinde araştırılma potansiyeli taşımakla birlikte mevcut bilgilerimiz NIHF ilişkili hücre içi Ras sinyalinin dallanmayıp sadece kanonik yolak olan Ras/MAPK yolağının NIHF ile ilişkili olduğuna işaret ettiğinden Ras/MAPK sinyal aktivitesini hedef alacak tedavi yaklaşımlarının daha uygun olacağı değerlendirilmektedir. RAS/MAPK yolağı aktifleştğinde aktif sinyal sırasıyla RAS/RAF/MEK/ERK proteinlerine iletilip aktifleşen ERK1 ve ERK2 proteinleri transkripsiyonu aktifleştirici efektör proteinler olarak yukarıdan gelen sinyale ilişkin etkiyi oluşturmak üzere çalışırlar (313). NIHF ile ilişkilendirilmiş genler listemizde ERK1 ve ERK2 proteinleri bulunmayıp, yolağın sinyali en son MEK1 ve MEK2 proteinlerine kadar uzanmaktadır (Şekil 8). Gelecekte yapılacak çalışmalarla ERK1/2 proteinlerinin de bu yolda yer alma ihtimali bulunmakla birlikte, mevcut yolda MEK1/2 proteinleri yolağın tüm sinyallerinin toplandığı efektör proteinler olarak önemli bir konumdadır. Çünkü yolağın üst akımında sinyali etkileyen herhangi bir mutasyonun alt akımda bulunan yolağın efektörleri olan MEK1/2 proteinlerinin aktivitelere de etki etmesi söz konusu olduğundan yoldaki her bir proteini ayrı ayrı hedefleyen ilaç adaylarını araştırmaktansa yolağın sinyallerinin ulaştığı en son nokta olan MEK1/2 proteinini özgül olarak hedefleyip aktivitesini inhibe eden ilaç adayının belirlenmesi daha etkili bir yaklaşım olabilir. Neurofibromin 1 (NF1) genindeki mutasyonlarla ortaya çıkan Rasopati grubundaki bir hastalık olan nörofibromatoz tip 1 hastalığının tedavisi için MEK1 ve MEK2 proteinlerinin özgül inhibitörü olan Selumetinib'in Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından yakın zamanda onaylanmış olması bu yaklaşımı desteklemektedir (314). Çünkü NF1 proteini RAS/MAPK sinyal yolağında aktif RAS-GTP proteinlerinin inaktif RAS-GDP formuna dönüşmesinde rol oynayan (bir GTPaz aktifleştirici protein (GAP)) bir tümör baskılayıcı proteindir. Yabanıl tip (WT) NF1 proteinin aktivitesi, RAS/MAPK sinyalinin azalmasına neden olurken, nörofibromatoz tip 1 ile ilişkili *NF1* mutasyonları NF1 proteininde fonksiyon kaybına neden olarak RAS/MAPK sinyalinin aşırı aktif olmasına neden olmaktadır (315-317). RAS/MAPK yolağının aşırı aktif olması direkt olarak NF1 proteiniyle ilişkili olmasalar da MEK1/2 ve ERK1/2 proteinlerinin aşırı aktifleşmelerine

neden olarak hastalığa yol açmaktadır (316). Hastalığın genetik etiyolojisinde MEK1 veya MEK2 proteinleri yer almıyor olsa da RAS/MAPK sinyal yolağında yukarıdan gelen sinyalin düğümlendiği efektör proteinler olmaları nedeniyle özgül olarak MEK1/2 proteinlerini inhibe eden Selumetinib nörofibromatoz tip 1 tedavisinde onaylanmıştır. Bu gelişme, başta Rasopati grubundaki diğer hastalıklar olmak üzere RAS/MAPK sinyal yolağıyla ilişkili kanser tipleri gibi tüm hastalıklar için Selumetinib ile ilaç yeniden konumlandırması yoluyla kısa sürede tedavi sunulabilmesi ihtimalini doğurmuştur ve elimizdeki veriler bu durumun NIHF için de geçerli olabileceğine işaret etmektedir (318). Çünkü RAS/MAPK sinyal yolağında yer alan çok sayıda farklı proteine özgü ilaç adayları için ayrı ayrı çalışma yapmaktansa sinyalin alt akımında bulunan MEK1/2 proteinlerinin hedeflenmesi birçok yönden avantaj sağlayabilecek bir stratejidir. Bu veriler ışığında FLT4/Ras/MAPK sinyalinde yer aldığı bilinen genlerden birinde NIHF ilişkili mutasyon belirlenmesi durumunda Selumetinib adlı ilacın veya MEK1/2 proteininin aktivitesini hedef alan başka bir yaklaşımının kullanılma potansiyeli taşıdığını değerlendirmekteyiz. Öte yandan, NIHF'nin bir alt grubu olduğunu öne sürdüğümüz FLT4/Ras/MAPK yolağının aktivitesine ilişkin öncelikle fonksiyonel araştırmaların yapılması gerekmektedir çünkü henüz NIHF ilişkili mutasyonların bu yolağın aktivitesini nasıl bozduğuna ilişkin herhangi bir fonksiyonel veri bulunmamaktadır. Sonuç olarak, elde ettiğimiz veriler ve literatürdeki bilgiler ışığında FLT4/Ras/MAPK yolağında önemli konumda bulunan proteinlerin üzerinde çok çalışılmış hedefler olmaları nedeniyle en üst akımda FLT4 sinyalini yönetmek, PTPN11 üzerinden sinyali yönetmek veya sinyalin düğümlendiği MEK1/2 proteinleri üzerinden yolak aktivitesini yönetmek gibi etkili olma potansiyeli olan çeşitli yaklaşımların ilk etapta denenebileceği değerlendirilmektedir.

NIHF ilişkili sinyal yolağının ikinci alt grubunu “Ca⁺² Sinyal Yolağı” oluşturmaktadır. NIHF ilişkili 36 genin kodladığı proteinleri içeren bu alt grubu kendi içinde daha özelleşmiş alt gruplar olan sarkomer yapısı, hücre içi Ca⁺² düzeyinin düzenlenmesinde görev alanlar ve nikotinik asetil kolin reseptörü (nAChR) ilişkili proteinler olmak üzere üç alt grup halinde ele almak mümkün görünmektedir. Ca⁺² sinyal yolağı, FZA ve PPE analizlerinde ortaya çıkmamış olup, bu mekanizma sinyal yolağıyla birlikte belirlenmiştir. Bunun başlıca nedeninin hücre içindeki Ca⁺² düzeyinin belirlenmesinde direkt rolü olan PIEZO1, RYR1 ve ITPR1 gibi proteinlerin birlikte rol oynadıklarına ilişkin bilimsel literatür verilerinin göreceli olarak yeni olması, Ca⁺² sinyalinin birçok farklı sinyal yolağı ve metabolik süreçle birlikte çalışan bir ikinci haberci olması nedeniyle bu tarz analizlerde

birincil haberci sistemlerin daha ön planda görülmeleri ve Ras/MAPK yolağında ve kas kasılması mekanizmasında rol oynayan çok sayıda proteinin listemizde yer alması nedeniyle bu mekanizmaların istatistiksel olarak baskın olup ön sıralarda sonuç vermeleri olduğu değerlendirilmektedir.

Ca^{+2} sinyal yolağı alt grubunda sarkomer yapısındaki hemen hemen tüm ana proteinlerin yer almış olması oldukça dikkat çekicidir. Nitekim FZA sonuçlarımız, kas kasılması mekanizmasının NIHF etiyopatogeneziyle ilişkili önde gelen mekanizmalardan olduğunu (Şekil 5), PPE ağımız kas kasılmasıyla ilişkili proteinlerin birbirleriyle yakın etkileşim içinde olduklarını göstermiş (Şekil 6) ve NIHF genlerinin ilişkilendirildiği genetik hastalıklardan yola çıkarak yaptığımız grupta da miyopatiler, kas distrofileri, spinal musküler atrofiler, kontraktür sendromları ve miyastenik sendromlar gibi kas kasılma bozukluklarıyla ilişkili genlerin NIHF'nin monogenik etiyolojisinde yer aldığını ortaya koyarak kas kasılması mekanizmasındaki bozukluğun NIHF'nin moleküler etiyopatolojisindeki önemine işaret eden farklı veriler elde edilmiştir (Şekil 3). NIHF sinyal yolağı şekli ise bu mekanizmanın temelde kas kasılma birimi olan sarkomer yapısıyla ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 8). Sarkomer, kas kasılmasının temel birimine verilen addır. Kas hücrelerinde çok sayıda sarkomer belirli bir düzen halinde dizilir ve sarkomerlerin organize hareketiyle kas kasılması gerçekleşir. Sarkomerler, iki Z diskiyle birbirlerine ve aktin filamana bağlıdır (319). Sarkomer yapısında iki farklı filaman yapısı bulunmaktadır. Bunlar ince (Aktin) filaman ve kalın (Miyozin) filamandır. İnce filamanın temel görevi Ca^{+2} düzeyine göre hareket ederek kasılmayı ve gevşemeyi düzenlemektir. Kalın filamanın temel işlevi ise ATP enerjisini kullanıp kasılma başladığında ince filamanları çekmektir. Sarkomer yapısındaki NIHF ilişkili proteinler hakkında bilinenler incelendiğinde kalın filamanda yer alan ana proteinlerden MYH3, MYH7, MYOM1, MYBPHL ve MYBPC3'ün; ince filaman yapısında yer alan ACTA1, TPM1 ve NEB proteinlerinin ve ayrıca bu proteinlerle birlikte çalıştığı bilinen bazı yardımcı proteinlerin (KLHL40 ve LMOD3 gibi) NIHF ile ilişkilendirilmiş olduğu görülmektedir (320). Sarkomer yapısının farklı birimlerinde görev alan proteinlerin kümелendiği görülmüş olmasına rağmen kas hücrelerine özgü başka proteinlerin yolakta yer almıyor olması, ama bunun yanında hücre içindeki Ca^{+2} düzeyini kontrol eden ve Ca^{+2} düzeyiyle yönetilen başka süreçlerde görev alan proteinlerin bulunması nedeniyle bu gruba " Ca^{+2} Sinyal Yolağı" adı verilmesinin daha doğru olacağı değerlendirilmiştir. Ca^{+2} Sinyal Yolağı'nda hücre dışındaki Ca^{+2} iyonlarının hücre içine alınmasında rol oynadığı bilinen PIEZO1 proteininin yer alması dikkat çekicidir. *PIEZO1*

geni 21 farklı tek gen mutasyonunun NIHF ile ilişkilendirilmiş olması nedeniyle *PTPN11*'in ardından ikinci sırada en çok mutasyon belirlenen gendir (Şekil 2). PIEZO1'in diğer NIHF ilişkili proteinlerle birebir protein etkileşimi yapmıyor olması nedeniyle bu proteinin önemi ancak sinyal yolağı hazırlanınca değerlendirilebilir hale gelmiştir. PIEZO1, oldukça büyük homotetramerik kompleks oluşturan bir hücre yüzey proteinidir (321). Temel görevi hücre yüzeyindeki bozulmayı ve hücre dışı ortamdaki mekanik değişimi algılamak ve değişime yanıt oluşturmaktır. Bir mekanosensör olan PIEZO1, mekanik değişimlere yanıt olarak hücre dışından Ca^{+2} gibi katyonların çok büyük miktarlarda ve hızla hücre içine akmasını sağlar (322). PIEZO1'in mekanosensör görevi özellikle embriyonik gelişimde oldukça önemli olup yakın zamanda yayımlanan bir çalışmada endotel hücrelerindeki PIEZO1'in kan akımının damarlara uyguladığı mekanik kayma kuvveti olan kan akış gerilimi (İng. shear stress) ile uyarıldığı ve PIEZO1'in embriyonik vasküler gelişimi yönettiği belirlenmiştir (323). NIHF ilişkili ilk alt grup olan FLT4/Ras/MAPK yolağının özellikle embriyonik lenf damarı gelişimiyle ilişkili olduğu bilgisi ve PIEZO1'in embriyonik dönemdeki işlevi birlikte değerlendirildiğinde PIEZO1'in NIHF hastalarında en çok mutasyon görülen genlerden biri olmasının altında bu rolünün önem taşıdığı değerlendirilmektedir. Buna ek olarak, PIEZO1 genindeki bazı mutasyonların otozomal dominant kalıtsal bir konjenital hemolitik anemi tipi olan Hereditary xerocytosis ile ilişkilendirilmiş olması da ayrıca dikkat çekicidir. Bilindiği üzere olgun eritrositler ER veya mitokondri gibi organeller içermezler. Bununla birlikte eritrositler çok önemli bir ikinci haberci olması ve birçok biyolojik süreçte ihtiyaç duyulması nedeniyle hücre içinde Ca^{+2} iyonu bulunmasına ihtiyaç duyarlar ama hücre içindeki Ca^{+2} 'yi depolayacak organelere sahip değildirler. Bu nedenle PIEZO1 gibi anlık olarak çok yüksek miktarda Ca^{+2} iyonunu hücre içine alan bir mekanosensörün fonksiyonu eritrositler için diğer hücrelere kıyasla çok daha hayati olmaktadır. Bu nedenle PIEZO1 proteininin normal fonksiyonunu etkileyen mutasyonlar hücre içine katyon girişini sınırlandırarak eritrositlerin dehidrasyonuna ve hemolitik anemiye yol açmaktadır (324, 325). Anemilerin uzun yıllardır NIHF ile birlikte gözlemlendiği ve NIHF ilişkili genler listemizdeki genlerden 16'sının (%9.14) mutasyonları anemiye yol açan genler olduğu bilgileri birlikte değerlendirildiğinde PIEZO1'in NIHF'deki işlevi dikkate alınırken sadece damar gelişimiyle sınırlı kalınmaması gerektiği değerlendirilmektedir. NIHF ilişkili proteinler arasında, PIEZO1 gibi hücre dışından Ca^{+2} girişinde rol oynayan bir proteine ek olarak hücre içinde Ca^{+2} 'nin depolandığı yer olan sarkoplazmik retikulumun zarında lokalize olan ve gelen sinyallere göre Ca^{+2} deposundan hücre içine Ca^{+2} salınmasını sağlayan RYR1

ve ITPR1 proteinleri de yer almaktadır. RYR1 proteini sekiz farklı mutasyonla en çok sayıda mutasyonu NIHF ile ilişkilendirilen beşinci sıradaki protein durumundadır (Şekil 2). RYR1 ve ITPR1 proteinlerinin de NIHF ilişkili yolakta yer alıyor olmaları da Ca^{+2} sinyal yolağının NIHF oluşumundaki rolünün önemini desteklediği değerlendirilmektedir.

Ca^{+2} Sinyal Yolağı'nın diğer bir alt grubu nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) yapısında bulunan CHRNA1, CHRND ve CHRNG proteinlerini ve bu reseptörler yakın ilişkili RAPSN, MUSK ve DOK7 proteinlerini içeren gruptur (Şekil 8). nAChR'ler, nöromusküler bağlantılarda hızlı iletimi yöneten ligand kapılı iyon kanalları olup, ligand olarak nikotinin bağlanması sonrasında Ca^{+2} , K^{+} ve Na^{+} katyonlarının membrandan geçmesini sağlarlar (326). nAChR'lerin musküler ve nöral olmak üzere iki tipi ve musküler nAChR'lerin de fetal ve yetişkin olmak üzere iki tipi tanımlanmıştır. Musküler nAChR'nin fetal ve yetişkin tipleri arasındaki farklılık, yetişkin kanal yapısında *CHRNE* geninden kodlanan epsilon alt birimi bulunurken fetal kanal yapısında *CHRNG* geninin kodladığı gama alt biriminin nAChR yapısında bulunmasıdır (327). NIHF ilişkili genler listemizde *CHRNG* geni yer aldığı için NIHF ilişkili nAChR tipinin fetal tip musküler nAChR olduğu anlaşılmaktadır (*CHRNA1* geni hariç yapıyı oluşturan diğer proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar NIHF ile ilişkilendirilmiştir) (Tablo 1, Şekil 8). Fetal tip nAChR'ler daha çok gelişim sırasında doğru sinaps bağlantılarının kurulmasında görev alırken, yetişkin nAChR'lerin olgunlaşmış nöromusküler bağlantılardaki sinyalleşmeyi yönetirler. Bu fonksiyonel farklılıklara ek olarak fetal tip nAChR'nin nikotin ligandına olan ilgisinin yetişkin tipten 30 kat daha fazla olduğu ve Ca^{+2} geçirgenliğinin ise yetişkin tipe kıyasla daha az olduğu belirlenmiştir (327, 328). Buna ek olarak, fetal musküler nAChR'lerin gelişmekte olan nöromusküler bağlantı noktalarında doğru konumda bulunmalarının *RAPSN* geninin kodladığı Rapsyn proteini ve MUSK proteini ile sağlandığı bilinmekte olup bu proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar da NIHF ile ilişkilendirilmiştir (329). Bu bilgiler, fetal gelişim sırasında nikotin ligandına bağlı bir katyon taşıyıcısı olan nAChR'nin aktivitesinin NIHF oluşumunda önemli bir rolünün olduğuna işaret etmektedir. Son olarak, MAPK ve Ca^{+2} sinyal yolaklarının her ikisinin de bazı merkezi proteinler üzerinden kesişebilen birbirleriyle ilişkili yolaklar olduğu bilinmektedir. Bu durum, yolak haritasında da yansıtılmaya çalışılmıştır. Öte yandan, NIHF'nin etiyolojisinin karmaşık olması nedeniyle mekanizmanın daha odaklı yaklaşımlarla incelenmesi ve daha kesin ilişkiler üzerinden hedefli moleküler tedavi yaklaşımlarının araştırılabilmesi için bu iki yolak birbirinden ayrılmıştır. Bu sayede FLT4/Ras/MAPK yolağıyla ilişkili mutasyon tanımlanan bireylere

özgü ve Ca^{+2} sinyali veya kas kasılması süreçlerinden rol oynadığı iyi bilinen proteinleri kodlayan genlerde mutasyon görülen bireylere özgü ve daha başarılı kişiye özgü tedavi yaklaşımlarının uygulanabileceğini düşünüyoruz. Öte yandan, mevcut bilimsel verilere dayalı olarak hazırladığımız NIHF sinyal yolağından MAPK ve Ca^{+2} sinyal yolakları iç içe girmemiş durumda olsa da yeni yapılacak çalışmalarla bu iki alt grubu birbirine bağlayan kilit proteinlerin fonksiyonlarının aydınlatılacağını ve NIHF ilişkili genlerin aslında birbirleriyle sıkı ilişkili proteinleri içeren bir yolak halini zamanla alacağını düşünüyoruz. Bu düşünceye destek olarak, yakın zamanda yayımlanan bir çalışmada, fare ve civciv embriyolarında ERK proteinlerinin inhibe edilmesinin RYR1 ve RYR3 proteinlerini aktiveleştirerek hücre içinde Ca^{+2} iyonu artışına yol açmasının miyoblast hücrelerinin olgun miyotüplere dönüşmesini hızlandığını ortaya koyan çalışma gösterilebilir (330). Bu çalışma, kas yapısının doğru bir şekilde gelişmesinde MAPK ve Ca^{+2} sinyal yolaklarının bir arada çalıştıklarına işaret etmekte olup, NIHF'nin moleküler etiyopatogenezinin aydınlatılmasında yolaktaki bağlantıları zenginleştirecek ve mekanizmayı aydınlatmaya katkı sağlayacak ileri araştırmaların gerektiğine işaret etmektedir.

NIHF ilişkili sinyal yolağına üçüncü alt grubunu “Biyoenenerjetik ve Metabolizma” oluşturmaktadır. Bu alt grup, 58 protein içermesi bakımından tanımladığımız en fazla üyeli alt grup durumundadır. Öte yandan, FLT4/Ras/MAPK ve Ca^{+2} Sinyal Yolağı alt gruplarında olduğu gibi bu alt grubun NIHF etiyopatogenezinde spesifik bir mekanizmayı işaret ettiğini belirleyemedik. Bu alt grup daha çok, çeşitli metabolik süreçlerde birlikte rol oynadığı bilinen ER-Golgi-lizozom organelleri ile mitokondri, ribozom, peroksizom ve sitozolde gerçekleşen süreçlerin bir araya getirilmesiyle oluşturulmuştur. Bu nedenle, Biyoenenerjetik ve Metabolizma başlığı altında toplanan bu alt grupta gerçekleşen olayların NIHF oluşumuyla olan ilişkisinin ayrıntılı bir şekilde araştırılıp aydınlatılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu alt grupta dikkati çeken süreçler incelendiğinde ilk olarak ER-Golgi-lizozom organel grubu göze çarpmaktadır. Bilindiği gibi lizozomal depo hastalıkları, lizozom organelinde parçalanması gereken çeşitli atık moleküllerin kalıtsal enzimatik kusurlar nedeniyle parçalanamayıp lizozomda birikmesiyle ortaya çıkmakta ve bu hastalıkların sadece lizozomda lokalize olan enzimlerin fonksiyonlarıyla sınırlı olmayıp ER ve Golgi organellerinde gerçekleşen metabolik süreçlerdeki kusurlarla da ilişkili olduğu bilinmektedir (331). Bununla birlikte, lizozomal depo hastalıklarıyla ilişkili genlerin çoğu uzun yıllardır tanımlanmış olması nedeniyle bu hastalıklarla ilişkili genlerdeki mutasyonların NIHF ile ilişkilendirildiği çok sayıdaki çalışmanın sonuçlarıyla birlikte NIHF

etiyojijisinde bu proteinlerin önemli roller oynadığına bilimsel literatürdeki birçok yayında değinilmektedir (3, 25, 26). FZA ve PPE verilerimiz de lizozoma lokalize olduğu bilinen proteinlerin Ras/MAPK yolağı proteinleri ve kas kasılmasında rol oynayan proteinlerin ardından üçüncü sıradaki en büyük protein grubu olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 5 ve 6). Sinyal yolağı şeklimizde lizozom organelinde lokalize olan proteinleri fonksiyonlarına göre grupladığımızda sialik asit metabolizması, sfingolipid metabolizması glikozaminoglikan metabolizması süreçlerinin farklı basamaklarında rolü olan proteinlerin yer aldığı ve bu nedenle lizozomda gerçekleşen metabolik olaylardan bu üçünün özellikle NIHF ile ilişkisinin dikkati çektiği görülmüştür (Şekil 8). Ek olarak, 14 farklı mutasyonla üçüncü sırada en fazla mutasyonu NIHF ile ilişkilendirilen *GUSB* geninin kodladığı proteinin, altı farklı mutasyonla mutasyon sayısı sıralamasında dokuzuncu sırada yer alan *SLC17A5* geninden kodlanan proteinin ve beş farklı mutasyonu NIHF ile ilişkilendirilen *NPC1* geninden ifade olan proteinin lizozomda lokalize olan proteinler olması lizozomun NIHF etiopatogenezindeki önemine dikkat çekmektedir (Şekil 2 ve 8). Bununla birlikte, bilimsel literatürdeki verileri incelediğimizde lizozomal proteinlerin NIHF ile olan fonksiyonel ilişkisinin sadece lizozomdaki fonksiyonlarıyla ilişkili olamayabileceğine işaret eden veriler de dikkati çekmiştir. Her birinin sialik asit metabolizmasında rol oynadığı bilinen NEU1, GLB1 ve CTSA proteinlerinin bir hücre dışı matriks elemanı olan Elastin proteinine bağlanan Elastin Reseptör Kompleksinin (ERC) üyeleri olduğu belirlenmiştir (332). Elastin, damarlar, kalp, akciğer ve deri gibi elastiklik özelliğine sahip yapıların genişleyip daralma süreçlerinde yapılarının bir arada kalmasında destek veren bir proteindir (333). ERC, hücre yüzeyinde bir transmembran kompleks oluşturunarak Elastin proteinine bağlanmakta, elastik fibrillerin doğru bir şekilde oluşmasında ve hücre dışında parçalanan Elastin'lere bağlanıp hücre içinde PI3K kompleksi ve ERK1/2 proteinlerini aktiveleştirerek sinyalleşmede de rol oynamaktadır (332). NIHF'nin Elastin proteininin fonksiyonunun önem arz ettiği perikard, plevra, deri, periton ve damar yapılarındaki bozulmalarla ilişkili olduğu dikkate alındığında lizozomal proteinlerin NIHF etiyojijisinde son derece kritik fonksiyonel rollerinin olabileceği ve lizozomal proteinlerin bu yönleri üzerine odaklanarak araştırılmalarının faydalı olabileceği değeriendirilmektedir. Daha ilginç, ERC'nin NIHF ile ilişkilendirilmiş olan PI3K kompleksini (kompleks üyelerinden PIK3CA NIHF ilişkilidir) aktive ederek ERK1/2'yi ve AKT yolağını (PI3K/AKT/mTOR yolağı üyelerinden TSC2 NIHF ile ilişkilendirilmiştir) aktive edebilmesi Biyoenerjetik ve Metabolizma alt grubunu FLT4/Ras/MAPK alt grubuna bağlayan ve NIHF ilişkili proteinlerin birbirleriyle birlikte

çalışan ortak bir sürecin parçaları olduğu düşüncemizi destekleyen önemli bir bilgidir. Öte yandan, ERK1/2 proteinlerinin henüz NIHF ile ilişkilendirilmemiş olması, ERK1/2 proteinlerinin aktivitesinin Ras/MAPK yolağında yer almayan başka proteinler tarafından da yönetilebiliyor olması ve PI3K/AKT/mTOR yolağının ana unsurlarının NIHF ile ilişkili olmaması nedenleriyle şimdilik ERC yapısı yolak şeklinde bağımsız olarak çizilmiştir. Bunun dışında Biyoenerjetik ve Metabolizma alt grubunda Golgide O-Glikan Biyosentezinde rol oynadığı bilinen FKTN ve GALNT14 proteinlerinin bir arada bulunması, ER’de N-Glikan Biyosentezinde rol oynadığı bilinen ALG1, ALG8, ALG9, PIGC ve PIGN proteinlerinin bir arada bulunması, fonksiyonel Hemoglobin yapısının alt birimlerinden HBA1, HBA2 ve HBB’nin bir arada bulunmasına ek olarak hücre dışından içeriye Hem taşıyan FLVCR2 proteinin ve mitokondride bu süreçle ilişkili olan MRPS16 ve MRPS22 proteinlerinin bir arada bulunması nedeniyle Hemoglobin oluşum sürecinin farklı üyelerinin NIHF ile ilişkili olmaları ve glikoliz başta olmak üzere sitozolde gerçekleşen çeşitli metabolik basamaklarda görevli proteinlerin de bu alt birimde yer alıyor olması dikkat çekmektedir. Sonuç olarak, Biyoenerjetik ve Metabolizma alt grubunun, 58 üyesiyle NIHF ilişkili alt gruplardan en büyüğünü oluşturması bu sürecin NIHF oluşumundaki önemine işaret etmekle birlikte NIHF’nin moleküler etiyopatogenezindeki rolünün spesifikleştirilmesi için ileri araştırmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

NIHF ilişkili sinyal yolağıyla belirlediğimiz bir diğer alt gruba “Sil İlişkili Proteinler” adı verilmiştir. Bu alt grubun 11 üyeye diğer alt gruplara kıyasla az sayıda protein içermesine rağmen hepsinin primer sil organelinin yapısının farklı birimlerinde yer alan proteinler olmasının oldukça dikkat çekici olduğu değerlendirilmektedir. Sil ve flagella, ökaryotik hücrelerin yüzeyinden çıkıntı yapan iki organeldir. Sil organeli sil membranı, merkezi aksonem ve matriks adı verilen üç kısımdan oluşur ve aksonem organizasyonuna göre hareketli sil ve hareketsiz (primer) sil olmak üzere iki tipe ayrılır. Hareketli sil, hücrelere hareket etme ve içerebildikleri bazı reseptörlerle duyu algılama özelliği kazandırır. Hareketli sil organeli memeli hücrelerinde yaygın bulunmayıp insanlarda sadece sperm hücreleri ile akciğer ve Fallopi tüpündeki bazı epitel hücrelerde bulunmaktadır. Öte yandan, hareketsiz olan primer sil organeli ise hemen hemen tüm hücre tiplerinde ve hücre başına bir adet bulunmaktadır. Primer sili hareketli silden ayıran temel farklılıklar hareketli silde aksonem yapısında bulunan ve hareketlilik fonksiyonunda rol oynayan merkezi konumdaki iki mikrotübülün primer silde bulunmaması ve yine harekette işlevi olan Dynein proteinlerinin hareketli silde bulunup primer silde bulunmamasıdır.

Bunun yanında primer sil, hücreden dışarıya uzanan bir anten gibi işlev dış ortamı kontrol eden mekanosensörleri ve iyon kanallarını barındıran ve çok sayıda sinyal yolağının reseptörlerini içererek hücre sinyalleşmesinde kritik öneme sahip özel bir bölgesini oluşturduğu belirlenmiştir (332, 333). Sil ilişkili Proteinler isimli NIHF ilişkili alt yolak grubunda hem hareketli sil yapısına özgü olduğu bilinen Dynein proteinlerinden DNAH9 ve DNAH14 proteinlerinin bulunması hem de primer sil yapısına özgü olduğu bilinen PKD1L1 ve INVS proteinlerinin bulunması nedeniyle her iki sil yapısının da NIHF oluşumunda rolü olduğu değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, bu alt grup henüz diğer alt gruplardaki proteinlerle ilişkilendirilememiştir. PKD1L1'in primer sil yapısında bulunan ve hücre içine Ca^{+2} iyonlarını alan heteromerik PKD1L1-PKD2L1 kanalının bir alt birimi olması nedeniyle ilk bakışta sil ile Ca^{+2} yolağı arasında bir bağlantı olabileceği akla geliyor olsa da bu kanalın sadece primer silin fonksiyonu için gereken az miktarda Ca^{+2} 'yi hücre içine alıp hücre içindeki ana Ca^{+2} deposuna katkı sağlamaması nedeniyle yolak şeklinde bağlantı kurulmamıştır (334). Ek olarak, lenfatik endotel hücrelerde primer silin bulunduğu ve primer sil yapısının lenf damar gelişiminde kritik önem sahip olduğu yakın zamanda belirlenmiş olup, ayrıca primer sil yapısında bulunan reseptörlerin uyarılmasıyla MAPK sinyal yolağının uyarıldığı ve sil içinde vesiküler ve lipidli kargoların taşınması süreçlerinde sil ve Golgi organellerinin birlikte çalıştıkları literatürde yer alan bilgiler arasındadır (335-337). Öte yandan bu süreçlerde rol oynayan ve birbirleriyle ilişkili olan proteinler NIHF listemizde yer almadığı için bu bağlantılar kurulamamıştır. Ama bu bilgiler sil organelinin FLT4/Ras/MAPK, Ca^{+2} Sinyal Yolağı ve Biyoenerjetik ve Metabolizma alt gruplarıyla ilişkilendirilme ihtimalinin yüksek olduğuna işaret etmekte olup bu bağlantıları kuracak ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

NIHF ilişkili sinyal yolağının beşinci alt grubunu “Nükleer Proteinler” oluşturmaktadır. NIHF sinyal yolağında yer alıp çekirdekte lokalize olduğu bilinen 24 protein bu alt grupta yer almaktadır. Bunlardan 11'i transkripsiyon faktörleri olup bazılarının aktivitelerinin MAPK veya Ca^{+2} sinyal yolakları tarafından üst akımdan gelen düzenleyici uyarılarla düzenlendiği bilinmektedir. Bu bağlantılar, yolak şeklinde kesikli oklarla referanslarıyla birlikte verilmiştir (Şekil 7). Öte yandan MAPK yolağında transkripsiyon faktörlerine sinyal iletiminde kritik öneme sahip olan ERK1 ve ERK2 proteinlerinin NIHF ile ilişkilendirilmemiş olması ve Ca^{+2} sinyal yolağında da transkripsiyon faktörlerini aktive eden direkt bağlantıları sağlayan proteinlerin belirlenmemiş olması nedeniyle yolakların çekirdekteki üyeleriyle entegrasyonu kurulamamıştır. Bununla birlikte, transkripsiyon

faktörleri arasında FOXC2 ve SOX18 gibi lenf damarı gelişiminde kritik öneme sahip oldukları iyi bilinen transkripsiyon faktörlerinin bulunması çekirdekteki proteinlerin bir kısmının üst akımda yer alan FLT4/Ras/MAPK Sinyali alt grubuyla yakından ilişkili olduklarına ve lenf gelişimi sürecinin NIHF oluşumundaki önemine işaret etmektedir (303). NIHF ilişkili sinyal yolağında çekirdek transkripsiyon faktörlerine ek olarak transkripsiyonel aktivatörler (TAZ, MED13L ve NIPBL), epigenetik düzenleyici proteinler (KMT2D, KAT6B ve SUZ12), DNA replikasyonunda göre alan proteinler (RFWD3 ve CDAN1) ve DNA onarımında rol oynayan proteinler (FEN1 ve ERCC5) küçük gruplar oluşturmuştur. Bununla birlikte elimizdeki veriler, çekirdekte lokalize oldukları bilinen proteinlerin NIHF'nin moleküler etiyopatogeniziyle olan ilişkisinin anlaşılmasına yetecek düzeyde olmayıp bu konuya açıklık getirecek çalışmalara ihtiyaç duyulduğu değerlendirilmektedir.

NIHF ilişkili sinyal yolağının son alt grubunu diğer alt grup sınıflandırma kriterlerine uymayan veya diğer proteinlerle bağlantı kurulmasını sağlayacak fonksiyonları bilinmeyen proteinleri içeren “Diğer” isimli alt grup oluşturmaktadır. Yolaktaki 13 protein bu grupta yer alıyor olup bu proteinleri yolaktaki diğer proteinlerle ilişkilendirecek deneysel araştırmaların hem NIHF yolağını daha iyi anlamamıza hem de bilimsel literatüre önemli katkılar yapacak araştırmaya değer proteinler olduğu değerlendirilmektedir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasıyla, bilimsel literatürdeki NIHF ilişkili makaleleri tarayıp kanıta dayalı olarak derleyerek NIHF'nin monogenik etiyolojisini oluşturan genler ve mutasyonlar referanslarıyla birlikte derlenerek NIHF araştırma alanında ihtiyaç duyulan önemli bir eksiklik giderilmeye çalışılmış, genetik verilere dayalı olarak uygulanan ve NIHF araştırma alanı için nispeten yeni olan bir yaklaşımla NIHF ile ilişkili etkilenen sistemler sınıflandırılmış, NIHF araştırma alanında ilk kez sistem biyolojisi temelli biyoenformatik analiz yaklaşımları uygulanarak istatistiksel olarak NIHF'nin moleküler etiyopatogenezinde ön sıralarda işlevi olan biyolojik süreçler ve kilit konumdaki proteinler FZA ve PPE analizleriyle belirlenmiş, NIHF araştırma alanında yeni araştırmaların önünü açacağını düşündüğümüz NIHF ilişkili hücre sinyal yolağı ilk kez ortaya çıkarılmış ve son olarak NIHF'nin moleküler etiyopatogenezinin daha iyi anlaşılabilmesine ve odaklı kişiselleştirilmiş tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesine büyük katkı sağlayacağını düşündüğümüz NIHF yolağının alt grupları ilk kez tanımlanmıştır. *In silico* araştırma yöntemlerinin kullanıldığı bu yüksek lisans tez çalışmasının verilerine dayalı olarak yakın

gelecekte WT ve NIHF ilişkili mutant proteinlerin fonksiyonlarının araştırılacağı ayrıntılı ve yenilikçi ıslak laboratuvar çalışmaları yaparak NIHF araştırma alanına kendi özgün katkılarımızı yapmaya devam etmeyi hedefliyoruz.



6. KAYNAKLAR

1. Watson JD, Crick FHC (1953). Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171(4356): 737-738.
2. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, Smith HO, Yandell M, Evans CA, Holt RA, Gocayne JD, Amanatides P, Ballew RM, Huson DH, Wortman JR, Zhang Q, Kodira CD, Zheng XH, Chen L, Skupski M, Subramanian G, Thomas PD, Zhang J, Gabor Miklos GL, Nelson C, Broder S, Clark AG, Nadeau J, McKusick VA, Zinder N, Levine AJ, Roberts RJ, Simon M, Slayman C, Hunkapiller M, Bolanos R, Delcher A, Dew I, Fasulo D, Flanigan M, Florea L, Halpern A, Hannenhalli S, Kravitz S, Levy S, Mobarry C, Reinert K, Remington K, Abu-Threideh J, Beasley E, Biddick K, Bonazzi V, Brandon R, Cargill M, Chandramouliswaran I, Charlab R, Chaturvedi K, Deng Z, Di Francesco V, Dunn P, Eilbeck K, Evangelista C, Gabrielian AE, Gan W, Ge W, Gong F, Gu Z, Guan P, Heiman TJ, Higgins ME, Ji RR, Ke Z, Ketchum KA, Lai Z, Lei Y, Li Z, Li J, Liang Y, Lin X, Lu F, Merkulov GV, Milshina N, Moore HM, Naik AK, Narayan VA, Neelam B, Nusskern D, Rusch DB, Salzberg S, Shao W, Shue B, Sun J, Wang Z, Wang A, Wang X, Wang J, Wei M, Wides R, Xiao C, Yan C, Yao A, Ye J, Zhan M, Zhang W, Zhang H, Zhao Q, Zheng L, Zhong F, Zhong W, Zhu S, Zhao S, Gilbert D, Baumhueter S, Spier G, Carter C, Cravchik A, Woodage T, Ali F, An H, Awe A, Baldwin D, Baden H, Barnstead M, Barrow I, Beeson K, Busam D, Carver A, Center A, Cheng ML, Curry L, Danaher S, Davenport L, Desilets R, Dietz S, Dodson K, Doup L, Ferriera S, Garg N, Gluecksmann A, Hart B, Haynes J, Haynes C, Heiner C, Hladun S, Hostin D, Houck J, Howland T, Ibegwam C, Johnson J, Kalush F, Kline L, Koduru S, Love A, Mann F, May D, McCawley S, McIntosh T, McMullen I, Moy M, Moy L, Murphy B, Nelson K, Pfannkoch C, Pratts E, Puri V, Qureshi H, Reardon M, Rodriguez R, Rogers YH, Romblad D, Ruhfel B, Scott R, Sitter C, Smallwood M, Stewart E, Strong R, Suh E, Thomas R, Tint NN, Tse S, Vech C, Wang G, Wetter J, Williams S, Williams M, Windsor S, Winn-Deen E, Wolfe K, Zaveri J, Zaveri K, Abril JF, Guigo R, Campbell MJ, Sjolander KV, Karlak B, Kejariwal A, Mi H, Lazareva B, Hatton T, Narechania A, Diemer K, Muruganujan A, Guo N, Sato S, Bafna V, Istrail S, Lippert R, Schwartz R, Walenz B, Yooseph S, Allen D, Basu A, Baxendale J, Blick L, Caminha M, Carnes-Stine J, Caulk P, Chiang YH, Coyne M, Dahlke C, Mays A, Dombroski M, Donnelly M, Ely D, Esparham S, Fosler C, Gire

- H, Glanowski S, Glasser K, Glodek A, Gorokhov M, Graham K, Gropman B, Harris M, Heil J, Henderson S, Hoover J, Jennings D, Jordan C, Jordan J, Kasha J, Kagan L, Kraft C, Levitsky A, Lewis M, Liu X, Lopez J, Ma D, Majoros W, McDaniel J, Murphy S, Newman M, Nguyen T, Nguyen N, Nodell M, Pan S, Peck J, Peterson M, Rowe W, Sanders R, Scott J, Simpson M, Smith T, Sprague A, Stockwell T, Turner R, Venter E, Wang M, Wen M, Wu D, Wu M, Xia A, Zandieh A, Zhu X (2001). The sequence of the human genome. *Science* 291(5507): 1304-1351.
3. Society for Maternal-Fetal M, Norton ME, Chauhan SP, Dashe JS (2015). Society for maternal-fetal medicine (SMFM) clinical guideline #7: nonimmune hydrops fetalis. *Am J Obstet Gynecol* 212(2): 127-139.
 4. Dahlke JD, Magann, E.F (2015). Immune and Nonimmune hydrops fetalis. Faranoff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine. Diseases of the Fetus and Infant., Elsevier Saunders Press.
 5. Nussbaum MD RLMC, Roderick R Willard, Huntington F (2017). Thompson & Thompson tibbi genetik. 7 ed.
 6. Online Mendelian Inheritance in Man(OMIM) (2022). OMIM gene map statistics [online]. Available from: <https://www.omim.org/statistics/geneMap>. [Accessed 03 Ocak 2022].
 7. Bick D, Bick SL, Dimmock DP, Fowler TA, Caulfield MJ, Scott RH (2021). An online compendium of treatable genetic disorders. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 187(1): 48-54.
 8. Rafeeq MM, Murad HAS (2017). Cystic fibrosis: current therapeutic targets and future approaches. *J Transl Med* 15(1): 84.
 9. O'Donnell JS, Teng MWL, Smyth MJ (2019). Cancer immunoediting and resistance to T cell-based immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol* 16(3): 151-167.
 10. Unsoy G, Gunduz U (2018). Smart drug delivery systems in cancer therapy. *Curr Drug Targets* 19(3): 202-212.
 11. Ballantyne JW (1892). The diseases and deformities of the foetus: an attempt towards a system of ante-natal pathology.121,122.
 12. Potter EL (1943). Universal edema of the fetus unassociated with erythroblastosis. *American Journal of Obstet and Gynecol* 46(1): 130-134.

13. Orphanet (2022). Hydrops fetalis [online]. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=en&Expert=1041. [Accessed 03 Ocak 2022].
14. Desilets V, De Bie I, Audibert F (2018). No. 363-Investigation and management of Non-Immune Fetal Hydrops. *J Obstet Gynaecol Can* 40(8): 1077-1090.
15. Freda VJ, Gorman JG, Pollack W (1966). Rh factor: prevention of isoimmunization and clinical trial on mothers. *Science* 151(3712): 828-830.
16. Benirschke K, Burton G J, Baergen R N (2012). *Erythroblastosis Fetalis and Hydrops Fetalis. Pathology of the Human Placenta*, Springer, Berlin, Heidelberg.
17. Fung KFK, Eason E (2018). No. 133-Prevention of Rh alloimmunization. *J Obstet Gynaecol Can* 40(1): e1-e10.
18. Xu X, Li L, Xia W, Ding H, Chen D, Liu J, Deng J, Chen Y, He Z, Wang J, Shao Y, Santoso S, Ye X, Fang Q (2018). Successful management of a hydropic fetus with severe anemia and thrombocytopenia caused by anti-CD36 antibody. *Int J Hematol* 107(2): 251-256.
19. Okajima S, Cho K, Chiba H, Azuma H, Mochizuki T, Yamaguchi M, Sato S, Ikeda H, Yamada H, Minakami H, Ariga T, Kobayashi K (2006). Two sibling cases of hydrops fetalis due to alloimmune anti-CD36 (Nak a) antibody. *Thromb Haemost* 95(2): 267-271.
20. Akdag A, Erdevi O, Uras N, Simsek Y, Dilmen U (2012). Hydrops Fetalis due to Kell alloimmunization: a perinatal approach to a rare case. *Turk J Haematol* 29(1): 72-75.
21. Sparks TN, Thao K, Lianoglou BR, Boe NM, Bruce KG, Datkhaeva I, Field NT, Fratto VM, Jolley J, Laurent LC, Mardy AH, Murphy AM, Ngan E, Rangwala N, Rottkamp CAM, Wilson L, Wu E, Uy CC, Valdez Lopez P, Norton ME, University of California Fetal-Maternal C (2019). Nonimmune hydrops fetalis: identifying the underlying genetic etiology. *Genet Med* 21(6): 1339-1344.
22. Randenberg AL (2010). Nonimmune hydrops fetalis part II: does etiology influence mortality? *Neonatal Netw* 29(6): 367-380.
23. McCoy MC, Katz VL, Gould N, Kuller JA (1995). Non-immune hydrops after 20 weeks' gestation: review of 10 years' experience with suggestions for management. *Obstet Gynecol* 85(4): 578-582.

24. Ismail KM, Martin WL, Ghosh S, Whittle MJ, Kilby MD (2001). Etiology and outcome of hydrops fetalis. *J Matern Fetal Med* 10(3): 175-181.
25. Bellini C, Donarini G, Paladini D, Calevo MG, Bellini T, Ramenghi LA, Hennekam RC (2015). Etiology of non-immune hydrops fetalis: an update. *Am J Med Genet A* 167A(5): 1082-1088.
26. Steurer MA, Peyvandi S, Baer RJ, MacKenzie T, Li BC, Norton ME, Jelliffe-Pawlowski LL, Moon-Grady AJ (2017). Epidemiology of live born infants with Nonimmune Hydrops Fetalis-Insights from a Population-Based Dataset. *J Pediatr* 187: 182-188 e183.
27. Quinn AM, Valcarcel BN, Makhamreh MM, Al-Kouatly HB, Berger SI (2021). A systematic review of monogenic etiologies of nonimmune hydrops fetalis. *Genet Med* 23(1): 3-12.
28. Correa ARE, Naini K, Mishra P, Dadhwal V, Agarwal R, Shukla R, Kabra M, Gupta N (2021). Utility of fetal whole exome sequencing in the etiological evaluation and outcome of nonimmune hydrops fetalis. *Prenat Diagn* 41(11): 1414-1424.
29. Quinn AM, Valcarcel BN, Makhamreh MM, Al-Kouatly HB, Berger SI (2021). A systematic review of monogenic etiologies of Nonimmune Hydrops Fetalis. *Genetics in Medicine* 23(1): 3-12.
30. Mardy AH, Chetty SP, Norton ME, Sparks TN (2019). A system-based approach to the genetic etiologies of Non-Immune Hydrops Fetalis. *Prenat Diagn* 39(9): 732-750.
31. Schonfeld M, Selig M, Russo A, Lindner C, Kampmann C, Mildemberger E, Whybra C (2020). Rapid detection by hydrops panel of Noonan syndrome with PTPN11 mutation (p.Thr73Ile) and persistent thrombocytopenia. *Mol Genet Genomic Med* 8(5): e1174.
32. Sparks TN, Lianoglou BR, Adami RR, Pluym ID, Holliman K, Duffy J, Downum SL, Patel S, Faubel A, Boe NM, Field NT, Murphy A, Laurent LC, Jolley J, Uy C, Slavotinek AM, Devine P, Hodoglulugil U, Van Ziffle J, Sanders SJ, MacKenzie TC, Norton ME, University of California Fetal-Maternal C, University of California SFCfM-FPM (2020). Exome sequencing for prenatal diagnosis in Nonimmune Hydrops Fetalis. *N Engl J Med* 383(18): 1746-1756.
33. DisGeNET (2022). Hydrops Fetalis, Non-Immune, C0455988 [online]. Available from: <http://www.disgenet.org/browser/0/1/0/C0455988/> [Accessed 01 Ocak 2022].

34. PanelApp (2022). Fetal Hydrops (Version 1.45) [online]. Available from: <https://panelapp.genomicsengland.co.uk/panels/144/> [Accessed 01 Ocak 2022].
35. Mastermind (2022). Hydrops Fetalis [online]. Available from: <https://mastermind.genomenon.com/> [Accessed 01 Ocak 2022].
36. Human Phenotype Ontology (HPO) (2022). Nonimmune Hydrops Fetalis HP:0001790 [online]. Available from: <https://hpo.jax.org/app/browse/term/HP:0001790>. [Accessed 01 Ocak 2022].
37. INVITAE (2022). Invitae metabolic Non-Immune Fetal Hydrops Panel [online]. Available from: <https://www.invitae.com/en/physician/tests/06229/> [Accessed 01 Ocak 2022].
38. Yurdakök M (2014). Non-immune hydrops fetalis. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine (JPNIM)* 3(2): e030214.
39. Parks WT (2015). A pathologist's approach to Nonimmune Hydrops. *Journal of Fetal Medicine* 2(3): 143-149.
40. Bellini C, Hennekam RC, Fulcheri E, Rutigliani M, Morcaldi G, Boccardo F, Bonioli E (2009). Etiology of Nonimmune Hydrops Fetalis: a systematic review. *Am J Med Genet A* 149A(5): 844-851.
41. Dursun A, Gucer S, Ebberink MS, Yigit S, Wanders RJ, Waterham HR (2009). Zellweger syndrome with unusual findings: Non-Immune Hydrops Fetalis, dermal erythropoiesis and hypoplastic toe nails. *J Inherit Metab Dis* 32 Suppl 1: S345-348.
42. Raju GP, Li HC, Bali DS, Chen YT, Urion DK, Lidov HG, Kang PB (2008). A case of congenital glycogen storage disease type IV with a novel GBE1 mutation. *J Child Neurol* 23(3): 349-352.
43. Croonen EA, Nillesen WM, Stuurman KE, Oudesluijs G, van de Laar IM, Martens L, Ockeloen C, Mathijssen IB, Schepens M, Ruiterkamp-Versteeg M, Scheffer H, Faas BH, van der Burgt I, Yntema HG (2013). Prenatal diagnostic testing of the Noonan syndrome genes in fetuses with abnormal ultrasound findings. *Eur J Hum Genet* 21(9): 936-942.
44. Mizuguchi T, Nakashima M, Kato M, Okamoto N, Kurahashi H, Ekhilevitch N, Shiina M, Nishimura G, Shibata T, Matsuo M, Ikeda T, Ogata K, Tsuchida N, Mitsuhashi S, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Hata K, Kaname T, Matsubara Y, Saito H, Matsumoto N (2018). Loss-of-function and gain-of-function mutations in PPP3CA cause two distinct disorders. *Hum Mol Genet* 27(8): 1421-1433.

45. Zhao Y, Barrere-Cain RE, Yang X (2015). Nutritional systems biology of type 2 diabetes. *Genes Nutr* 10(5): 481.
46. Sekaly R, Pulendran B (2012). Systems biology in understanding HIV pathogenesis and guiding vaccine development. *Curr Opin HIV AIDS* 7(1): 1-3.
47. Randolph-Gips M, Srinivasan P (2012). Modeling autism: a systems biology approach. *J Clin Bioinforma* 2(1): 17.
48. Du W, Elemento O (2015). Cancer systems biology: embracing complexity to develop better anticancer therapeutic strategies. *Oncogene* 34(25): 3215-3225.
49. Tavassoly I, Goldfarb J, Iyengar R (2018). Systems biology primer: the basic methods and approaches. *Essays Biochem* 62(4): 487-500.
50. Medina MA (2013). Systems biology for molecular life sciences and its impact in biomedicine. *Cell Mol Life Sci* 70(6): 1035-1053.
51. Mast FD, Ratushny AV, Aitchison JD (2014). Systems cell biology. *J Cell Biol* 206(6): 695-706.
52. Ma'ayan A (2017). Complex systems biology. *J R Soc Interface* 14(134).
53. Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, Mukherjee S, Ebert BL, Gillette MA, Paulovich A, Pomeroy SL, Golub TR, Lander ES, Mesirov JP (2005). Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(43): 15545-15550.
54. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G (2000). Gene Ontology: tool for the unification of biology. *Nature Genetics* 25(1): 25-29.
55. Hung JH, Yang TH, Hu Z, Weng Z, DeLisi C (2012). Gene set enrichment analysis: performance evaluation and usage guidelines. *Brief Bioinform* 13(3): 281-291.
56. Raudvere U, Kolberg L, Kuzmin I, Arak T, Adler P, Peterson H, Vilo J (2019). g:Profiler: a web server for functional enrichment analysis and conversions of gene lists (2019 update). *Nucleic Acids Research* 47(W1): W191-W198.
57. Wang J, Duncan D, Shi Z, Zhang B (2013). WEB-based gene set analysis toolkit (WebGestalt): update 2013. *Nucleic Acids Research* 41(W1): W77-W83.
58. Chen EY, Tan CM, Kou Y, Duan Q, Wang Z, Meirelles GV, Clark NR, Ma'ayan A (2013). Enrichr: interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool. *BMC Bioinformatics* 14: 128.

59. Peri S, Navarro JD, Kristiansen TZ, Amanchy R, Surendranath V, Muthusamy B, Gandhi TK, Chandrika KN, Deshpande N, Suresh S, Rashmi BP, Shanker K, Padma N, Niranjana V, Harsha HC, Talreja N, Vrushabendra BM, Ramya MA, Yatish AJ, Joy M, Shivashankar HN, Kavitha MP, Menezes M, Choudhury DR, Ghosh N, Saravana R, Chandran S, Mohan S, Jonnalagadda CK, Prasad CK, Kumar-Sinha C, Deshpande KS, Pandey A (2004). Human protein reference database as a discovery resource for proteomics. *Nucleic Acids Res* 32(Database issue): D497-501.
60. Xenarios I, Rice DW, Salwinski L, Baron MK, Marcotte EM, Eisenberg D (2000). DIP: the database of interacting proteins. *Nucleic Acids Res* 28(1): 289-291.
61. Zanzoni A, Montecchi-Palazzi L, Quondam M, Ausiello G, Helmer-Citterich M, Cesareni G (2002). MINT: a molecular interaction database. *FEBS Lett* 513(1): 135-140.
62. Kerrien S, Aranda B, Breuza L, Bridge A, Broackes-Carter F, Chen C, Duesbury M, Dumousseau M, Feuermann M, Hinz U, Jandrasits C, Jimenez RC, Khadake J, Mahadevan U, Masson P, Pedruzzi I, Pfeifferberger E, Porras P, Raghunath A, Roechert B, Orchard S, Hermjakob H (2012). The IntAct molecular interaction database in 2012. *Nucleic Acids Res* 40(Database issue): D841-846.
63. Oughtred R, Rust J, Chang C, Breitkreutz BJ, Stark C, Willems A, Boucher L, Leung G, Kolas N, Zhang F, Dolma S, Coulombe-Huntington J, Chatr-Aryamontri A, Dolinski K, Tyers M (2021). The BioGRID database: A comprehensive biomedical resource of curated protein, genetic, and chemical interactions. *Protein Sci* 30(1): 187-200.
64. von Mering C, Jensen LJ, Snel B, Hooper SD, Krupp M, Foglierini M, Jouffre N, Huynen MA, Bork P (2005). STRING: known and predicted protein-protein associations, integrated and transferred across organisms. *Nucleic Acids Res* 33(Database issue): D433-437.
65. Proulx SR, Promislow DE, Phillips PC (2005). Network thinking in ecology and evolution. *Trends Ecol Evol* 20(6): 345-353.
66. Han J-DJ, Bertin N, Hao T, Goldberg DS, Berriz GF, Zhang LV, Dupuy D, Walhout AJM, Cusick ME, Roth FP, Vidal M (2004). Evidence for dynamically organized modularity in the yeast protein-protein interaction network. *Nature* 430(6995): 88-93.

67. Kanehisa M, Goto S (2000). KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res* 28(1): 27-30.
68. Kutmon M, Riutta A, Nunes N, Hanspers K, Willighagen EL, Bohler A, Melius J, Waagmeester A, Sinha SR, Miller R, Coort SL, Cirillo E, Smeets B, Evelo CT, Pico AR (2016). WikiPathways: capturing the full diversity of pathway knowledge. *Nucleic Acids Res* 44(D1): D488-494.
69. Fabregat A, Jupe S, Matthews L, Sidiropoulos K, Gillespie M, Garapati P, Haw R, Jassal B, Korninger F, May B, Milacic M, Roca CD, Rothfels K, Sevilla C, Shamovsky V, Shorser S, Varusai T, Viteri G, Weiser J, Wu G, Stein L, Hermjakob H, D'Eustachio P (2018). The reactome pathway knowledgebase. *Nucleic Acids Res* 46(D1): D649-D655.
70. Xu J, Raff TC, Muallem NS, Neubert AG (2003). Hydrops fetalis secondary to parvovirus B19 infections. *J Am Board Fam Pract* 16(1): 63-68.
71. Barron SD, Pass RF (1995). Infectious causes of hydrops fetalis. *Semin Perinatol* 19(6): 493-501.
72. von Kaisenberg CS, Jonat W (2001). Fetal parvovirus B19 infection. *Ultrasound Obstet Gynecol* 18(3): 280-288.
73. Human Genome Variation Society (2020). Sequence variant nomenclature [online]. Available from: <http://varnomen.hgvs.org/recommendations/general/>. [Accessed 25 Temmuz 2020].
74. Subhash S, Kanduri C (2016). GeneSCF: a real-time based functional enrichment tool with support for multiple organisms. *BMC Bioinformatics* 17(1): 365.
75. Springer-Verlag New York (2016). ggplot2: elegant graphics for data analysis [online]. Available from: <https://ggplot2.tidyverse.org>. [Accessed 25 Haziran 2021].
76. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, Amin N, Schwikowski B, Ideker T (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res* 13(11): 2498-2504.
77. Doncheva NT, Morris JH, Gorodkin J, Jensen LJ (2019). Cytoscape StringApp: network analysis and visualization of proteomics data. *J Proteome Res* 18(2): 623-632.
78. von Mering C, Huynen M, Jaeggi D, Schmidt S, Bork P, Snel B (2003). STRING: a database of predicted functional associations between proteins. *Nucleic Acids Res* 31(1): 258-261.

79. Center for BioMedical Computing (CBMC). CentiScaPe [online]. Available from: <https://apps.cytoscape.org/apps/centiscape>. [Accessed 25 Eylül 2021].
80. Kutmon M, van Iersel MP, Bohler A, Kelder T, Nunes N, Pico AR, Evelo CT (2015). PathVisio 3: an extendable pathway analysis toolbox. *PLoS Comput Biol* 11(2): e1004085.
81. Bruwer Z, Al Riyami N, Al Dughaisi T, Al Murshedi F, Al Sayegh A, Al Kindy A, Meftah D, Al Kharusi K, Al Foori A, Al Yarubi N, Scott P, Al-Thihli K (2018). Inborn errors of metabolism in a cohort of pregnancies with Non-Immune Hydrops Fetalis: a single center experience. *J Perinat Med* 46(9): 968-974.
82. Kiraly-Borri C, Jevon G, Ji W, Jeffries L, Ricciardi JL, Konstantino M, Ackerman KG, Lakhani SA (2019). Siblings with lethal primary pulmonary hypoplasia and compound heterozygous variants in the AARS2 gene: further delineation of the phenotypic spectrum. *Cold Spring Harb Mol Case Stud* 5(3).
83. Ahmed AA, Skaria P, Safina NP, Thiffault I, Kats A, Taboada E, Habeebu S, Saunders C (2018). Arthrogryposis and pterygia as lethal end manifestations of genetically defined congenital myopathies. *Am J Med Genet A* 176(2): 359-367.
84. Deng Q, Fu F, Yu Q, Li R, Li F, Wang D, Lei T, Yang X, Liao C (2020). Nonimmune hydrops fetalis: genetic analysis and clinical outcome. *Prenat Diagn* 40(7): 803-812.
85. Arai A, Mitsuhashi S, Saito Y, Komaki H, Sakuma H, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Robertson SP, Nishimura G, Yamamoto T, Nonaka I, Nishino I (2009). Nemaline (actin) myopathy with myofibrillar dysgenesis and abnormal ossification. *Neuromuscul Disord* 19(7): 485-488.
86. Drury S, Williams H, Trump N, Boustred C, Gosgene, Lench N, Scott RH, Chitty LS (2015). Exome sequencing for prenatal diagnosis of fetuses with sonographic abnormalities. *Prenat Diagn* 35(10): 1010-1017.
87. Di Donato N, Rump A, Koenig R, Der Kaloustian VM, Halal F, Sonntag K, Krause C, Hackmann K, Hahn G, Schrock E, Verloes A (2014). Severe forms of Baraitser-Winter syndrome are caused by ACTB mutations rather than ACTG1 mutations. *Eur J Hum Genet* 22(2): 179-183.
88. Scheuerle AE, Sweed NT, Timmons CF, Smith ED, Alcaraz WA, Shinde DN (2018). An additional case of Hennekam lymphangiectasia-lymphedema syndrome caused by loss-of-function mutation in ADAMTS3. *Am J Med Genet A* 176(12): 2858-2861.

89. Grubbs R, Vugrek O, Deisch J, Wagner C, Stabler S, Allen R, Baric I, Rados M, Mudd SH (2010). S-adenosylhomocysteine hydrolase deficiency: two siblings with fetal hydrops and fatal outcomes. *J Inherit Metab Dis* 33(6): 705-713.
90. Judkins AJ, MacQueen BC, Christensen RD, Comstock J, Mao R, Flores-Daboub J (2018). Non-Immune Hydrops, Hypotonia, Encephalopathy, and Liver Failure with novel compound heterozygous AHCY mutations. *Neonatology* 114(4): 337-340.
91. Schwarz M, Thiel C, Lubbehusen J, Dorland B, de Koning T, von Figura K, Lehle L, Korner C (2004). Deficiency of GDP-Man:GlcNAc2-PP-dolichol mannosyltransferase causes congenital disorder of glycosylation type Ik. *Am J Hum Genet* 74(3): 472-481.
92. Hock M, Wegleiter K, Ralser E, Kiechl-Kohlendorfer U, Scholl-Burgi S, Fauth C, Steichen E, Pichler K, Lefeber DJ, Matthijs G, Keldermans L, Maurer K, Zschocke J, Karall D (2015). ALG8-CDG: novel patients and review of the literature. *Orphanet J Rare Dis* 10: 73.
93. Vesela K, Honzik T, Hansikova H, Haeuptle MA, Semberova J, Stranak Z, Hennet T, Zeman J (2009). A new case of ALG8 deficiency (CDG Ih). *J Inherit Metab Dis* 32 Suppl 1.
94. Schollen E, Frank CG, Keldermans L, Reyntjens R, Grubenmann CE, Clayton PT, Winchester BG, Smeitink J, Wevers RA, Aebi M, Hennet T, Matthijs G (2004). Clinical and molecular features of three patients with congenital disorders of glycosylation type Ih (CDG-Ih) (ALG8 deficiency). *J Med Genet* 41(7): 550-556.
95. Charlwood J, Clayton P, Johnson A, Keir G, Mian N, Winchester B (1997). A case of the carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type 1 (CDGS type 1) with normal phosphomannomutase activity. *J Inherit Metab Dis* 20(6): 817-826.
96. Alsubhi S, Alhashem A, Fageih E, Alfadhel M, Alfaifi A, Altuwaijri W, Alsahli S, Aldhalaan H, Alkuraya FS, Hundallah K, Mahmoud A, Alasmari A, Mutairi FA, Abduraouf H, AlRasheed L, Alshahwan S, Tabarki B (2017). Congenital disorders of glycosylation: the Saudi experience. *Am J Med Genet A* 173(10): 2614-2621.
97. AlSubhi S, AlHashem A, AlAzami A, Tlili K, AlShahwan S, Lefeber D, Alkuraya FS, Tabarki B (2016). Further delineation of the ALG9-CDG phenotype. *JIMD Rep* 27: 107-112.
98. Almomani R, Verhagen JM, Herkert JC, Brosens E, van Spaendonck-Zwarts KY, Asimaki A, van der Zwaag PA, Frohn-Mulder IM, Bertoli-Avella AM, Boven LG,

- van Slegtenhorst MA, van der Smagt JJ, van IWF, Timmer B, van Stuijvenberg M, Verdijk RM, Saffitz JE, du Plessis FA, Michels M, Hofstra RM, Sinke RJ, van Tintelen JP, Wessels MW, Jongbloed JD, van de Laar IM (2016). Biallelic truncating mutations in ALPK3 cause severe pediatric cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 67(5): 515-525.
99. Suzumori N, Mornet E, Mizutani E, Obayashi S, Ozaki Y, Sugiura-Ogasawara M (2011). Prenatal diagnosis of familial lethal hypophosphatasia using imaging, blood enzyme levels, chorionic villus sampling and archived fetal tissue. *J Obstet Gynaecol Res* 37(10): 1470-1473.
 100. Al-Kouatly HB, Makhamreh MM, Rice SM, Smith K, Harman C, Quinn A, Valcarcel BN, Firman B, Liu R, Hegde M, Critchlow E, Berger SI (2021). High diagnosis rate for nonimmune hydrops fetalis with prenatal clinical exome from the hydrops-yielding diagnostic results of prenatal sequencing (HYDROPS) study. *Genet Med* 23(7): 1325-1333.
 101. Alves MQ, Le Trionnaire E, Ribeiro I, Carpentier S, Harzer K, Levade T, Ribeiro MG (2013). Molecular basis of acid ceramidase deficiency in a neonatal form of Farber disease: identification of the first large deletion in *ASAHI* gene. *Mol Genet Metab* 109(3): 276-281.
 102. Rinaldi B, Race V, Corveleyn A, Van Hoof E, Bauters M, Van Den Bogaert K, Denayer E, de Ravel T, Legius E, Baldewijns M, Aertsen M, Lewi L, De Catte L, Breckpot J, Devriendt K (2020). Next-generation sequencing in prenatal setting: some examples of unexpected variant association. *Eur J Med Genet* 63(5): 103875.
 103. Shamseldin HE, Kurdi W, Almusafri F, Alnemer M, Alkaff A, Babay Z, Alhashem A, Tulbah M, Alsahan N, Khan R, Sallout B, Al Mardawi E, Seidahmed MZ, Meriki N, Alsaber Y, Qari A, Khalifa O, Eyaid W, Rahbeeni Z, Kurdi A, Hashem M, Alshidi T, Al-Obeid E, Abdulwahab F, Ibrahim N, Ewida N, El-Akouri K, Al Mulla M, Ben-Omran T, Pergande M, Cirak S, Al Tala S, Shaheen R, Fageih E, Alkuraya FS (2018). Molecular autopsy in maternal-fetal medicine. *Genet Med* 20(4): 420-427.
 104. Giuffrida MG, Mastromoro G, Guida V, Truglio M, Fabbretti M, Torres B, Mazza T, De Luca A, Roggini M, Bernardini L, Pizzuti A (2020). A new case of SMABF2 diagnosed in stillbirth expands the prenatal presentation and mutational spectrum of *ASCC1*. *Am J Med Genet A* 182(3): 508-512.

105. Monies D, Abouelhoda M, Assoum M, Moghrabi N, Rafiullah R, Almontashiri N, Alowain M, Alzaidan H, Alsayed M, Subhani S, Cupler E, Faden M, Alhashem A, Qari A, Chedrawi A, Aldhalaan H, Kurdi W, Khan S, Rahbeeni Z, Alotaibi M, Goljan E, Elbardisy H, ElKalioby M, Shah Z, Alruwaili H, Jaafar A, Albar R, Akilan A, Tayeb H, Tahir A, Fawzy M, Nasr M, Makki S, Alfaifi A, Akleh H, Yamani S, Bubshait D, Mahnashi M, Basha T, Alsagheir A, Abu Khaled M, Alsaleem K, Almugbel M, Badawi M, Bashiri F, Bohlega S, Sulaiman R, Tous E, Ahmed S, Algoufi T, Al-Mousa H, Alaki E, Alhumaidi S, Alghamdi H, Alghamdi M, Sahly A, Nahrir S, Al-Ahmari A, Alkuraya H, Almehaidib A, Abanemai M, Alsohaibaini F, Alsaud B, Arnaout R, Abdel-Salam GMH, Aldhekri H, AlKhater S, Alqadi K, Alsabban E, Alshareef T, Awartani K, Banjar H, Alsahan N, Abosoudah I, Alashwal A, Aldekhail W, Alhajjar S, Al-Mayouf S, Alsemari A, Alshuaibi W, Altala S, Altalhi A, Baz S, Hamad M, Abalkhail T, Alenazi B, Alkaff A, Almohareb F, Al Mutairi F, Alsaleh M, Alsonbul A, Alzelaye S, Bahzad S, Manee AB, Jarrad O, Meriki N, Albeirouti B, Alqasmi A, AlBalwi M, Makhseed N, Hassan S, Salih I, Salih MA, Shaheen M, Sermin S, Shahrukh S, Hashmi S, Shawli A, Tajuddin A, Tamim A, Alnahari A, Ghemlas I, Hussein M, Wali S, Murad H, Meyer BF, Alkuraya FS (2019). Lessons learned from large-scale, first-tier clinical exome sequencing in a highly consanguineous population. *Am J Hum Genet* 104(6): 1182-1201.
106. Monteiro FP, Curry CJ, Hevner R, Elliott S, Fisher JH, Turocy J, Dobyns WB, Costa LA, Freitas E, Kitajima JP, Kok F (2020). Biallelic loss of function variants in *ATP1A2* cause hydrops fetalis, microcephaly, arthrogryposis and extensive cortical malformations. *Eur J Med Genet* 63(1): 103624.
107. Sekiguchi K, Maeda T, Suenobu S, Kunisaki N, Shimizu M, Kiyota K, Handa YS, Akiyoshi K, Korematsu S, Aoki Y, Matsubara Y, Izumi T (2013). A transient myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome and a germline *BRAF* mutation. *Am J Med Genet A* 161A(10): 2600-2603.
108. Terry J, Rauen KA, Nowaczyk MJ (2014). Fetal autopsy findings of cardiofaciocutaneous syndrome with a unique *BRAF* mutation. *Pediatr Dev Pathol* 17(1): 59-63.
109. Mackie DI, Al Mutairi F, Davis RB, Kechele DO, Nielsen NR, Snyder JC, Caron MG, Kliman HJ, Berg JS, Simms J, Poyner DR, Caron KM (2018). *hCALCRL*

- mutation causes autosomal recessive nonimmune hydrops fetalis with lymphatic dysplasia. *J Exp Med* 215(9): 2339-2353.
110. Laccone F, Schoner K, Krabichler B, Kluge B, Schwerdtfeger R, Schulze B, Zschocke J, Rehder H (2011). Desbuquois dysplasia type I and fetal hydrops due to novel mutations in the CANT1 gene. *Eur J Hum Genet* 19(11): 1133-1137.
 111. Bulow L, Lissewski C, Bressel R, Rauch A, Stark Z, Zenker M, Bartsch O (2015). Hydrops, fetal pleural effusions and chylothorax in three patients with CBL mutations. *Am J Med Genet A* 167A(2): 394-399.
 112. Connell F, Kalidas K, Ostergaard P, Brice G, Homfray T, Roberts L, Bunyan DJ, Mitton S, Mansour S, Mortimer P, Jeffery S, Lymphoedema C (2010). Linkage and sequence analysis indicate that CCBE1 is mutated in recessively inherited generalised lymphatic dysplasia. *Hum Genet* 127(2): 231-241.
 113. Melber DJ, Andreassen TS, Mao R, Tvrdik T, Miller CE, Moore TR, Woelkers DA, Lamale-Smith LM (2018). Novel mutation in CCBE 1 as a cause of recurrent hydrops fetalis from Hennekam lymphangiectasia-lymphedema syndrome-1. *Clin Case Rep* 6(12): 2358-2363.
 114. Shah S, Conlin LK, Gomez L, Aagenaes O, Eiklid K, Knisely AS, Mennuti MT, Matthews RP, Spinner NB, Bull LN (2013). CCBE1 mutation in two siblings, one manifesting lymphedema-cholestasis syndrome, and the other, fetal hydrops. *PLoS One* 8(9): e75770.
 115. Chin HL, Lee LY, Koh PL (2019). Fetal-onset congenital dyserythropoietic anemia type 1 due to a novel mutation with severe iron overload and severe cholestatic liver disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 41(1): e51-e53.
 116. Liu S, Liu YN, Zhen L, Li DZ (2018). Fetal-onset congenital dyserythropoietic anemia type 1 due to CDAN1 mutations presenting as hydrops fetalis. *Pediatr Hematol Oncol* 35(7-8): 447-450.
 117. Takenouchi T, Okamoto N, Ida S, Uehara T, Kosaki K (2016). Further evidence of a mutation in CDC42 as a cause of a recognizable syndromic form of thrombocytopenia. *Am J Med Genet A* 170A(4): 852-855.
 118. Motokawa M, Watanabe S, Nakatomi A, Kondoh T, Matsumoto T, Morifuji K, Sawada H, Nishimura T, Nunoi H, Yoshiura KI, Moriuchi H, Dateki S (2018). A hot-spot mutation in CDC42 (p.Tyr64Cys) and novel phenotypes in the third patient with Takenouchi-Kosaki syndrome. *J Hum Genet* 63(3): 387-390.

119. Shamseldin HE, Swaid A, Alkuraya FS (2013). Lifting the lid on unborn lethal Mendelian phenotypes through exome sequencing. *Genet Med* 15(4): 307-309.
120. Shamseldin HE, Tulbah M, Kurdi W, Nemer M, Alsahan N, Al Mardawi E, Khalifa O, Hashem A, Kurdi A, Babay Z, Bubshait DK, Ibrahim N, Abdulwahab F, Rahbeeni Z, Hashem M, Alkuraya FS (2015). Identification of embryonic lethal genes in humans by autozygosity mapping and exome sequencing in consanguineous families. *Genome Biol* 16: 116.
121. Michalk A, Stricker S, Becker J, Rupps R, Pantzar T, Miertus J, Botta G, Naretto VG, Janetzki C, Yaqoob N, Ott CE, Seelow D, Wieczorek D, Fiebig B, Wirth B, Hoopmann M, Walther M, Korber F, Blankenburg M, Mundlos S, Heller R, Hoffmann K (2008). Acetylcholine receptor pathway mutations explain various fetal akinesia deformation sequence disorders. *Am J Hum Genet* 82(2): 464-476.
122. Morgan NV, Brueton LA, Cox P, Grealley MT, Tolmie J, Pasha S, Aligianis IA, van Bokhoven H, Marton T, Al-Gazali L, Morton JE, Oley C, Johnson CA, Trembath RC, Brunner HG, Maher ER (2006). Mutations in the embryonal subunit of the acetylcholine receptor (CHRNA7) cause lethal and Escobar variants of multiple Pterygium Syndrome. *Am J Hum Genet* 79(2): 390-395.
123. Forzano F, Lituania M, Viassolo A, Superti-Furga V, Wildhardt G, Zabel B, Faravelli F (2007). A familial case of achondrogenesis type II caused by a dominant COL2A1 mutation and "patchy" expression in the mosaic father. *Am J Med Genet A* 143A(23): 2815-2820.
124. Yates CL, Monaghan KG, Copenheaver D, Retterer K, Scuffins J, Kucera CR, Friedman B, Richard G, Juusola J (2017). Whole-exome sequencing on deceased fetuses with ultrasound anomalies: expanding our knowledge of genetic disease during fetal development. *Genet Med* 19(10): 1171-1178.
125. Caciotti A, Catarzi S, Tonin R, Lugli L, Perez CR, Michelakakis H, Mavridou I, Donati MA, Guerrini R, d'Azzo A, Morrone A (2013). Galactosialidosis: review and analysis of CTSA gene mutations. *Orphanet J Rare Dis* 8: 114.
126. Hossain MA, Higaki K, Shinpo M, Nanba E, Suzuki Y, Ozono K, Sakai N (2016). Chemical chaperone treatment for galactosialidosis: Effect of NOEV on beta-galactosidase activities in fibroblasts. *Brain Dev* 38(2): 175-180.

127. Son SB, Chun JM, Kim KA, Ko SY, Lee YK, Shin SM (2012). A case report on 30-week premature twin babies with congenital myotonic dystrophy conceived by in vitro fertilization. *J Korean Med Sci* 27(10): 1269-1272.
128. Stratton RF, Patterson RM (1993). DNA confirmation of congenital myotonic dystrophy in non-immune hydrops fetalis. *Prenat Diagn* 13(11): 1027-1030.
129. Yee C, Choi SJ, Oh SY, Ki CS, Roh CR, Kim JH (2017). Clinical characteristics of pregnancies complicated by congenital myotonic dystrophy. *Obstet Gynecol Sci* 60(4): 323-328.
130. Vogt J, Morgan NV, Marton T, Maxwell S, Harrison BJ, Beeson D, Maher ER (2009). Germline mutation in DOK7 associated with fetal akinesia deformation sequence. *J Med Genet* 46(5): 338-340.
131. Radhakrishnan P, Shukla A, Girisha KM, Nayak SS (2020). Biallelic c.1263dupC in DOK7 results in fetal akinesia deformation sequence. *Am J Med Genet A* 182(4): 804-807.
132. Badiner N, Taylor SP, Forlenza K, Lachman RS, University of Washington Center for Mendelian G, Bamshad M, Nickerson D, Cohn DH, Krakow D (2017). Mutations in DYNC2H1, the cytoplasmic dynein 2, heavy chain 1 motor protein gene, cause short-rib polydactyly type I, Saldino-Noonan type. *Clin Genet* 92(2): 158-165.
133. Brunod I, Tosello B, Hassid S, Gire C, Thomachot L, Panuel M (2018). Generalized arterial calcification of infancy with a novel ENPP1 mutation: a case report. *BMC Pediatr* 18(1): 217.
134. Reitter A, Fischer D, Buxmann H, Nitschke Y, Rutsch F, Mottok A, Hansmann ML, Harms E, Louwen F, Schlosser R (2009). Fetal hydrops, hyperechogenic arteries and pathological doppler findings at 29 weeks: prenatal presentation of generalized arterial calcification of infancy - a novel mutation in ENPP1. *Fetal Diagn Ther* 25(2): 264-268.
135. Martin-Almedina S, Martinez-Corral I, Holdhus R, Vicente A, Fotiou E, Lin S, Petersen K, Simpson MA, Hoischen A, Gilissen C, Jeffery H, Atton G, Karapouliou C, Brice G, Gordon K, Wiseman JW, Wedin M, Rockson SG, Jeffery S, Mortimer PS, Snyder MP, Berland S, Mansour S, Makinen T, Ostergaard P (2016). EPHB4 kinase-inactivating mutations cause autosomal dominant lymphatic-related hydrops fetalis. *J Clin Invest* 126(8): 3080-3088.

136. Li D, Wenger TL, Seiler C, March ME, Gutierrez-Uzquiza A, Kao C, Bhoj E, Tian L, Rosenbach M, Liu Y, Robinson N, Behr M, Chiavacci R, Hou C, Wang T, Bakay M, Pellegrino da Silva R, Perkins JA, Sleiman P, Levine MA, Hicks PJ, Itkin M, Dori Y, Hakonarson H (2018). Pathogenic variant in EPHB4 results in central conducting lymphatic anomaly. *Hum Mol Genet* 27(18): 3233-3245.
137. Quinlan-Jones E, Lord J, Williams D, Hamilton S, Marton T, Eberhardt RY, Rinck G, Prigmore E, Keelagher R, McMullan DJ, Maher ER, Hurles ME, Kilby MD (2019). Molecular autopsy by trio exome sequencing (ES) and postmortem examination in fetuses and neonates with prenatally identified structural anomalies. *Genet Med* 21(5): 1065-1073.
138. Ghalamkarpour A, Morlot S, Raas-Rothschild A, Utkus A, Mulliken JB, Boon LM, Vikkula M (2006). Hereditary lymphedema type I associated with VEGFR3 mutation: the first de novo case and atypical presentations. *Clin Genet* 70(4): 330-335.
139. Yang YS, Ma GC, Shih JC, Chen CP, Chou CH, Yeh KT, Kuo SJ, Chen TH, Hwu WL, Lee TH, Chen M (2012). Experimental treatment of bilateral fetal chylothorax using in-utero pleurodesis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 39(1): 56-62.
140. Daniel-Spiegel E, Ghalamkarpour A, Spiegel R, Weiner E, Vikkula M, Shalev E, Shalev SA (2005). Hydrops fetalis: an unusual prenatal presentation of hereditary congenital lymphedema. *Prenat Diagn* 25(11): 1015-1018.
141. Boudon E, Levy Y, Abossolo T, Cartault F, Brouillard P, Vikkula M, Kieffer-Traversier M, Ramful D, Alessandri JL (2015). Antenatal presentation of hereditary lymphedema type I. *Eur J Med Genet* 58(6-7): 329-331.
142. Ghalamkarpour A, Debauche C, Haan E, Van Regemorter N, Sznajder Y, Thomas D, Revencu N, Gillerot Y, Boon LM, Vikkula M (2009). Sporadic in utero generalized edema caused by mutations in the lymphangiogenic genes VEGFR3 and FOXC2. *J Pediatr* 155(1): 90-93.
143. Vora NL, Gilmore K, Brandt A, Gustafson C, Strande N, Ramkissoo L, Hardisty E, Foreman AKM, Wilhelmsen K, Owen P, Weck KE, Berg JS, Powell CM, Powell BC (2020). An approach to integrating exome sequencing for fetal structural anomalies into clinical practice. *Genet Med* 22(5): 954-961.
144. Petrovski S, Aggarwal V, Giordano JL, Stosic M, Wou K, Bier L, Spiegel E, Brennan K, Stong N, Jobanputra V, Ren Z, Zhu X, Mebane C, Nahum O, Wang Q,

- Kamalakaran S, Malone C, Anyane-Yeboa K, Miller R, Levy B, Goldstein DB, Wapner RJ (2019). Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study. *Lancet* 393(10173): 758-767.
145. Zhou X, Zhou J, Wei X, Yao R, Yang Y, Deng L, Zou G, Wang X, Yang Y, Duan T, Wang J, Sun L (2021). Value of exome sequencing in diagnosis and management of recurrent Non-Immune Hydrops Fetalis: A Retrospective Analysis. *Front Genet* 12: 616392.
 146. de Bruyn G, Casaer A, Devolder K, Van Acker G, Logghe H, Devriendt K, Cornette L (2012). Hydrops fetalis and pulmonary lymphangiectasia due to FOXC2 mutation: an autosomal dominant hereditary lymphedema syndrome with variable expression. *Eur J Pediatr* 171(3): 447-450.
 147. Xavier-da-Silva MM, Moreira-Filho CA, Suzuki E, Patricio F, Coutinho A, Carneiro-Sampaio M (2015). Fetal-onset IPEX: report of two families and review of literature. *Clin Immunol* 156(2): 131-140.
 148. Louie RJ, Tan QK, Gilner JB, Rogers RC, Younge N, Wechsler SB, McDonald MT, Gordon B, Saski CA, Jones JR, Chapman SJ, Stevenson RE, Sleasman JW, Friez MJ (2017). Novel pathogenic variants in FOXP3 in fetuses with echogenic bowel and skin desquamation identified by ultrasound. *Am J Med Genet A* 173(5): 1219-1225.
 149. Shehab O, Tester DJ, Ackerman NC, Cowchock FS, Ackerman MJ (2017). Whole genome sequencing identifies etiology of recurrent male intrauterine fetal death. *Prenat Diagn* 37(10): 1040-1045.
 150. Rae W, Gao Y, Bunyan D, Holden S, Gilmour K, Patel S, Wellesley D, Williams A (2015). A novel FOXP3 mutation causing fetal akinesia and recurrent male miscarriages. *Clin Immunol* 161(2): 284-285.
 151. Vasiljevic A, Poreau B, Bouvier R, Lachaux A, Arnoult C, Faure J, Cordier MP, Ray PF (2015). Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome and recurrent intrauterine fetal death. *Lancet* 385(9982): 2120.
 152. Lee K, Fisher R, Quinonez SC, Ahmad A (2019). Infantile onset Pompe disease presenting with Non-Immune Hydrops Fetalis. *Mol Genet Metab Rep* 21: 100503.
 153. Whybra C, Mengel E, Russo A, Bahlmann F, Kampmann C, Beck M, Eich E, Mildemberger E (2012). Lysosomal storage disorder in Non-Immunological Hydrops Fetalis (NIHF): more common than assumed? Report of four cases with transient NIHF and a review of the literature. *Orphanet J Rare Dis* 7: 86.

154. Bouchghoul H, Quelin C, Loget P, Encha-Razavi F, Senat MV, Maheut L, Galimand J, Collardeau-Frachon S, Da Costa L, Martinovic J (2018). Fetal cerebral hemorrhage due to X-linked GATA1 gene mutation. *Prenat Diagn* 38(10): 772-778.
155. Ostergaard P, Simpson MA, Connell FC, Steward CG, Brice G, Woollard WJ, Dafou D, Kilo T, Smithson S, Lunt P, Murday VA, Hodgson S, Keenan R, Pilz DT, Martinez-Corral I, Makinen T, Mortimer PS, Jeffery S, Trembath RC, Mansour S (2011). Mutations in GATA2 cause primary lymphedema associated with a predisposition to acute myeloid leukemia (Emberger syndrome). *Nat Genet* 43(10): 929-931.
156. Hempel M, Casar Tena T, Diehl T, Burczyk MS, Strom TM, Kubisch C, Philipp M, Lessel D (2017). Compound heterozygous GATA5 mutations in a girl with hydrops fetalis, congenital heart defects and genital anomalies. *Hum Genet* 136(3): 339-346.
157. Beaujot J, Joriot S, Dieux A, Vaast P, Franquet-Ansart H, Valat AS, Deruelle P, Holder-Espinasse M, Devisme L (2013). Phenotypic variability of prenatally presenting Gaucher's disease. *Prenat Diagn* 33(10): 1004-1006.
158. Sudrie-Arnaud B, Marguet F, Patrier S, Martinovic J, Louillet F, Broux F, Charbonnier F, Dranguet H, Coutant S, Vezain M, Lanos R, Tebani A, Fuller M, Lamari F, Chambon P, Brehin AC, Trestard L, Tournier I, Marret S, Verspyck E, Laquerriere A, Bekri S (2018). Metabolic causes of nonimmune hydrops fetalis: A next-generation sequencing panel as a first-line investigation. *Clin Chim Acta* 481: 1-8.
159. BenHamida E, Ayadi I, Ouertani I, Chammem M, Bezzine A, BenTmame R, Attia L, Mrad R, Marrakchi Z (2015). Perinatal-lethal Gaucher disease presenting as hydrops fetalis. *Pan Afr Med J* 21: 110.
160. Bruno C, van Diggelen OP, Cassandrini D, Gimpelev M, Giuffre B, Donati MA, Introvini P, Alegria A, Assereto S, Morandi L, Mora M, Tonoli E, Mascelli S, Traverso M, Pasquini E, Bado M, Vilarinho L, van Noort G, Mosca F, DiMauro S, Zara F, Minetti C (2004). Clinical and genetic heterogeneity of branching enzyme deficiency (glycogenosis type IV). *Neurology* 63(6): 1053-1058.
161. Aukema SM, Ten Brinke GA, Timens W, Vos YJ, Accord RE, Kraft KE, Santing MJ, Morssink LP, Streefland E, van Diemen CC, Vrijlandt EJ, Hulzebos CV, Kerstjens-Frederikse WS (2020). A homozygous variant in growth and

- differentiation factor 2 (GDF2) may cause lymphatic dysplasia with hydrothorax and nonimmune hydrops fetalis. *Am J Med Genet A* 182(9): 2152-2160.
162. Moreno CA, Kanazawa T, Barini R, Nomura ML, Andrade KC, Gomes CP, Heinrich JK, Giugliani R, Burin M, Cavalcanti DP (2013). Non-Immune Hydrops Fetalis: a prospective study of 53 cases. *Am J Med Genet A* 161A(12): 3078-3086.
 163. Nousiainen HO, Kestila M, Pakkasjarvi N, Honkala H, Kuure S, Tallila J, Vuopala K, Ignatius J, Herva R, Peltonen L (2008). Mutations in mRNA export mediator GLE1 result in a fetal motoneuron disease. *Nat Genet* 40(2): 155-157.
 164. Lei TY, Fu F, Li R, Wang D, Wang RY, Jing XY, Deng Q, Li ZZ, Liu ZQ, Yang X, Li DZ, Liao C (2017). Whole-exome sequencing for prenatal diagnosis of fetuses with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Nephrol Dial Transplant* 32(10): 1665-1675.
 165. Vogel MJ, van Zon P, Brueton L, Gijzen M, van Tuil MC, Cox P, Schanze D, Kariminejad A, Ghaderi-Sohi S, Blair E, Zenker M, Scambler PJ, Ploos van Amstel HK, van Haelst MM (2012). Mutations in GRIP1 cause Fraser syndrome. *J Med Genet* 49(5): 303-306.
 166. Mosallanejad A, Alaei M, Ghaffari SR, Rafati M, Saneifard H (2020). Non-progressive Nonimmune Hydrops Fetalis Caused by a Novel Mutation in GUSB Gene. *Iran J Child Neurol* 14(2): 101-106.
 167. Hizem S, Elaribi Y, Ben Slama S, Dimassi K, Jilani H, Rejeb I, Sebai M, Bekri S, Ben Jemaa L (2021). Mucopolysaccharidosis type VII as a cause of recurrent Non-Immune Hydrops Fetalis: the first tunisian case confirmed by next-generation sequencing. *Clin Chim Acta* 513: 68-70.
 168. Furlan F, Rovelli A, Rigoldi M, Filocamo M, Tappino B, Friday D, Gasperini S, Mariani S, Izzi C, Bondioni MP, Gellera C, Venerando A, Villa N, Del Carmen Rodriguez Perez M, Pavan F, Biondi A, Parini R (2018). A new case report of severe mucopolysaccharidosis type VII: diagnosis, treatment with haematopoietic cell transplantation and prenatal diagnosis in a second pregnancy. *Ital J Pediatr* 44(Suppl 2): 128.
 169. Ojala T, Nupponen I, Saloranta C, Sarkola T, Sekar P, Breilin A, Tyni T (2015). Fetal left ventricular noncompaction cardiomyopathy and fatal outcome due to complete deficiency of mitochondrial trifunctional protein. *Eur J Pediatr* 174(12): 1689-1692.

170. Nainggolan IM, Harahap A, Setianingsih I (2010). Hydrops fetalis associated with homozygosity for Hb Adana [$\alpha 59(\text{E8})\text{Gly} \rightarrow \text{Asp} (\alpha 2)$]. *Hemoglobin* 34(4): 394-401.
171. Lin M, Zhong TY, Chen YG, Wang JZ, Wu JR, Lin F, Tong X, Yang HT, Hu XM, Hu R, Zhan XF, Yang H, Luo ZY, Li WY, Yang LY (2014). Molecular epidemiological characterization and health burden of thalassemia in Jiangxi Province, P. R. China. *PLoS One* 9(7): e101505.
172. Lin AE, O'Brien B, Demmer LA, Almeda KK, Blanco CL, Glasow PF, Berul CI, Hamilton R, Micheil Innes A, Lauzon JL, Sol-Church K, Gripp KW (2009). Prenatal features of Costello syndrome: ultrasonographic findings and atrial tachycardia. *Prenat Diagn* 29(7): 682-690.
173. Lorenz S, Petersen C, Kordass U, Seidel H, Zenker M, Kutsche K (2012). Two cases with severe lethal course of Costello syndrome associated with HRAS p.G12C and p.G12D. *Eur J Med Genet* 55(11): 615-619.
174. Stuurman KE, Joosten M, van der Burgt I, Elting M, Yntema HG, Meijers-Heijboer H, Rinne T (2019). Prenatal ultrasound findings of rasopathies in a cohort of 424 fetuses: update on genetic testing in the NGS era. *J Med Genet* 56(10): 654-661.
175. Gripp KW, Bifeld E, Stabley DL, Hopkins E, Meien S, Vinette K, Sol-Church K, Rosenberger G (2012). A novel HRAS substitution (c.266C>G; p.S89C) resulting in decreased downstream signaling suggests a new dimension of RAS pathway dysregulation in human development. *Am J Med Genet A* 158A(9): 2106-2118.
176. Silveira KC, Moreno CA, Cavalcanti DP (2017). Beemer-Langer syndrome is a ciliopathy due to biallelic mutations in IFT122. *Am J Med Genet A* 173(5): 1186-1189.
177. Goldman FD, Gurel Z, Al-Zubeidi D, Fried AJ, Icardi M, Song C, Dovat S (2012). Congenital pancytopenia and absence of B lymphocytes in a neonate with a mutation in the Ikaros gene. *Pediatr Blood Cancer* 58(4): 591-597.
178. Feist C, Holden P, Fitzgerald J (2016). Novel compound heterozygous mutations in inositol polyphosphate phosphatase-like 1 in a family with severe opsismodysplasia. *Clin Dysmorphol* 25(4): 152-155.
179. Ma GC, Liu CS, Chang SP, Yeh KT, Ke YY, Chen TH, Wang BB, Kuo SJ, Shih JC, Chen M (2008). A recurrent ITGA9 missense mutation in human fetuses with severe

- chylothorax: possible correlation with poor response to fetal therapy. *Prenat Diagn* 28(11): 1057-1063.
180. Abiramalatha T, Johnson T, Balakrishnan U, Amboiram P (2019). Novel clinical phenotype of generalised lymphatic dysplasia in a neonate: a missed diagnosis. *BMJ Case Rep* 12(8).
 181. Alby C, Piquand K, Huber C, Megarbane A, Ichkou A, Legendre M, Pelluard F, Encha-Ravazi F, Abi-Tayeh G, Bessieres B, El Chehadeh-Djebbar S, Laurent N, Faivre L, Sztriha L, Zombor M, Szabo H, Failler M, Garfa-Traore M, Bole C, Nitschke P, Nizon M, Elkhartoufi N, Clerget-Darpoux F, Munnich A, Lyonnet S, Vekemans M, Saunier S, Cormier-Daire V, Attie-Bitach T, Thomas S (2015). Mutations in KIAA0586 cause lethal ciliopathies ranging from a hydroletharus phenotype to short-rib polydactyly syndrome. *Am J Hum Genet* 97(2): 311-318.
 182. Gueneau L, Fish RJ, Shamseldin HE, Voisin N, Tran Mau-Them F, Preiksaitiene E, Monroe GR, Lai A, Putoux A, Allias F, Ambusaidi Q, Ambrozaityte L, Cimbalistiene L, Delafontaine J, Guex N, Hashem M, Kurdi W, Jamuar SS, Ying LJ, Bonnard C, Pippucci T, Pradervand S, Roeichert B, van Hasselt PM, Wiederkehr M, Wright CF, Study DDD, Xenarios I, van Haaften G, Shaw-Smith C, Schindewolf EM, Neerman-Arbez M, Sanlaville D, Lesca G, Guibaud L, Reversade B, Chelly J, Kucinkas V, Alkuraya FS, Reymond A (2018). KIAA1109 variants are associated with a severe disorder of brain development and arthrogryposis. *Am J Hum Genet* 102(1): 116-132.
 183. El-Dessouky SH, Issa MY, Aboulghar MM, Gaafar HM, Elarab AE, Ateya MI, Omar HH, Beetz C, Zaki MS (2020). Prenatal delineation of a distinct lethal fetal syndrome caused by a homozygous truncating KIDINS220 variant. *Am J Med Genet A* 182(12): 2867-2876.
 184. Kawase K, Nishino I, Sugimoto M, Togawa T, Sugiura T, Kouwaki M, Kibe T, Koyama N, Yokochi K (2015). Nemaline myopathy with KLHL40 mutation presenting as congenital totally locked-in state. *Brain Dev* 37(9): 887-890.
 185. Magor GW, Tallack MR, Gillinder KR, Bell CC, McCallum N, Williams B, Perkins AC (2015). KLF1-null neonates display hydrops fetalis and a deranged erythroid transcriptome. *Blood* 125(15): 2405-2417.
 186. Lee HH, Mak AS, Kou KO, Poon CF, Wong WS, Chiu KH, Au PK, Chan KY, Kan AS, Tang MH, Leung KY (2016). An unusual Hydrops Fetalis associated with

- compound heterozygosity for Kruppel-like Factor 1 mutations. *Hemoglobin* 40(6): 431-434.
187. Ravindranath Y, Johnson RM, Goyette G, Buck S, Gadgeel M, Gallagher PG (2018). KLF1 E325K-associated congenital dyserythropoietic anemia type IV: insights into the variable clinical severity. *J Pediatr Hematol Oncol* 40(6): e405-e409.
 188. Arnaud L, Saison C, Helias V, Lucien N, Steschenko D, Giarratana MC, Prehu C, Foliguet B, Montout L, de Brevern AG, Francina A, Ripoche P, Fenneteau O, Da Costa L, Peyrard T, Coghlan G, Illum N, Birgens H, Tamary H, Iolascon A, Delaunay J, Tchernia G, Cartron JP (2010). A dominant mutation in the gene encoding the erythroid transcription factor KLF1 causes a congenital dyserythropoietic anemia. *Am J Hum Genet* 87(5): 721-727.
 189. Lord J, McMullan DJ, Eberhardt RY, Rinck G, Hamilton SJ, Quinlan-Jones E, Prigmore E, Keelagher R, Best SK, Carey GK, Mellis R, Robart S, Berry IR, Chandler KE, Cilliers D, Cresswell L, Edwards SL, Gardiner C, Henderson A, Holden ST, Homfray T, Lester T, Lewis RA, Newbury-Ecob R, Prescott K, Quarrell OW, Ramsden SC, Roberts E, Tapon D, Tooley MJ, Vasudevan PC, Weber AP, Wellesley DG, Westwood P, White H, Parker M, Williams D, Jenkins L, Scott RH, Kilby MD, Chitty LS, Hurles ME, Maher ER, Prenatal Assessment of G, Exomes C (2019). Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study. *Lancet* 393(10173): 747-757.
 190. Houweling AC, de Mooij YM, van der Burgt I, Yntema HG, Lachmeijer AM, Go AT (2010). Prenatal detection of Noonan syndrome by mutation analysis of the PTPN11 and the KRAS genes. *Prenat Diagn* 30(3): 284-286.
 191. Mark K, Reis A, Zenker M (2006). Prenatal findings in four consecutive pregnancies with fetal Pierson syndrome, a newly defined congenital nephrosis syndrome. *Prenat Diagn* 26(3): 262-266.
 192. Riley LG, Rudinger-Thirion J, Frugier M, Wilson M, Luig M, Alahakoon TI, Nixon CY, Kirk EP, Roscioli T, Lunke S, Stark Z, Wierenga KJ, Palle S, Walsh M, Higgs E, Arbuckle S, Thirukeswaran S, Compton AG, Thorburn DR, Christodoulou J (2020). The expanding LARS2 phenotypic spectrum: HLASA, Perrault syndrome with leukodystrophy, and mitochondrial myopathy. *Hum Mutat* 41(8): 1425-1434.
 193. Riley LG, Rudinger-Thirion J, Schmitz-Abe K, Thorburn DR, Davis RL, Teo J, Arbuckle S, Cooper ST, Campagna DR, Frugier M, Markianos K, Sue CM, Fleming

- MD, Christodoulou J (2016). LARS2 variants associated with Hydrops, Lactic Acidosis, Sideroblastic Anemia, and Multisystem Failure. *JIMD Rep* 28: 49-57.
194. Wehrle A, Witkos TM, Schneider JC, Hoppmann A, Behringer S, Kottgen A, Elting M, Spranger J, Lowe M, Lausch E (2018). A common pathomechanism in GMAP-210- and LBR-related diseases. *JCI Insight* 3(23).
 195. Konstantinidou A, Karadimas C, Waterham HR, Superti-Furga A, Kaminopetros P, Grigoriadou M, Kokotas H, Agrogiannis G, Giannoulia-Karantana A, Patsouris E, Petersen MB (2008). Pathologic, radiographic and molecular findings in three fetuses diagnosed with HEM/Greenberg skeletal dysplasia. *Prenat Diagn* 28(4): 309-312.
 196. Michael E, Hedberg-Oldfors C, Wilmar P, Visuttijai K, Oldfors A, Darin N (2019). Long-term follow-up and characteristic pathological findings in severe nemaline myopathy due to LMOD3 mutations. *Neuromuscul Disord* 29(2): 108-113.
 197. Gos M, Smigiel R, Kaczan T, Landowska A, Abramowicz A, Sasiadek M, Bal J (2018). MAP2K2 mutation as a cause of cardio-facio-cutaneous syndrome in an infant with a severe and fatal course of the disease. *Am J Med Genet A* 176(7): 1670-1674.
 198. Thiffault I, Farrow E, Zellmer L, Berrios C, Miller N, Gibson M, Caylor R, Jenkins J, Faller D, Soden S, Saunders C (2019). Clinical genome sequencing in an unbiased pediatric cohort. *Genet Med* 21(2): 303-310.
 199. Tanpaiboon P, Sloan JL, Callahan PF, McAreavey D, Hart PS, Lichter-Konecki U, Zand D, Venditti CP (2013). Noncompaction of the ventricular myocardium and hydrops fetalis in cobalamin C disease. *JIMD Rep* 10: 33-38.
 200. Stals KL, Wakeling M, Baptista J, Caswell R, Parrish A, Rankin J, Tysoe C, Jones G, Gunning AC, Lango Allen H, Bradley L, Brady AF, Carley H, Carmichael J, Castle B, Cilliers D, Cox H, Deshpande C, Dixit A, Eason J, Elmslie F, Fry AE, Fryer A, Holder M, Homfray T, Kivuva E, McKay V, Newbury-Ecob R, Parker M, Savarirayan R, Searle C, Shannon N, Shears D, Smithson S, Thomas E, Turnpenny PD, Varghese V, Vasudevan P, Wakeling E, Baple EL, Ellard S (2018). Diagnosis of lethal or prenatal-onset autosomal recessive disorders by parental exome sequencing. *Prenat Diagn* 38(1): 33-43.
 201. Wilbe M, Ekvall S, Eurenus K, Ericson K, Casar-Borota O, Klar J, Dahl N, Ameur A, Anneren G, Bondeson ML (2015). MuSK: a new target for lethal fetal akinesia deformation sequence (FADS). *J Med Genet* 52(3): 195-202.

202. Peciuliene S, Burnyte B, Gudaitiene R, Rusoniene S, Drazdiene N, Liubsys A, Utkus A (2016). Perinatal manifestation of mevalonate kinase deficiency and efficacy of anakinra. *Pediatr Rheumatol Online J* 14(1): 19.
203. Friederich MW, Erdogan AJ, Coughlin CR, 2nd, Elos MT, Jiang H, O'Rourke CP, Lovell MA, Wartchow E, Gowan K, Chatfield KC, Chick WS, Spector EB, Van Hove JLK, Riemer J (2017). Mutations in the accessory subunit NDUFB10 result in isolated complex I deficiency and illustrate the critical role of intermembrane space import for complex I holoenzyme assembly. *Hum Mol Genet* 26(4): 702-716.
204. Abdalla E, Ravenscroft G, Zayed L, Beecroft SJ, Laing NG (2017). Lethal multiple pterygium syndrome: A severe phenotype associated with a novel mutation in the nebulin gene. *Neuromuscul Disord* 27(6): 537-541.
205. Todd EJ, Yau KS, Ong R, Slee J, McGillivray G, Barnett CP, Haliloglu G, Talim B, Akcoren Z, Kariminejad A, Cairns A, Clarke NF, Freckmann ML, Romero NB, Williams D, Sewry CA, Colley A, Ryan MM, Kiraly-Borri C, Sivadorai P, Allcock RJ, Beeson D, Maxwell S, Davis MR, Laing NG, Ravenscroft G (2015). Next generation sequencing in a large cohort of patients presenting with neuromuscular disease before or at birth. *Orphanet J Rare Dis* 10: 148.
206. Casey JP, Brennan K, Scheidel N, McGettigan P, Lavin PT, Carter S, Ennis S, Dorkins H, Ghali N, Blacque OE, Mc Gee MM, Murphy H, Lynch SA (2016). Recessive NEK9 mutation causes a lethal skeletal dysplasia with evidence of cell cycle and ciliary defects. *Hum Mol Genet* 25(9): 1824-1835.
207. Loren DJ, Campos Y, d'Azzo A, Wyble L, Grange DK, Gilbert-Barness E, White FV, Hamvas A (2005). Sialidosis presenting as severe nonimmune fetal hydrops is associated with two novel mutations in lysosomal alpha-neuraminidase. *J Perinatol* 25(7): 491-494.
208. Sergi C, Penzel R, Uhl J, Zoubaa S, Dietrich H, Decker N, Rieger P, Kopitz J, Otto HF, Kiessling M, Cantz M (2001). Prenatal diagnosis and fetal pathology in a Turkish family harboring a novel nonsense mutation in the lysosomal alpha-N-acetyl-neuraminidase (sialidase) gene. *Hum Genet* 109(4): 421-428.
209. Lukacs M, Gilley J, Zhu Y, Orsomando G, Angeletti C, Liu J, Yang X, Park J, Hopkin RJ, Coleman MP, Zhai RG, Stottmann RW (2019). Severe biallelic loss-of-function mutations in nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase 2

- (NMNAT2) in two fetuses with fetal akinesia deformation sequence. *Exp Neurol* 320: 112961.
210. Surmeli-Onay O, Yakarisik S, Korkmaz A, Akcoren Z, Yuce A, Runz H, Stampfer M, Yurdakok M (2013). Prenatal-onset Niemann-Pick type C disease with nonimmune hydrops fetalis. *Pediatr Neonatol* 54(5): 344-347.
 211. Rohanizadegan M, Abdo SM, O'Donnell-Luria A, Mihalek I, Chen P, Sanders M, Leeman K, Cho M, Hung C, Bodamer O (2017). Utility of rapid whole-exome sequencing in the diagnosis of Niemann-Pick disease type C presenting with fetal hydrops and acute liver failure. *Cold Spring Harb Mol Case Stud* 3(6).
 212. Mason-Suares H, Toledo D, Gekas J, Lafferty KA, Meeks N, Pacheco MC, Sharpe D, Mullen TE, Lebo MS (2017). Juvenile myelomonocytic leukemia-associated variants are associated with neo-natal lethal Noonan syndrome. *Eur J Hum Genet* 25(4): 509-511.
 213. Altmuller F, Lissewski C, Bertola D, Flex E, Stark Z, Spranger S, Baynam G, Buscarilli M, Dyack S, Gillis J, Yntema HG, Pantaleoni F, van Loon RL, MacKay S, Mina K, Schanze I, Tan TY, Walsh M, White SM, Niewisch MR, Garcia-Minaur S, Plaza D, Ahmadian MR, Cave H, Tartaglia M, Zenker M (2017). Genotype and phenotype spectrum of NRAS germline variants. *Eur J Hum Genet* 25(7): 823-831.
 214. Mattos EP, Silva AA, Magalhaes JA, Leite JC, Leistner-Segal S, Gus-Kessler R, Perez JA, Vedolin LM, Torreblanca-Zanca A, Lapunzina P, Ruiz-Perez VL, Sanseverino MT (2015). Identification of a premature stop codon mutation in the PHGDH gene in severe Neu-Laxova syndrome-evidence for phenotypic variability. *Am J Med Genet A* 167(6): 1323-1329.
 215. Vora NL, Powell B, Brandt A, Strande N, Hardisty E, Gilmore K, Foreman AKM, Wilhelmsen K, Bizon C, Reilly J, Owen P, Powell CM, Skinner D, Rini C, Lysterly AD, Boggess KA, Weck K, Berg JS, Evans JP (2017). Prenatal exome sequencing in anomalous fetuses: new opportunities and challenges. *Genet Med* 19(11): 1207-1216.
 216. Fotiou E, Martin-Almedina S, Simpson MA, Lin S, Gordon K, Brice G, Atton G, Jeffery I, Rees DC, Mignot C, Vogt J, Homfray T, Snyder MP, Rockson SG, Jeffery S, Mortimer PS, Mansour S, Ostergaard P (2015). Novel mutations in PIEZO1 cause an autosomal recessive generalized lymphatic dysplasia with non-immune hydrops fetalis. *Nat Commun* 6: 8085.

217. Picard V, Guitton C, Thuret I, Rose C, Bendelac L, Ghazal K, Aguilar-Martinez P, Badens C, Barro C, Beneteau C, Berger C, Cathebras P, Deconinck E, Delaunay J, Durand JM, Firah N, Galacteros F, Godeau B, Jais X, de Jaureguiberry JP, Le Stradic C, Lifermann F, Maffre R, Morin G, Perrin J, Proulle V, Ruivard M, Toutain F, Lahary A, Garcon L (2019). Clinical and biological features in PIEZO1-hereditary xerocytosis and Gardos channelopathy: a retrospective series of 126 patients. *Haematologica* 104(8): 1554-1564.
218. Datkhaeva I, Arboleda VA, Senaratne TN, Nikpour G, Meyerson C, Geng Y, Afshar Y, Scibetta E, Goldstein J, Quintero-Rivera F, Crandall BF, Grody WW, Deignan J, Janzen C (2018). Identification of novel PIEZO1 variants using prenatal exome sequencing and correlation to ultrasound and autopsy findings of recurrent hydrops fetalis. *Am J Med Genet A* 176(12): 2829-2834.
219. Lukacs V, Mathur J, Mao R, Bayrak-Toydemir P, Procter M, Cahalan SM, Kim HJ, Bandell M, Longo N, Day RW, Stevenson DA, Patapoutian A, Krock BL (2015). Impaired PIEZO1 function in patients with a novel autosomal recessive congenital lymphatic dysplasia. *Nat Commun* 6: 8329.
220. Beneteau C, Thierry G, Blesson S, Le Vaillant C, Picard V, Bene MC, Eveillard M, Le Caignec C (2014). Recurrent mutation in the PIEZO1 gene in two families of hereditary xerocytosis with fetal hydrops. *Clin Genet* 85(3): 293-295.
221. Swarr DT, Khalek N, Treat J, Horton MA, Mirzaa GM, Riviere JB, Dobyns WB, Zackai EH (2013). Expanding the differential diagnosis of fetal hydrops: an unusual prenatal presentation of megalencephaly-capillary malformation syndrome. *Prenat Diagn* 33(10): 1010-1012.
222. Correa ARE, Endrakanti M, Naini K, Kabra M, Gupta N (2021). Hydrops fetalis in PKD1L1-related heterotaxy: Report of two foetuses and expanding the phenotypic and molecular spectrum. *Ann Hum Genet* 85(3-4): 138-145.
223. Demina A, Varughese KI, Barbot J, Forman L, Beutler E (1998). Six previously undescribed pyruvate kinase mutations causing enzyme deficiency. *Blood* 92(2): 647-652.
224. Perez-Duenas B, Garcia-Cazorla A, Pineda M, Poo P, Campistol J, Cusi V, Schollen E, Matthijs G, Grunewald S, Briones P, Perez-Cerda C, Artuch R, Vilaseca MA (2009). Long-term evolution of eight Spanish patients with CDG type Ia: typical and atypical manifestations. *Eur J Paediatr Neurol* 13(5): 444-451.

225. Leticee N, Bessieres-Grattagliano B, Dupre T, Vuillaumier-Barrot S, de Lonlay P, Razavi F, El Khartoufi N, Ville Y, Vekemans M, Bouvier R, Seta N, Attie-Bitach T (2010). Should PMM2-deficiency (CDG Ia) be searched in every case of unexplained hydrops fetalis? *Mol Genet Metab* 101(2-3): 253-257.
226. Wurm D, Loffler G, Lindinger A, Gortner L (2007). Congenital disorders of glycosylation type Ia as a cause of mirror syndrome. *J Perinatol* 27(12): 802-804.
227. van de Kamp JM, Lefeber DJ, Ruijter GJ, Steggerda SJ, den Hollander NS, Willems SM, Matthijs G, Poorthuis BJ, Wevers RA (2007). Congenital disorder of glycosylation type Ia presenting with hydrops fetalis. *J Med Genet* 44(4): 277-280.
228. Noelle V, Knuepfer M, Pulzer F, Schuster V, Siekmeyer W, Matthijs G, Vogtmann C (2005). Unusual presentation of congenital disorder of glycosylation type Ia: congenital persistent thrombocytopenia, hypertrophic cardiomyopathy and hydrops-like aspect due to marked peripheral oedema. *Eur J Pediatr* 164(4): 223-226.
229. Truin G, Guillard M, Lefeber DJ, Sykut-Cegielska J, Adamowicz M, Hoppenreijns E, Sengers RCA, Wevers RA, Morava E (2008). Pericardial and abdominal fluid accumulation in congenital disorder of glycosylation type Ia. *Mol Genet Metab* 94(4): 481-484.
230. Aronica E, van Kempen AA, van der Heide M, Poll-The BT, van Slooten HJ, Troost D, Rozemuller-Kwakkel JM (2005). Congenital disorder of glycosylation type Ia: a clinicopathological report of a newborn infant with cerebellar pathology. *Acta Neuropathol* 109(4): 433-442.
231. Iwatani S, Uemura K, Mizobuchi M, Yoshimoto S, Kawasaki K, Kosaka Y, Hori M, Yasumi T, Nakao H (2015). Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Presenting as Hydrops Fetalis. *AJP Rep* 5(1): e22-24.
232. Vermeulen MJ, de Haas V, Mulder MF, Flohil C, Fetter WP, van de Kamp JM (2009). Hydrops fetalis and early neonatal multiple organ failure in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Eur J Med Genet* 52(6): 417-420.
233. Gorla SR, Raja KR, Garg A, Barbouth DS, Rusconi PG (2018). Infantile Onset Hypertrophic Cardiomyopathy Secondary to PRKAG2 Gene Mutation is Associated with Poor Prognosis. *J Pediatr Genet* 7(4): 180-184.
234. Sun H, Hao X, Wang X, Zhou X, Zhang Y, Liu X, Han J, Gu X, Sun L, Zhao Y, Yi T, Zhang H, He Y (2020). Genetics and Clinical Features of Noncompaction Cardiomyopathy in the Fetal Population. *Front Cardiovasc Med* 7: 617561.

235. Laterre M, Bernard P, Vikkula M, Sznajder Y (2018). Improved diagnosis in nonimmune hydrops fetalis using a standardized algorithm. *Prenat Diagn* 38(5): 337-343.
236. Yoshida R, Miyata M, Nagai T, Yamazaki T, Ogata T (2004). A 3-bp deletion mutation of PTPN11 in an infant with severe Noonan syndrome including hydrops fetalis and juvenile myelomonocytic leukemia. *Am J Med Genet A* 128A(1): 63-66.
237. Lee KA, Williams B, Roza K, Ferguson H, David K, Eddleman K, Stone J, Edelmann L, Richard G, Gelb BD, Kornreich R (2009). PTPN11 analysis for the prenatal diagnosis of Noonan syndrome in fetuses with abnormal ultrasound findings. *Clin Genet* 75(2): 190-194.
238. Corsten-Janssen N, Bouman K, Diphooorn JCD, Scheper AJ, Kinds R, El Mecky J, Breet H, Verheij J, Suijkerbuijk R, Duin LK, Manten GTR, van Langen IM, Sijmons RH, Sikkema-Raddatz B, Westers H, van Diemen CC (2020). A prospective study on rapid exome sequencing as a diagnostic test for multiple congenital anomalies on fetal ultrasound. *Prenat Diagn* 40(10): 1300-1309.
239. Suárez-Cabezas S, Benito DN-d, Pérez-Segura P, Llorente-Otones L, Villar MJA, MJ MJR-M (2016). Neonatal Chylothorax and Dysmorphic Phenotype: a Noonan Syndrome? *iMedPub Journals* 2(2: 13).
240. Carrasco Salas P, Gomez-Molina G, Carreto-Alba P, Granell-Escobar R, Vazquez-Rico I, Leon-Justel A (2019). Noonan syndrome: severe phenotype and PTPN11 mutations. *Med Clin (Barc)* 152(2): 62-64.
241. Kneitel AW, Norby A, Vettraino I, Treadwell MC (2015). A novel mutation on RAF1 in association with fetal findings suggestive of Noonan Syndrome. *Fetal Pediatr Pathol* 34(6): 361-364.
242. Winters L, Van Hoof E, De Catte L, Van Den Bogaert K, de Ravel T, De Waele L, Corveleyn A, Breckpot J (2017). Massive parallel sequencing identifies RAPSN and PDHA1 mutations causing fetal akinesia deformation sequence. *Eur J Paediatr Neurol* 21(5): 745-753.
243. Lax NZ, Alston CL, Schon K, Park SM, Krishnakumar D, He L, Falkous G, Ogilvy-Stuart A, Lees C, King RH, Hargreaves IP, Brown GK, McFarland R, Dean AF, Taylor RW (2015). Neuropathologic characterization of pontocerebellar hypoplasia type 6 associated with cardiomyopathy and Hydrops Fetalis and severe multisystem

- respiratory chain deficiency due to novel RARS2 mutations. *J Neuropathol Exp Neurol* 74(7): 688-703.
244. Overcash RT, Gibu CK, Jones MC, Ramos GA, Andreasen TS (2015). Maternal and fetal capillary malformation-arteriovenous malformation (CM-AVM) due to a novel RASA1 mutation presenting with prenatal non-immune hydrops fetalis. *Am J Med Genet A* 167A(10): 2440-2443.
 245. Nicholson P, Holder SE, Carton J, Wakelin S (2019). The protean manifestations of RASA1 gene mutation. *Clin Exp Dermatol* 44(7): 818-821.
 246. Yaoita M, Niihori T, Mizuno S, Okamoto N, Hayashi S, Watanabe A, Yokozawa M, Suzumura H, Nakahara A, Nakano Y, Hokosaki T, Ohmori A, Sawada H, Migita O, Mima A, Lapunzina P, Santos-Simarro F, Garcia-Minaur S, Ogata T, Kawame H, Kurosawa K, Ohashi H, Inoue S, Matsubara Y, Kure S, Aoki Y (2016). Spectrum of mutations and genotype-phenotype analysis in Noonan syndrome patients with RIT1 mutations. *Hum Genet* 135(2): 209-222.
 247. Zhang J, Li J, Saucier JB, Feng Y, Jiang Y, Sinson J, McCombs AK, Schmitt ES, Peacock S, Chen S, Dai H, Ge X, Wang G, Shaw CA, Mei H, Breman A, Xia F, Yang Y, Purgason A, Pourpak A, Chen Z, Wang X, Wang Y, Kulkarni S, Choy KW, Wapner RJ, Van den Veyver IB, Beaudet A, Parmar S, Wong LJ, Eng CM (2019). Non-invasive prenatal sequencing for multiple Mendelian monogenic disorders using circulating cell-free fetal DNA. *Nat Med* 25(3): 439-447.
 248. Milosavljevic D, Overwater E, Tamminga S, de Boer K, Elting MW, van Hoorn ME, Rinne T, Houweling AC (2016). Two cases of RIT1 associated Noonan syndrome: further delineation of the clinical phenotype and review of the literature. *Am J Med Genet A* 170(7): 1874-1880.
 249. Wang R, Yoshida K, Toki T, Sawada T, Uechi T, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Kudo K, Kamimaki I, Kanezaki R, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Iribe Y, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Hara J, Goi K, Matsubara K, Koike K, Ishiguro A, Okamoto Y, Watanabe K, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Kenmochi N, Ogawa S, Ito E (2015). Loss of function mutations in RPL27 and RPS27 identified by whole-exome sequencing in Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol* 168(6): 854-864.
 250. Wlodarski MW, Da Costa L, O'Donohue MF, Gastou M, Karboul N, Montel-Lehry N, Hainmann I, Danda D, Szvetnik A, Pastor V, Paolini N, di Summa FM, Tamary

- H, Quider AA, Aspesi A, Houtkooper RH, Leblanc T, Niemeyer CM, Gleizes PE, MacInnes AW (2018). Recurring mutations in RPL15 are linked to hydrops fetalis and treatment independence in Diamond-Blackfan anemia. *Haematologica* 103(6): 949-958.
251. Da Costa L, Chanoz-Poulard G, Simansour M, French M, Bouvier R, Prieur F, Couque N, Delezoide AL, Leblanc T, Mohandas N, Touraine R (2013). First de novo mutation in RPS19 gene as the cause of hydrops fetalis in Diamond-Blackfan anemia. *Am J Hematol* 88(2): 160.
 252. McKie AB, Alsaedi A, Vogt J, Stuurman KE, Weiss MM, Shakeel H, Tee L, Morgan NV, Nikkels PG, van Haaften G, Park SM, van der Smagt JJ, Bugiani M, Maher ER (2014). Germline mutations in RYR1 are associated with foetal akinesia deformation sequence/lethal multiple pterygium syndrome. *Acta Neuropathol Commun* 2: 148.
 253. Kariminejad A, Ghaderi-Sohi S, Hossein-Nejad Nedai H, Varasteh V, Moslemi AR, Tajsharghi H (2016). Lethal multiple pterygium syndrome, the extreme end of the RYR1 spectrum. *BMC Musculoskelet Disord* 17: 109.
 254. Meier N, Bruder E, Filges I (2017). A novel homozygous splice-site mutation in RYR1 causes fetal hydrops and affects skeletal and smooth muscle development. *Prenat Diagn* 37(7): 720-724.
 255. Murphy LL, Moon-Grady AJ, Cuneo BF, Wakai RT, Yu S, Kunic JD, Benson DW, George AL, Jr. (2012). Developmentally regulated SCN5A splice variant potentiates dysfunction of a novel mutation associated with severe fetal arrhythmia. *Heart Rhythm* 9(4): 590-597.
 256. Sahlin E, Green A, Gustavsson P, Lieden A, Nordenskjold M, Papadogiannakis N, Pettersson K, Nilsson D, Jonasson J, Iwarsson E (2019). Identification of putative pathogenic single nucleotide variants (SNVs) in genes associated with heart disease in 290 cases of stillbirth. *PLoS One* 14(1): e0210017.
 257. Braun M, Wolfl M, Wiegering V, Winkler B, Ertan K, Bald R, Schwarz K, Heimpel H, Eylich M, Schlegel PG (2014). Successful treatment of an infant with CDA type II by intrauterine transfusions and postnatal stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 61(4): 743-745.
 258. Fermo E, Bianchi P, Notarangelo LD, Binda S, Vercellati C, Marcello AP, Boschetti C, Barcellini W, Zanella A (2010). CDAlI presenting as hydrops foetalis: molecular characterization of two cases. *Blood Cells Mol Dis* 45(1): 20-22.

259. Lovric S, Goncalves S, Gee HY, Oskouian B, Srinivas H, Choi WI, Shril S, Ashraf S, Tan W, Rao J, Airik M, Schapiro D, Braun DA, Sadowski CE, Widmeier E, Jobst-Schwan T, Schmidt JM, Girik V, Capitani G, Suh JH, Lachaussee N, Arrondel C, Patat J, Gribouval O, Furlano M, Boyer O, Schmitt A, Vuiblet V, Hashmi S, Wilcken R, Bernier FP, Innes AM, Parboosingh JS, Lamont RE, Midgley JP, Wright N, Majewski J, Zenker M, Schaefer F, Kuss N, Greil J, Giese T, Schwarz K, Catheline V, Schanze D, Franke I, Sznajer Y, Truant AS, Adams B, Desir J, Biemann R, Pei Y, Ars E, Lloberas N, Madrid A, Dharnidharka VR, Connolly AM, Willing MC, Cooper MA, Lifton RP, Simons M, Riezman H, Antignac C, Saba JD, Hildebrandt F (2017). Mutations in sphingosine-1-phosphate lyase cause nephrosis with ichthyosis and adrenal insufficiency. *J Clin Invest* 127(3): 912-928.
260. Bamborschke D, Pergande M, Becker K, Koerber F, Dotsch J, Vierzig A, Weber LT, Cirak S (2018). A novel mutation in sphingosine-1-phosphate lyase causing congenital brain malformation. *Brain Dev* 40(6): 480-483.
261. Gargano G, Guidotti I, Balestri E, Vagnarelli F, Rosato S, Comitini G, Wischmeijer A, La Sala GB, Iughetti L, Cordeddu V, Rossi C, Tartaglia M, Garavelli L (2014). Hydrops fetalis in a preterm newborn heterozygous for the c.4A>G SHOC2 mutation. *Am J Med Genet A* 164A(4): 1015-1020.
262. Takenouchi T, Sakamoto Y, Miwa T, Torii C, Kosaki R, Kishi K, Takahashi T, Kosaki K (2014). Severe craniosynostosis with Noonan syndrome phenotype associated with SHOC2 mutation: clinical evidence of crosslink between FGFR and RAS signaling pathways. *Am J Med Genet A* 164A(11): 2869-2872.
263. Kang E, Kim YM, Heo SH, Jung E, Kim KS, Yoo HJ, Kim EN, Kim CJ, Kim GH, Lee BH (2018). Biochemical and molecular analyses of infantile sialic acid storage disease in a patient with nonimmune hydrops fetalis. *Clin Chim Acta* 482: 199-202.
264. Elsaba Y, Khan A, Galal M, Lakshmanadoss L, Bolkini M (2019). Infantile free sialic acid storage disease presenting as non-immune hydrops fetalis. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine (JPNIM)* 8(1): e080114.
265. Sato T, Kojima T, Samura O, Kawaguchi S, Nakamura A, Nakajima M, Tanuma-Takahashi A, Nakabayashi K, Hata K, Ikegawa S, Nishimura G, Okamoto A, Yamada T (2020). Two unrelated pedigrees with achondrogenesis type 1b carrying a Japan-specific pathogenic variant in SLC26A2. *Am J Med Genet A* 182(4): 735-739.

266. Lieberwirth JK, Joset P, Heinze A, Hentschel J, Stein A, Iannaccone A, Steindl K, Kuechler A, Abou Jamra R (2021). Bi-allelic loss of function variants in SLC30A5 as cause of perinatal lethal cardiomyopathy. *Eur J Hum Genet* 29(5): 808-815.
267. Irrthum A, Devriendt K, Chitayat D, Matthijs G, Glade C, Steijlen PM, Fryns JP, Van Steensel MA, Vikkula M (2003). Mutations in the transcription factor gene SOX18 underlie recessive and dominant forms of hypotrichosis-lymphedema-telangiectasia. *Am J Hum Genet* 72(6): 1470-1478.
268. Zhang Y, Shao S, Liu J, Zeng C, Han Y, Zhang X (2021). Neonatal hereditary spherocytosis caused by a de novo frameshift mutation of the SPTB gene characterized by hydrops fetalis: A case report. *Medicine (Baltimore)* 100(12): e24804.
269. Gallagher PG, Weed SA, Tse WT, Benoit L, Morrow JS, Marchesi SL, Mohandas N, Forget BG (1995). Recurrent fatal hydrops fetalis associated with a nucleotide substitution in the erythrocyte beta-spectrin gene. *J Clin Invest* 95(3): 1174-1182.
270. Ittiwut C, Natesirinilkul R, Tongprasert F, Sathitsamitphong L, Choed-Amphai C, Fanhchaksai K, Charoenkwan P, Suphapeetiporn K, Shotelersuk V (2019). Novel mutations in SPTA1 and SPTB identified by whole exome sequencing in eight Thai families with hereditary pyropoikilocytosis presenting with severe fetal and neonatal anaemia. *Br J Haematol* 185(3): 578-582.
271. Gallagher PG, Petruzzi MJ, Weed SA, Zhang Z, Marchesi SL, Mohandas N, Morrow JS, Forget BG (1997). Mutation of a highly conserved residue of betaI spectrin associated with fatal and near-fatal neonatal hemolytic anemia. *J Clin Invest* 99(2): 267-277.
272. Schlotawa L, Dierks T, Christoph S, Cloppenburg E, Ohlenbusch A, Korenke GC, Gartner J (2019). Severe neonatal multiple sulfatase deficiency presenting with hydrops fetalis in a preterm birth patient. *JIMD Rep* 49(1): 48-52.
273. Ben-Rebeh I, Hertecant JL, Al-Jasmi FA, Aburawi HE, Al-Yahyaee SA, Al-Gazali L, Ali BR (2012). Identification of mutations underlying 20 inborn errors of metabolism in the United Arab Emirates population. *Genet Test Mol Biomarkers* 16(5): 366-371.
274. Al-Jasmi FA, Tawfig N, Berniah A, Ali BR, Taleb M, Hertecant JL, Bastaki F, Souid AK (2013). Prevalence and novel mutations of lysosomal storage disorders in united arab emirates : LSD in UAE. *JIMD Rep* 10: 1-9.

275. Valayannopoulos V, Verhoeven NM, Mention K, Salomons GS, Sommelet D, Gonzales M, Touati G, de Lonlay P, Jakobs C, Saudubray JM (2006). Transaldolase deficiency: a new cause of hydrops fetalis and neonatal multi-organ disease. *J Pediatr* 149(5): 713-717.
276. Al-Shamsi AM, Ben-Salem S, Hertecant J, Al-Jasmi F (2015). Transaldolase deficiency caused by the homozygous p.R192C mutation of the TALDO1 gene in four Emirati patients with considerable phenotypic variability. *Eur J Pediatr* 174(5): 661-668.
277. Balasubramaniam S, Wamelink MM, Ngu LH, Talib A, Salomons GS, Jakobs C, Keng WT (2011). Novel heterozygous mutations in TALDO1 gene causing transaldolase deficiency and early infantile liver failure. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 52(1): 113-116.
278. Symoens S, Barnes AM, Gistelinck C, Malfait F, Guillemin B, Steyaert W, Syx D, D'Hondt S, Biervliet M, De Backer J, Witten EP, Leikin S, Makareeva E, Gillesen-Kaesbach G, Huysseune A, Vleminckx K, Willaert A, De Paepe A, Marini JC, Coucke PJ (2015). Genetic defects in TAPT1 disrupt Ciliogenesis and cause a complex lethal Osteochondrodysplasia. *Am J Hum Genet* 97(4): 521-534.
279. Steward CG, Newbury-Ecob RA, Hastings R, Smithson SF, Tsai-Goodman B, Quarrell OW, Kulik W, Wanders R, Pennock M, Williams M, Cresswell JL, Gonzalez IL, Brennan P (2010). Barth syndrome: an X-linked cause of fetal cardiomyopathy and stillbirth. *Prenat Diagn* 30(10): 970-976.
280. Wu Q, Ma X, Shi H, Kong X, Ren S, Jiao Z (2019). Genetic analysis of a family with recurrent Hydrops Fetalis and Dilated Cardiomyopathy. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 36(10): 1028-1030.
281. Abdelrahman HA, Al-Shamsi A, John A, Hertecant J, Lootah A, Ali BR, Al-Gazali L (2018). A recessive truncating variant in thrombospondin-1 domain containing protein 1 gene THSD1 is the underlying cause of nonimmune hydrops fetalis, congenital cardiac defects, and haemangiomas in four patients from a consanguineous family. *Am J Med Genet A* 176(9): 1996-2003.
282. Al Rawi WN, Ibrahim FH, El Nakeib OAS, Al Zidgali FM (2021). Manifestations of thrombospondin type-1 domain-containing protein 1 gene mutation in an extremely premature infant with nonimmune hydrops fetalis. *Am J Med Genet A* 185(5): 1598-1601.

283. Mariscal-Mendizabal LF, Sevilla-Montoya R, Martinez-Garcia AJ, Alaez-Verson C, Monroy-Munoz IE, Perez-Duran J, Ceron-Albarran JA, Carrillo-Sanchez K, Molina-Garay C, Flores-Lagunes LL, Jimenez-Olivares M, Aguinaga-Rios M (2019). Clinical and genetic description of patients with prenatally identified cardiac tumors. *Prenat Diagn* 39(11): 998-1004.
284. Gu X, Han L, Chen J, Wang J, Hao X, Zhang Y, Zhang J, Ge S, He Y (2018). Antenatal screening and diagnosis of tuberous sclerosis complex by fetal echocardiography and targeted genomic sequencing. *Medicine (Baltimore)* 97(15): e0112.
285. Bechara E, Dijoud F, de Saint Basile G, Bertrand Y, Pondarre C (2011). Hemophagocytic lymphohistiocytosis with Munc13-4 mutation: a cause of recurrent fatal hydrops fetalis. *Pediatrics* 128(1): e251-254.
286. Solis C, Aizencang GI, Astrin KH, Bishop DF, Desnick RJ (2001). Uroporphyrinogen III synthase erythroid promoter mutations in adjacent GATA1 and CP2 elements cause congenital erythropoietic porphyria. *J Clin Invest* 107(6): 753-762.
287. Pannier E, Viot G, Aubry MC, Grange G, Tantau J, Fallet-Bianco C, Muller F, Cabrol D (2003). Congenital erythropoietic porphyria (Gunther's disease): two cases with very early prenatal manifestation and cystic hygroma. *Prenat Diagn* 23(1): 25-30.
288. Bacino CA, Dhar SU, Brunetti-Pierri N, Lee B, Bonnen PE (2012). WDR35 mutation in siblings with Sensenbrenner syndrome: a ciliopathy with variable phenotype. *Am J Med Genet A* 158A(11): 2917-2924.
289. Strande NT, Riggs ER, Buchanan AH, Ceyhan-Birsoy O, DiStefano M, Dwight SS, Goldstein J, Ghosh R, Seifert BA, Sneddon TP, Wright MW, Milko LV, Cherry JM, Giovanni MA, Murray MF, O'Daniel JM, Ramos EM, Santani AB, Scott AF, Plon SE, Rehm HL, Martin CL, Berg JS (2017). Evaluating the clinical validity of gene-disease associations: an evidence-based framework developed by the clinical genome resource. *Am J Hum Genet* 100(6): 895-906.
290. Ballantyne JW (1892). *The diseases and deformities of the fetus*. Edinburgh: Oliver and Boyd.
291. Driscoll SG (1966). Current concepts: Hydrops fetalis. *New England Journal of Medicine (NEJM)* 275: 1432-1434.

292. Froeling FEM, Casolino R, Pea A, Biankin AV, Chang DK (2021). Molecular subtyping and precision medicine for pancreatic cancer. *J Clin Med* 10(1).
293. Malone ER, Oliva M, Sabatini PJB, Stockley TL, Siu LL (2020). Molecular profiling for precision cancer therapies. *Genome Med* 12(1): 8.
294. Ayton SG, Pavlicova M, Robles-Espinoza CD, Tamez Pena JG, Trevino V (2022). Multiomics subtyping for clinically prognostic cancer subtypes and personalized therapy: A systematic review and meta-analysis. *Genet Med* 24(1): 15-25.
295. Ivy SP, Wick JY, Kaufman BM (2009). An overview of small-molecule inhibitors of VEGFR signaling. *Nat Rev Clin Oncol* 6(10): 569-579.
296. Rapisarda A, Melillo G (2012). Role of the VEGF/VEGFR axis in cancer biology and therapy. *Adv Cancer Res* 114: 237-267.
297. Adams RH, Alitalo K (2007). Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 8(6): 464-478.
298. Tammela T, Zarkada G, Wallgard E, Murtomäki A, Suchting S, Wirzenius M, Waltari M, Hellström M, Schomber T, Peltonen R, Freitas C, Duarte A, Isoniemi H, Laakkonen P, Christofori G, Ylä-Herttuala S, Shibuya M, Pytowski B, Eichmann A, Betsholtz C, Alitalo K (2008). Blocking VEGFR-3 suppresses angiogenic sprouting and vascular network formation. *Nature* 454(7204): 656-660.
299. Deng Y, Zhang X, Simons M (2015). Molecular controls of lymphatic VEGFR3 signaling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 35(2): 421-429.
300. Jeltsch M, Jha SK, Tvorogov D, Anisimov A, Leppanen VM, Holopainen T, Kivela R, Ortega S, Karpanen T, Alitalo K (2014). CCBE1 enhances lymphangiogenesis via A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs-3-mediated vascular endothelial growth factor-C activation. *Circulation* 129(19): 1962-1971.
301. Jha SK, Rauniyar K, Karpanen T, Leppanen VM, Brouillard P, Vikkula M, Alitalo K, Jeltsch M (2017). Efficient activation of the lymphangiogenic growth factor VEGF-C requires the C-terminal domain of VEGF-C and the N-terminal domain of CCBE1. *Sci Rep* 7(1): 4916.
302. Jerafi-Vider A, Bassi I, Moshe N, Tevet Y, Hen G, Splittstoesser D, Shin M, Lawson ND, Yaniv K (2021). VEGFC/FLT4-induced cell-cycle arrest mediates sprouting and differentiation of venous and lymphatic endothelial cells. *Cell Rep* 35(11): 109255.

303. Tammela T, Alitalo K (2010). Lymphangiogenesis: molecular mechanisms and future promise. *Cell* 140(4): 460-476.
304. Hsu MC, Pan MR, Hung WC (2019). Two birds, one stone: double hits on tumor growth and lymphangiogenesis by targeting vascular endothelial growth factor receptor 3. *Cells* 8(3).
305. Dillon M, Lopez A, Lin E, Sales D, Perets R, Jain P (2021). Progress on Ras/MAPK signaling research and targeting in blood and solid cancers. *Cancers (Basel)* 13(20).
306. Munoz-Maldonado C, Zimmer Y, Medova M (2019). A comparative analysis of individual RAS mutations in cancer biology. *Front Oncol* 9: 1088.
307. Prior IA, Hood FE, Hartley JL (2020). The frequency of ras mutations in cancer. *Cancer Res* 80(14): 2969-2974.
308. Ngan HL, Law CH, Choi YCY, Chan JY, Lui VWY (2022). Precision drugging of the MAPK pathway in head and neck cancer. *NPJ Genom Med* 7(1): 20.
309. Aoki Y, Niihori T, Inoue S, Matsubara Y (2016). Recent advances in RASopathies. *J Hum Genet* 61(1): 33-39.
310. Hellmuth K, Grosskopf S, Lum CT, Wurtele M, Roder N, von Kries JP, Rosario M, Rademann J, Birchmeier W (2008). Specific inhibitors of the protein tyrosine phosphatase Shp2 identified by high-throughput docking. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(20): 7275-7280.
311. Moore AR, Rosenberg SC, McCormick F, Malek S (2020). RAS-targeted therapies: is the undruggable drugged? *Nat Rev Drug Discov* 19(8): 533-552.
312. Hyun S, Shin D (2021). Small-molecule inhibitors and degraders targeting KRAS-driven cancers. *Int J Mol Sci* 22(22).
313. Braicu C, Buse M, Busuioc C, Drula R, Gulei D, Raduly L, Rusu A, Irimie A, Atanasov AG, Slaby O, Ionescu C, Berindan-Neagoe I (2019). A comprehensive review on MAPK: a promising therapeutic target in cancer. *Cancers (Basel)* 11(10).
314. Food and Drugs Administration (FDA) (2022). FDA approves selumetinib for neurofibromatosis type 1 with symptomatic, inoperable plexiform neurofibromas [online]. Available from: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-selumetinib-neurofibromatosis-type-1-symptomatic-inoperable-plexiform-neurofibromas>. [Accessed 30 Nisan 2022].
315. Simanshu DK, Nissley DV, McCormick F (2017). RAS proteins and their regulators in human disease. *Cell* 170(1): 17-33.

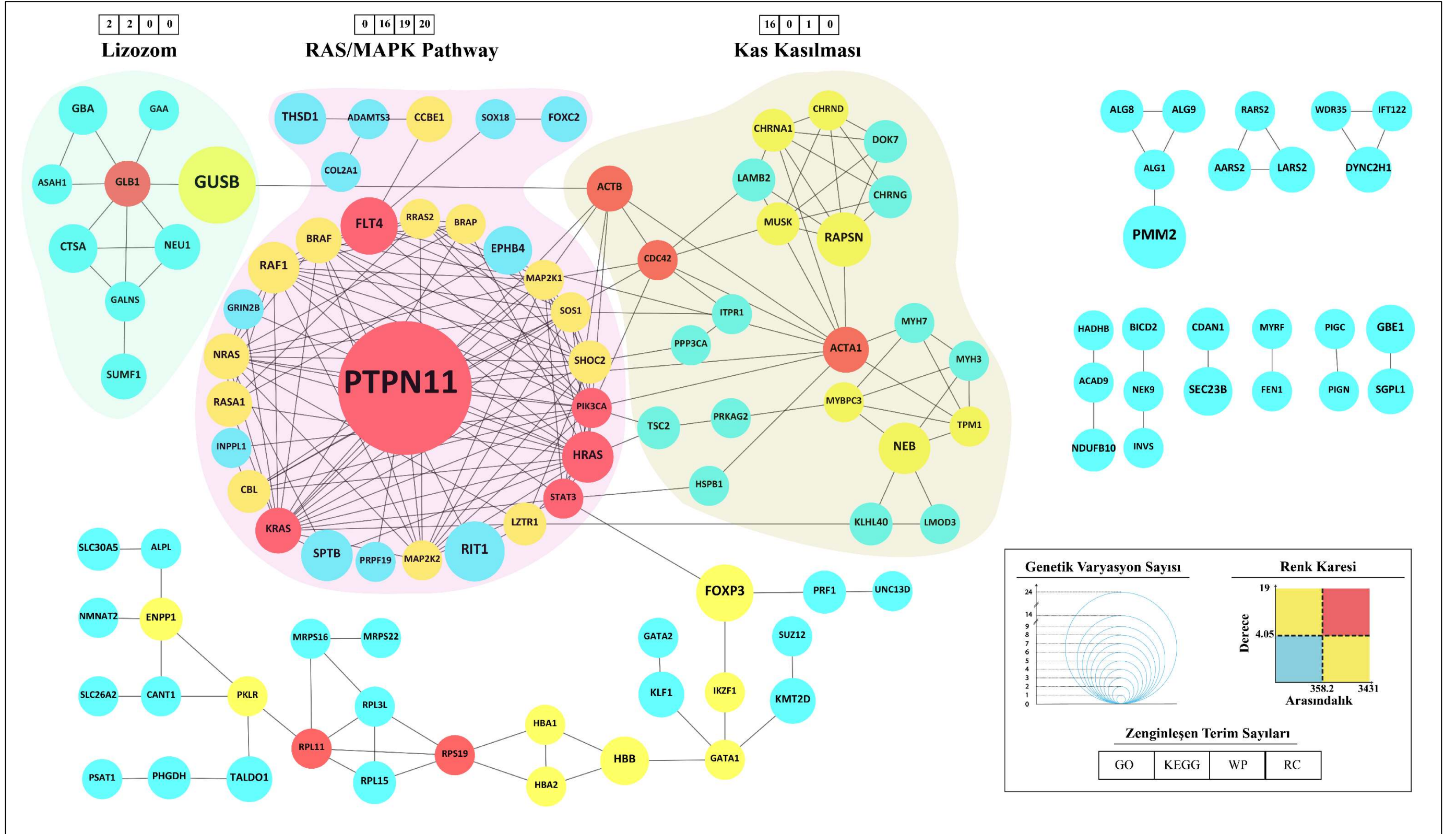
316. Tajan M, Paccoud R, Branka S, Edouard T, Yart A (2018). The RASopathy family: consequences of germline activation of the RAS/MAPK pathway. *Endocr Rev* 39(5): 676-700.
317. Mandal R, Becker S, Strebhardt K (2016). Stamping out RAF and MEK1/2 to inhibit the ERK1/2 pathway: an emerging threat to anticancer therapy. *Oncogene* 35(20): 2547-2561.
318. Bergqvist C, Wolkenstein P (2021). MEK inhibitors in RASopathies. *Curr Opin Oncol* 33(2): 110-119.
319. Lehman SJ, Crocini C, Leinwand LA (2022). Targeting the sarcomere in inherited cardiomyopathies. *Nat Rev Cardiol*.
320. Hwang PM, Sykes BD (2015). Targeting the sarcomere to correct muscle function. *Nat Rev Drug Discov* 14(5): 313-328.
321. Bagriantsev SN, Gracheva EO, Gallagher PG (2014). Piezo proteins: regulators of mechanosensation and other cellular processes. *J Biol Chem* 289(46): 31673-31681.
322. Moccia F (2018). Endothelial Ca(2+) signaling and the resistance to anticancer treatments: partners in crime. *Int J Mol Sci* 19(1).
323. Li J, Hou B, Tumova S, Muraki K, Bruns A, Ludlow MJ, Sedo A, Hyman AJ, McKeown L, Young RS, Yuldasheva NY, Majeed Y, Wilson LA, Rode B, Bailey MA, Kim HR, Fu Z, Carter DA, Bilton J, Imrie H, Ajuh P, Dear TN, Cubbon RM, Kearney MT, Prasad RK, Evans PC, Ainscough JF, Beech DJ (2014). PIEZO1 integration of vascular architecture with physiological force. *Nature* 515(7526): 279-282.
324. Bae C, Gnanasambandam R, Nicolai C, Sachs F, Gottlieb PA (2013). Xerocytosis is caused by mutations that alter the kinetics of the mechanosensitive channel PIEZO1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(12): E1162-1168.
325. Zarychanski R, Schulz VP, Houston BL, Maksimova Y, Houston DS, Smith B, Rinehart J, Gallagher PG (2012). Mutations in the mechanotransduction protein PIEZO1 are associated with hereditary xerocytosis. *Blood* 120(9): 1908-1915.
326. Rudell JC, Borges LS, Yarov-Yarovoy V, Ferns M (2020). The MX-Helix of muscle nAChR subunits regulates receptor assembly and surface trafficking. *Front Mol Neurosci* 13: 48.

327. Cetin H, Beeson D, Vincent A, Webster R (2020). The structure, function, and physiology of the fetal and adult acetylcholine receptor in muscle. *Front Mol Neurosci* 13: 581097.
328. Nayak TK, Chakraborty S, Zheng W, Auerbach A (2016). Structural correlates of affinity in fetal versus adult endplate nicotinic receptors. *Nat Commun* 7: 11352.
329. Ferns M (2021). An Inside Job: Molecular determinants for postsynaptic localization of nicotinic acetylcholine receptors. *Molecules* 26(11).
330. Eigler T, Zarfati G, Amzallag E, Sinha S, Segev N, Zabary Y, Zaritsky A, Shakked A, Umansky KB, Schejter ED, Millay DP, Tzahor E, Avinoam O (2021). ERK1/2 inhibition promotes robust myotube growth via CaMKII activation resulting in myoblast-to-myotube fusion. *Dev Cell* 56(24): 3349-3363 e3346.
331. Platt FM, d'Azzo A, Davidson BL, Neufeld EF, Tifft CJ (2018). Lysosomal storage diseases. *Nat Rev Dis Primers* 4(1): 27.
332. Bennasroune A, Romier-Crouzet B, Blaise S, Laffargue M, Efremov RG, Martiny L, Maurice P, Duca L (2019). Elastic fibers and elastin receptor complex: Neuraminidase-1 takes the center stage. *Matrix Biology* 84: 57-67.
333. Wang K, Meng X, Guo Z (2021). Elastin structure, synthesis, regulatory mechanism and relationship with cardiovascular diseases. *Front Cell Dev Biol* 9: 596702.
334. Masyuk AI, Gradilone SA, LaRusso NF (2014). Calcium signaling in cilia and ciliary-mediated intracellular calcium signaling: are they independent or coordinated molecular events? *Hepatology* 60(5): 1783-1785.
335. Reiter JF, Leroux MR (2017). Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18(9): 533-547.
336. Morthorst SK, Christensen ST, Pedersen LB (2018). Regulation of ciliary membrane protein trafficking and signalling by kinesin motor proteins. *FEBS J* 285(24): 4535-4564.
337. Paulson D, Harms R, Ward C, Latterell M, Pazour GJ, Fink DM (2021). Loss of Primary Cilia Protein IFT20 Dysregulates Lymphatic Vessel Patterning in Development and Inflammation. *Front Cell Dev Biol* 9: 672625.

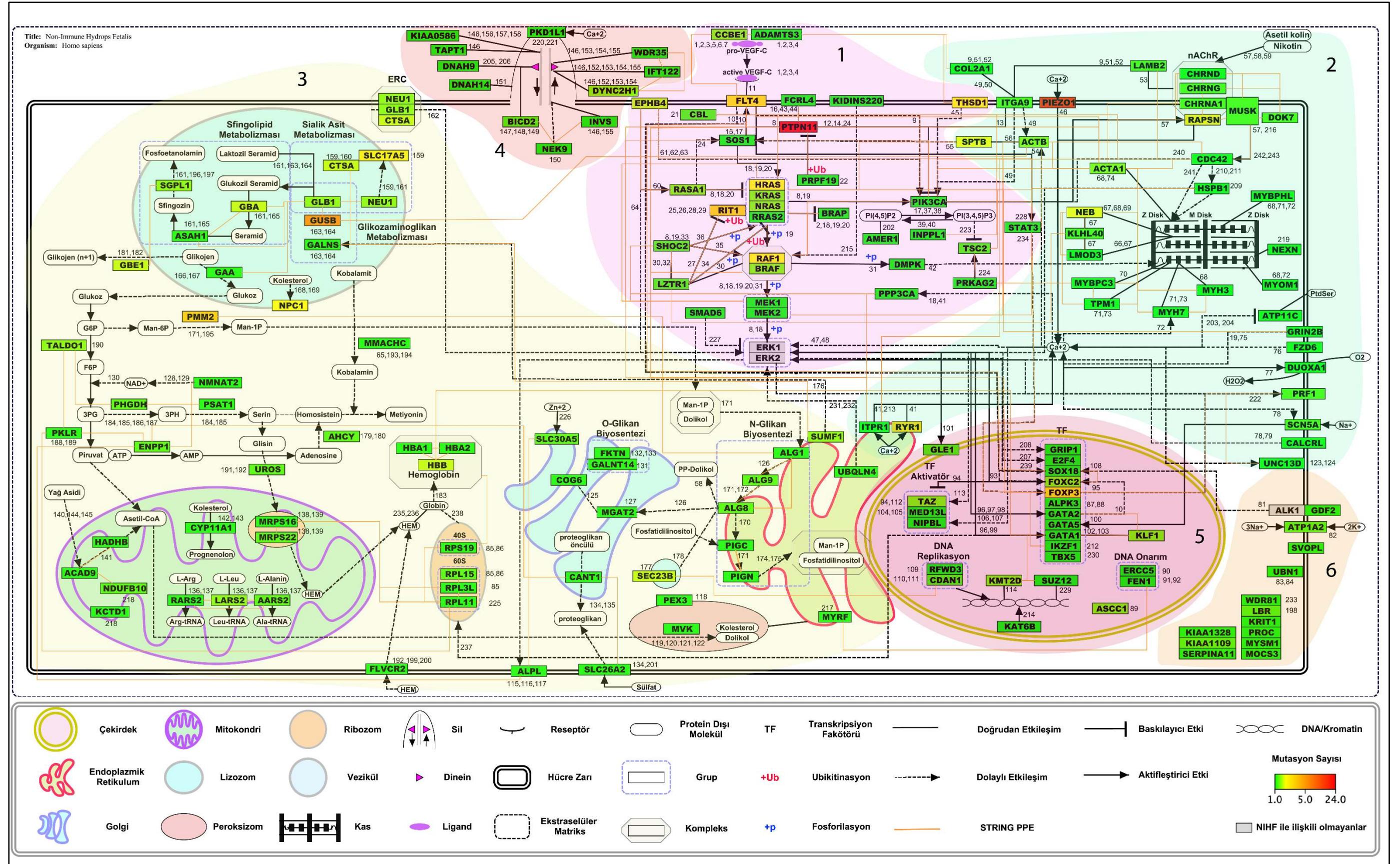


EKLER

Ek 1. NIHF ilişkili Genlerin STRING Veri Tabanına Göre Birbirleriyle Etkileşimi



Ek 2. NIHF ile İlişkili Hücre Sinyal Yolu



Ek 3. NIHF ile İlişkili Hücre Sinyal Yolağına Ait Referanslar

1. Jeltsch M, Jha SK, Tvorogov D, Anisimov A, Leppanen VM, Holopainen T, Kivela R, Ortega S, Karpanen T, Alitalo K (2014). CCBE1 enhances lymphangiogenesis via A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs-3-mediated vascular endothelial growth factor-C activation. *Circulation* 129(19): 1962-1971.
2. Brouillard P, Dupont L, Helaers R, Coulie R, Tiller GE, Peeden J, Colige A, Vikkula M (2017). Loss of ADAMTS3 activity causes Hennekam lymphangiectasia-lymphedema syndrome 3. *Hum Mol Genet* 26(21): 4095-4104.
3. Jha SK, Rauniyar K, Karpanen T, Leppanen VM, Brouillard P, Vikkula M, Alitalo K, Jeltsch M (2017). Efficient activation of the lymphangiogenic growth factor VEGF-C requires the C-terminal domain of VEGF-C and the N-terminal domain of CCBE1. *Sci Rep* 7(1): 4916.
4. Janssen L, Dupont L, Bekhouche M, Noel A, Leduc C, Voz M, Peers B, Cataldo D, Apte SS, Dubail J, Colige A (2016). ADAMTS3 activity is mandatory for embryonic lymphangiogenesis and regulates placental angiogenesis. *Angiogenesis* 19(1): 53-65.
5. Le Guen L, Karpanen T, Schulte D, Harris NC, Koltowska K, Roukens G, Bower NI, van Impel A, Stacker SA, Achen MG, Schulte-Merker S, Hogan BM (2014). CCBE1 regulates VEGFC-mediated induction of VEGFR3 signaling during embryonic lymphangiogenesis. *Development* 141(6): 1239-1249.
6. Bos FL, Caunt M, Peterson-Maduro J, Planas-Paz L, Kowalski J, Karpanen T, van Impel A, Tong R, Ernst JA, Korving J, van Es JH, Lammert E, Duckers HJ, Schulte-Merker S (2011). CCBE1 is essential for mammalian lymphatic vascular development and enhances the lymphangiogenic effect of vascular endothelial growth factor-C in vivo. *Circ Res* 109(5): 486-491.
7. Roukens MG, Peterson-Maduro J, Padberg Y, Jeltsch M, Leppanen VM, Bos FL, Alitalo K, Schulte-Merker S, Schulte D (2015). Functional dissection of the CCBE1 protein: a crucial requirement for the collagen repeat domain. *Circ Res* 116(10): 1660-1669.
8. WikiPathways (2021). Ras Signaling (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4223>. [Accessed 3 Mart 2021].

Ek 3. (Devam)

9. WikiPathways (2021). Focal Adhesion-PI3K-Akt-mTOR-signaling pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP3932>. [Accessed 3 Mart 2021].
10. Mendola A, Schlogel MJ, Ghalamkarpour A, Irrthum A, Nguyen HL, Fastre E, Bygum A, van der Vleuten C, Fagerberg C, Baselga E, Quere I, Mulliken JB, Boon LM, Brouillard P, Vikkula M, Lymphedema Research G (2013). Mutations in the VEGFR3 signaling pathway explain 36% of familial lymphedema. *Mol Syndromol* 4(6): 257-266.
11. Koltowska K, Betterman KL, Harvey NL, Hogan BM (2013). Getting out and about: the emergence and morphogenesis of the vertebrate lymphatic vasculature. *Development* 140(9): 1857-1870.
12. WikiPathways (2021). Cancer immunotherapy by CTLA4 blockade (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4582>. [Accessed 5 Mart 2021].
13. WikiPathways (2021). Alpha 6 Beta 4 signaling pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP244>. [Accessed 5 Mart 2021].
14. WikiPathways (2021). Cancer immunotherapy by PD-1 blockade (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4585>. [Accessed 5 Mart 2021].
15. WikiPathways (2021). IL-2 Signaling Pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP49>. [Accessed 5 Mart 2021].
16. Li FJ, Won WJ, Becker EJ, Jr., Easlick JL, Tabengwa EM, Li R, Shakhmatov M, Honjo K, Burrows PD, Davis RS (2014). Emerging roles for the FCRL family members in lymphocyte biology and disease. *Curr Top Microbiol Immunol* 382: 29-50.
17. Tajan M, de Rocca Serra A, Valet P, Edouard T, Yart A (2015). SHP2 sails from physiology to pathology. *Eur J Med Genet* 58(10): 509-525.

Ek 3. (Devam)

18. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). MAPK signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04010. [Accessed 6 Mart 2021].
19. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Ras signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04014. [Accessed 6 Mart 2021].
20. WikiPathways (2021). MAPK Signaling Pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP382>. [Accessed 6 Mart 2021].
21. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). ErbB signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04012. [Accessed 6 Mart 2021].
22. Zheng J, Huang X, Tan W, Yu D, Du Z, Chang J, Wei L, Han Y, Wang C, Che X, Zhou Y, Miao X, Jiang G, Yu X, Yang X, Cao G, Zuo C, Li Z, Wang C, Cheung ST, Jia Y, Zheng X, Shen H, Wu C, Lin D (2016). Pancreatic cancer risk variant in LINC00673 creates a miR-1231 binding site and interferes with PTPN11 degradation. *Nat Genet* 48(7): 747-757.
23. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Purine metabolism - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00230. [Accessed 6 Mart 2021].
24. WikiPathways (2021). IL-4 Signaling Pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP395>. [Accessed 6 Mart 2021].
25. Meyer Zum Buschenfelde U, Brandenstein LI, von Elsner L, Flato K, Holling T, Zenker M, Rosenberger G, Kutsche K (2018). RIT1 controls actin dynamics via complex formation with RAC1/CDC42 and PAK1. *PLoS Genet* 14(5): e1007370.
26. Tse EY, Ching YP (2014). The role of p21-activated kinases in hepatocellular carcinoma metastasis. *J Mol Signal* 9: 7.

Ek 3. (Devam)

27. Paladino A, D'Angelo F, Noviello TMR, Iavarone A, Ceccarelli M (2021). Structural model for recruitment of RIT1 to the LZTR1 E3 ligase: evidences from an integrated computational approach. *J Chem Inf Model* 61(4): 1875-1888.
28. Sells MA, Knaus UG, Bagrodia S, Ambrose DM, Bokoch GM, Chernoff J (1997). Human p21-activated kinase (Pak1) regulates actin organization in mammalian cells. *Curr Biol* 7(3): 202-210.
29. Zhao ZS, Manser E, Chen XQ, Chong C, Leung T, Lim L (1998). A conserved negative regulatory region in alphaPAK: inhibition of PAK kinases reveals their morphological roles downstream of Cdc42 and Rac1. *Mol Cell Biol* 18(4): 2153-2163.
30. Umeki I, Niihori T, Abe T, Kanno SI, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Nagasaki K, Yoshida M, Ohashi H, Inoue SI, Matsubara Y, Fujiwara I, Kure S, Aoki Y (2019). Delineation of LZTR1 mutation-positive patients with Noonan syndrome and identification of LZTR1 binding to RAF1-PPP1CB complexes. *Hum Genet* 138(1): 21-35.
31. Shimizu M, Wang W, Walch ET, Dunne PW, Epstein HF (2000). Rac-1 and Raf-1 kinases, components of distinct signaling pathways, activate myotonic dystrophy protein kinase. *FEBS Lett* 475(3): 273-277.
32. WikiPathways (2021). 22q11.2 copy number variation syndrome (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4657>. [Accessed 7 Mart 2021].
33. Boned Del Rio I, Young LC, Sari S, Jones GG, Ringham-Terry B, Hartig N, Rejnowicz E, Lei W, Bhamra A, Surinova S, Rodriguez-Viciano P (2019). SHOC2 complex-driven RAF dimerization selectively contributes to ERK pathway dynamics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116(27): 13330-13339.
34. Abe T, Umeki I, Kanno SI, Inoue SI, Niihori T, Aoki Y (2020). LZTR1 facilitates polyubiquitination and degradation of RAS-GTPases. *Cell Death Differ* 27(3): 1023-1035.

Ek 3. (Devam)

35. Bigenzahn JW, Collu GM, Kartnig F, Pieraks M, Vladimer GI, Heinz LX, Sedlyarov V, Schischlik F, Fauster A, Rebsamen M, Parapatics K, Blumen VA, Muller AC, Winter GE, Kralovics R, Brummelkamp TR, Mlodzik M, Superti-Furga G (2018). LZTR1 is a regulator of RAS ubiquitination and signaling. *Science* 362(6419): 1171-1177.
36. Castel P, Cheng A, Cuevas-Navarro A, Everman DB, Papageorge AG, Simanshu DK, Tankka A, Galeas J, Urisman A, McCormick F (2019). RIT1 oncoproteins escape LZTR1-mediated proteolysis. *Science* 363(6432): 1226-1230.
37. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Inositol phosphate metabolism - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00562. [Accessed 7 Mart 2021].
38. WikiPathways (2021). Angiopoietin Like Protein 8 Regulatory Pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP3915>. [Accessed 7 Mart 2021].
39. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Phosphatidylinositol signaling system - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04070. [Accessed 7 Mart 2021].
40. WikiPathways (2021). EGF/EGFR Signaling Pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP437>. [Accessed 7 Mart 2021].
41. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Calcium signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04020. [Accessed 8 Mart 2021].
42. O'Cholain DF, Perez-Terzic C, Reyes S, Kane GC, Behfar A, Hodgson DM, Strommen JA, Liu XK, van den Broek W, Wansink DG, Wieringa B, Terzic A (2004). Transgenic overexpression of human DMPK accumulates into hypertrophic cardiomyopathy, myotonic myopathy and hypotension traits of myotonic dystrophy. *Hum Mol Genet* 13(20): 2505-2518.

Ek 3. (Devam)

43. Sohn HW, Krueger PD, Davis RS, Pierce SK (2011). FcRL4 acts as an adaptive to innate molecular switch dampening BCR signaling and enhancing TLR signaling. *Blood* 118(24): 6332-6341.
44. Rostamzadeh D, Kazemi T, Amirghofran Z, Shabani M (2018). Update on Fc receptor-like (FCRL) family: new immunoregulatory players in health and diseases. *Expert Opin Ther Targets* 22(6): 487-502.
45. Haasdijk RA, Den Dekker WK, Cheng C, Tempel D, Szulcek R, Bos FL, Hermkens DM, Chrifi I, Brandt MM, Van Dijk C, Xu YJ, Van De Kamp EH, Blondin LA, Van Bezu J, Sluimer JC, Biessen EA, Van Nieuw Amerongen GP, Duckers HJ (2016). THSD1 preserves vascular integrity and protects against intraplaque haemorrhaging in ApoE^{-/-} mice. *Cardiovasc Res* 110(1): 129-139.
46. Liu CSC, Raychaudhuri D, Paul B, Chakrabarty Y, Ghosh AR, Rahaman O, Talukdar A, Ganguly D (2018). Cutting edge: PIEZO1 mechanosensors optimize human T cell activation. *J Immunol* 200(4): 1255-1260.
47. Aglialoro F, Abay A, Yagci N, Rab MAE, Kaestner L, van Wijk R, von Lindern M, van den Akker E (2021). Mechanical stress induces Ca(2+)-Dependent Signal Transduction in erythroblasts and modulates Erythropoiesis. *Int J Mol Sci* 22(2).
48. Gudipaty SA, Lindblom J, Loftus PD, Redd MJ, Edes K, Davey CF, Krishnegowda V, Rosenblatt J (2017). Mechanical stretch triggers rapid epithelial cell division through PIEZO1. *Nature* 543(7643): 118-121.
49. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Focal adhesion - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04510. [Accessed 8 Mart 2021].
50. WikiPathways (2021). Focal Adhesion (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP306>. [Accessed 8 Mart 2021].
51. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). PI3K-Akt signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04151. [Accessed 8 Mart 2021].

Ek 3. (Devam)

52. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). ECM-receptor interaction - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04512. [Accessed 8 Mart 2021].
53. Schara U, Della Marina A, Abicht A (2012). Congenital myasthenic syndromes: current diagnostic and therapeutic approaches. *Neuropediatrics* 43(4): 184-193.
54. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). RAP1 signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04015. [Accessed 8 Mart 2021].
55. WikiPathways (2021). NCAM signaling for neurite out-growth (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP1866>. [Accessed 8 Mart 2021].
56. El Refaey MM, Mohler PJ (2017). Ankyrins and spectrins in cardiovascular biology and disease. *Front Physiol* 8: 852.
57. Wilbe M, Ekvall S, Eurenium K, Ericson K, Casar-Borota O, Klar J, Dahl N, Ameer A, Anneren G, Bondeson ML (2015). MUSK: a new target for lethal fetal akinesia deformation sequence (FADS). *J Med Genet* 52(3): 195-202.
58. Ohno K, Ohkawara B, Ito M (2016). Recent advances in congenital myasthenic syndromes. *Clinical & experimental neuroimmunology* 7(3): 246-259.
59. Wu CH, Lee CH, Ho YS (2011). Nicotinic acetylcholine receptor-based blockade: applications of molecular targets for cancer therapy. *Clin Cancer Res* 17(11): 3533-3541.
60. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Axon guidance - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04360. [Accessed 10 Mart 2021].
61. Xiao Z, Carrasco R, Kinneer K, Sabol D, Jallal B, Coats S, Tice DA (2012). EPHB4 promotes or suppresses Ras/MEK/ERK pathway in a context-dependent manner: implications for EPHB4 as a cancer target. *Cancer Biol Ther* 13(8): 630-637.

Ek 3. (Devam)

62. Steinle JJ, Meininger CJ, Forough R, Wu G, Wu MH, Granger HJ (2002). EPHB4 receptor signaling mediates endothelial cell migration and proliferation via the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J Biol Chem* 277(46): 43830-43835.
63. Salvucci O, Tosato G (2012). Essential roles of EPHB receptors and EphrinB ligands in endothelial cell function and angiogenesis. *Adv Cancer Res* 114: 21-57.
64. Yang D, Jin C, Ma H, Huang M, Shi GP, Wang J, Xiang M (2016). EphrinB2/EphB4 pathway in postnatal angiogenesis: a potential therapeutic target for ischemic cardiovascular disease. *Angiogenesis* 19(3): 297-309.
65. George AK, Homme RP, Majumder A, Laha A, Metreveli N, Sandhu HS, Tyagi SC, Singh M (2019). Hydrogen sulfide intervention in cystathionine-beta-synthase mutant mouse helps restore ocular homeostasis. *Int J Ophthalmol* 12(5): 754-764.
66. Kiss B, Gohlke J, Tonino P, Hourani Z, Kolb J, Strom J, Alekhina O, Smith JE, 3rd, Ottenheijm C, Gregorio C, Granzier H (2020). Nebulin and LMOD2 are critical for specifying thin-filament length in skeletal muscle. *Sci Adv* 6(46).
67. Garg A, O'Rourke J, Long C, Doering J, Ravenscroft G, Bezprozvannaya S, Nelson BR, Beetz N, Li L, Chen S, Laing NG, Grange RW, Bassel-Duby R, Olson EN (2014). KLHL40 deficiency destabilizes thin filament proteins and promotes nemaline myopathy. *J Clin Invest* 124(8): 3529-3539.
68. WikiPathways (2021). Striated muscle contraction pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP383>. [Accessed 10 Mart 2021].
69. Chu M, Gregorio CC, Pappas CT (2016). Nebulin, a multi-functional giant. *J Exp Biol* 219(Pt 2): 146-152.
70. Barefield DY, Puckelwartz MJ, Kim EY, Wilsbacher LD, Vo AH, Waters EA, Earley JU, Hadhazy M, Dellefave-Castillo L, Pesce LL, McNally EM (2017). Experimental modeling supports a role for MyBP-HL as a novel myofilament component in arrhythmia and dilated cardiomyopathy. *Circulation* 136(16): 1477-1491.
71. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Hypertrophic cardiomyopathy - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa05410. [Accessed 10 Mart 2021].

Ek 3. (Devam)

72. Vermillion KL, Jagtap P, Johnson JE, Griffin TJ, Andrews MT (2015). Characterizing cardiac molecular mechanisms of mammalian hibernation via quantitative proteogenomics. *J Proteome Res* 14(11): 4792-4804.
73. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Cardiac muscle contraction - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04260. [Accessed 15 Mart 2021].
74. Joureau B, de Winter JM, Conijn S, Bogaards SJP, Kovacevic I, Kalganov A, Persson M, Lindqvist J, Stienen GJM, Irving TC, Ma W, Yuen M, Clarke NF, Rassier DE, Malfatti E, Romero NB, Beggs AH, Ottenheijm CAC (2018). Dysfunctional sarcomere contractility contributes to muscle weakness in ACTA1-related nemaline myopathy (NEM3). *Ann Neurol* 83(2): 269-282.
75. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Long-term potentiation - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04720. [Accessed 10 Mart 2021].
76. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). WNT signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04310. [Accessed 10 Mart 2021].
77. Wu JX, Liu R, Song K, Chen L (2021). Structures of human dual oxidase 1 complex in low-calcium and high-calcium states. *Nat Commun* 12(1): 155.
78. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Adrenergic signaling in cardiomyocytes - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04261. [Accessed 10 Mart 2021].
79. Schaeffer C, Vandroux D, Thomassin L, Athias P, Rochette L, Connat JL (2003). Calcitonin gene-related peptide partly protects cultured smooth muscle cells from apoptosis induced by an oxidative stress via activation of ERK1/2 MAPK. *Biochim Biophys Acta* 1643(1-3): 65-73.
80. Fritz-Six KL, Dunworth WP, Li M, Caron KM (2008). Adrenomedullin signaling is necessary for murine lymphatic vascular development. *J Clin Invest* 118(1): 40-50.

Ek 3. (Devam)

81. Derynck R, Akhurst RJ (2013). BMP-9 balances endothelial cell fate. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(47): 18746-18747.
82. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). cAMP signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04024. [Accessed 10 Mart 2021].
83. Lupo J, Conti A, Sueur C, Coly PA, Coute Y, Hunziker W, Burmeister WP, Germini R, Manet E, Gruffat H, Morand P, Boyer V (2012). Identification of new interacting partners of the shuttling protein ubinuclein (Ubn-1). *Exp Cell Res* 318(5): 509-520.
84. Aho S, Lupo J, Coly PA, Sabine A, Castellazzi M, Morand P, Sergeant A, Manet E, Boyer V, Gruffat H (2009). Characterization of the ubinuclein protein as a new member of the nuclear and adhesion complex components (NACos). *Biol Cell* 101(6): 319-334.
85. WikiPathways (2021). Cytoplasmic ribosomal proteins (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP477>. [Accessed 10 Mart 2021].
86. Ruggero D, Shimamura A (2014). Marrow failure: a window into ribosome biology. *Blood* 124(18): 2784-2792.
87. Almomani R, Verhagen JM, Herkert JC, Brosens E, van Spaendonck-Zwarts KY, Asimaki A, van der Zwaag PA, Frohn-Mulder IM, Bertoli-Avella AM, Boven LG, van Slegtenhorst MA, van der Smagt JJ, van IWF, Timmer B, van Stuijvenberg M, Verdijk RM, Saffitz JE, du Plessis FA, Michels M, Hofstra RM, Sinke RJ, van Tintelen JP, Wessels MW, Jongbloed JD, van de Laar IM (2016). Biallelic truncating mutations in ALPK3 cause severe pediatric cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 67(5): 515-525.
88. van Mil A, Balk GM, Neef K, Buikema JW, Asselbergs FW, Wu SM, Doevendans PA, Sluijter JPG (2018). Modelling inherited cardiac disease using human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: progress, pitfalls, and potential. *Cardiovasc Res* 114(14): 1828-1842.

Ek 3. (Devam)

89. Torices S, Alvarez-Rodriguez L, Grande L, Varela I, Munoz P, Pascual D, Balsa A, Lopez-Hoyos M, Martinez-Taboada V, Fernandez-Luna JL (2015). A truncated variant of ASCC1, a novel inhibitor of NF-kappaB, is associated with disease severity in patients with Rheumatoid Arthritis. *J Immunol* 195(11): 5415-5420.
90. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Nucleotide excision repair [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ko03420. [Accessed 10 Mart 2021].
91. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Base excision repair [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ko03410. [Accessed 10 Mart 2021].
92. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Non-homologous end-joining [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ko03450. [Accessed 10 Mart 2021].
93. Xia S, Menden HL, Korfhagen TR, Kume T, Sampath V (2018). Endothelial immune activation programmes cell-fate decisions and angiogenesis by inducing angiogenesis regulator DLL4 through TLR4-ERK-FOXC2 signalling. *J Physiol* 596(8): 1397-1417.
94. Sabine A, Bovay E, Demir CS, Kimura W, Jaquet M, Agalarov Y, Zangger N, Scallan JP, Graber W, Gulpinar E, Kwak BR, Makinen T, Martinez-Corral I, Ortega S, Delorenzi M, Kiefer F, Davis MJ, Djonov V, Miura N, Petrova TV (2015). FOXC2 and fluid shear stress stabilize postnatal lymphatic vasculature. *J Clin Invest* 125(10): 3861-3877.
95. Magg T, Mannert J, Ellwart JW, Schmid I, Albert MH (2012). Subcellular localization of FOXP3 in human regulatory and nonregulatory T cells. *Eur J Immunol* 42(6): 1627-1638.
96. WikiPathways (2021). IL-3 signaling pathway (Mus musculus) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP373>. [Accessed 15 Mart 2021].
97. Zhao W, Kitidis C, Fleming MD, Lodish HF, Ghaffari S (2006). Erythropoietin stimulates phosphorylation and activation of GATA-1 via the PI3-kinase/AKT signaling pathway. *Blood* 107(3): 907-915.

Ek 3. (Devam)

98. Andrieux LO, Fautrel A, Bessard A, Guillouzo A, Baffet G, Langouet S (2007). GATA-1 is essential in EGF-mediated induction of nucleotide excision repair activity and ERCC1 expression through ERK2 in human hepatoma cells. *Cancer Res* 67(5): 2114-2123.
99. Kazenwadel J, Betterman KL, Chong CE, Stokes PH, Lee YK, Secker GA, Agalarov Y, Demir CS, Lawrence DM, Sutton DL, Tabruyn SP, Miura N, Salminen M, Petrova TV, Matthews JM, Hahn CN, Scott HS, Harvey NL (2015). GATA2 is required for lymphatic vessel valve development and maintenance. *J Clin Invest* 125(8): 2979-2994.
100. Tarradas A, Pinsach-Abuin ML, Mackintosh C, Llorca-Batlle O, Perez-Serra A, Batlle M, Perez-Villa F, Zimmer T, Garcia-Bassets I, Brugada R, Beltran-Alvarez P, Pagans S (2017). Transcriptional regulation of the sodium channel gene (SCN5A) by GATA4 in human heart. *J Mol Cell Cardiol* 102: 74-82.
101. Aditi, Mason AC, Sharma M, Dawson TR, Wenthe SR (2019). MAPK- and glycogen synthase kinase 3-mediated phosphorylation regulates the DEAD-box protein modulator Gle1 for control of stress granule dynamics. *J Biol Chem* 294(2): 559-575.
102. Kang Y, Kim YW, Yun J, Shin J, Kim A (2015). KLF1 stabilizes GATA-1 and TAL1 occupancy in the human beta-globin locus. *Biochim Biophys Acta* 1849(3): 282-289.
103. WikiPathways (2021). CAMKK2 Pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4874>. [Accessed 10 Mart 2021].
104. Andersen TA, Troelsen Kde L, Larsen LA (2014). Of mice and men: molecular genetics of congenital heart disease. *Cell Mol Life Sci* 71(8): 1327-1352.
105. Napoli C, Schiano C, Soricelli A (2019). Increasing evidence of pathogenic role of the Mediator (MED) complex in the development of cardiovascular diseases. *Biochimie* 165: 1-8.
106. Yuen KC, Xu B, Krantz ID, Gerton JL (2016). NIPBL controls RNA biogenesis to prevent activation of the stress kinase PKR. *Cell Rep* 14(1): 93-102.
107. Zhu Y, Denholtz M, Lu H, Murre C (2021). Calcium signaling instructs NIPBL recruitment at active enhancers and promoters via distinct mechanisms to reconstruct genome compartmentalization. *Genes Dev* 35(1-2): 65-81.

Ek 3. (Devam)

108. Francois M, Caprini A, Hosking B, Orsenigo F, Wilhelm D, Browne C, Paavonen K, Karnezis T, Shayan R, Downes M, Davidson T, Tutt D, Cheah KS, Stacker SA, Muscat GE, Achen MG, Dejana E, Koopman P (2008). Sox18 induces development of the lymphatic vasculature in mice. *Nature* 456(7222): 643-647.
109. Gong Z, Chen J (2011). E3 ligase RFWD3 participates in replication checkpoint control. *J Biol Chem* 286(25): 22308-22313.
110. Ask K, Jasencakova Z, Menard P, Feng Y, Almouzni G, Groth A (2012). Codanin-1, mutated in the anaemic disease CDAI, regulates Asf1 function in S-phase histone supply. *EMBO J* 31(8): 2013-2023.
111. Murphy ZC, Getman MR, Myers JA, Burgos Villar KN, Leshen E, Kurita R, Nakamura Y, Steiner LA (2020). Codanin-1 mutations engineered in human erythroid cells demonstrate role of CDAN1 in terminal erythroid maturation. *Exp Hematol* 91: 32-38 e36.
112. Boopathy GTK, Hong W (2019). Role of Hippo Pathway-YAP/TAZ Signaling in Angiogenesis. *Front Cell Dev Biol* 7: 49.
113. Azad T, Janse van Rensburg HJ, Lightbody ED, Neveu B, Champagne A, Ghaffari A, Kay VR, Hao Y, Shen H, Yeung B, Croy BA, Guan KL, Pouliot F, Zhang J, Nicol CJB, Yang X (2018). A LATS biosensor screen identifies VEGFR as a regulator of the Hippo pathway in angiogenesis. *Nat Commun* 9(1): 1061.
114. Toska E, Osmanbeyoglu HU, Castel P, Chan C, Hendrickson RC, Elkabets M, Dickler MN, Scaltriti M, Leslie CS, Armstrong SA, Baselga J (2017). PI3K pathway regulates ER-dependent transcription in breast cancer through the epigenetic regulator KMT2D. *Science* 355(6331): 1324-1330.
115. WikiPathways (2021). Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) signaling pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP2380>. [Accessed 10 Mart 2021].
116. Kim HK, Kim MG, Leem KH (2014). Effects of egg yolk-derived peptide on osteogenic gene expression and MAPK activation. *Molecules* 19(9): 12909-12924.
117. Kim HK, Kim MG, Leem KH (2014). Collagen hydrolysates increased osteogenic gene expressions via a MAPK signaling pathway in MG-63 human osteoblasts. *Food Funct* 5(3): 573-578.

Ek 3. (Devam)

118. Mayerhofer PU (2016). Targeting and insertion of peroxisomal membrane proteins: ER trafficking versus direct delivery to peroxisomes. *Biochim Biophys Acta* 1863(5): 870-880.
119. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Terpenoid backbone biosynthesis - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00900. [Accessed 15 Mart 2021].
120. Tricarico PM, Crovella S, Celsi F (2015). Mevalonate pathway blockade, mitochondrial dysfunction and autophagy: a possible link. *Int J Mol Sci* 16(7): 16067-16084.
121. WikiPathways (2021). Mevalonate arm of cholesterol biosynthesis pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4190>. [Accessed 10 Mart 2021].
122. WikiPathways (2021). Mevalonate pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP3963>. [Accessed 15 Mart 2021].
123. Boswell KL, James DJ, Esquibel JM, Bruinsma S, Shirakawa R, Horiuchi H, Martin TF (2012). Munc13-4 reconstitutes calcium-dependent SNARE-mediated membrane fusion. *J Cell Biol* 197(2): 301-312.
124. Messenger SW, Woo SS, Sun Z, Martin TFJ (2018). A Ca(2+)-stimulated exosome release pathway in cancer cells is regulated by Munc13-4. *J Cell Biol* 217(8): 2877-2890.
125. Linders PTA, Peters E, Ter Beest M, Lefeber DJ, van den Bogaart G (2020). Sugary logistics gone wrong: membrane trafficking and congenital disorders of glycosylation. *Int J Mol Sci* 21(13).
126. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). N-Glycan biosynthesis - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00510. [Accessed 15 Mart 2021].

Ek 3. (Devam)

127. Kadirvelraj R, Yang JY, Sanders JH, Liu L, Ramiah A, Prabhakar PK, Boons GJ, Wood ZA, Moremen KW (2018). Human N-acetylglucosaminyltransferase II substrate recognition uses a modular architecture that includes a convergent exosite. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115(18): 4637-4642.
128. WikiPathways (2021). Nicotinate metabolism (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4097>. [Accessed 10 Nisan 2021].
129. Ryu KW, Nandu T, Kim J, Challa S, DeBerardinis RJ, Kraus WL (2018). Metabolic regulation of transcription through compartmentalized NAD(+) biosynthesis. *Science* 360(6389).
130. WikiPathways (2021). NAD+ metabolism (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP3644>. [Accessed 10 Nisan 2021].
131. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Mucin type O-glycan biosynthesis - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00512. [Accessed 10 Nisan 2021].
132. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Mannose type O-glycan biosynthesis - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00515. [Accessed 10 Nisan 2021].
133. Barresi R, Campbell KP (2006). Dystroglycan: from biosynthesis to pathogenesis of human disease. *J Cell Sci* 119(Pt 2): 199-207.
134. WikiPathways (2021). Proteoglycan biosynthesis (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4784>. [Accessed 10 Nisan 2021].
135. Nizon M, Huber C, De Leonardis F, Merrina R, Forlino A, Fradin M, Tuysuz B, Abu-Libdeh BY, Alanay Y, Albrecht B, Al-Gazali L, Basaran SY, Clayton-Smith J, Desir J, Gill H, Grealley MT, Koparir E, van Maarle MC, MacKay S, Mortier G, Morton J, Sillence D, Vilain C, Young I, Zerres K, Le Merrer M, Munnich A, Le Goff C, Rossi A, Cormier-Daire V (2012). Further delineation of CANT1 phenotypic spectrum and demonstration of its role in proteoglycan synthesis. *Hum Mutat* 33(8): 1261-1266.

Ek 3. (Devam)

136. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Aminoacyl-tRNA biosynthesis - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00970. [Accessed 10 Nisan 2021].
137. WikiPathways (2021). tRNA Aminoacylation (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP1938>. [Accessed 10 Nisan 2021].
138. Lightowlers RN, Taylor RW, Turnbull DM (2015). Mutations causing mitochondrial disease: what is new and what challenges remain? *Science* 349(6255): 1494-1499.
139. Boczonadi V, Horvath R (2014). Mitochondria: impaired mitochondrial translation in human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 48: 77-84.
140. Giachin G, Jessop M, Bouverot R, Acajjaoui S, Saidi M, Chretien A, Bacia-Verloop M, Signor L, Mas PJ, Favier A, Borel Meneroud E, Hons M, Hart DJ, Kandiah E, Boeri Erba E, Buisson A, Leonard G, Gutsche I, Soler-Lopez M (2021). Assembly of the mitochondrial complex i assembly complex suggests a regulatory role for deflavination. *Angew Chem Int Ed Engl* 60(9): 4689-4697.
141. Ayuso JM, Gillette A, Lugo-Cintrón K, Acevedo-Acevedo S, Gomez I, Morgan M, Heaster T, Wisinski KB, Palecek SP, Skala MC, Beebe DJ (2018). Organotypic microfluidic breast cancer model reveals starvation-induced spatial-temporal metabolic adaptations. *EBioMedicine* 37: 144-157.
142. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Steroid hormone biosynthesis - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00140. [Accessed 10 Nisan 2021].
143. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Steroidogenic pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4463>. [Accessed 10 Nisan 2021].
144. WikiPathways (2021). Fatty acid beta oxidation (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP143>. [Accessed 10 Nisan 2021].

Ek 3. (Devam)

145. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Fatty acid degradation - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00071. [Accessed 10 Nisan 2021].
146. WikiPathways (2021). Ciliopathies (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4803>. [Accessed 10 Nisan 2021].
147. Cianfrocco MA, DeSantis ME, Leschziner AE, Reck-Peterson SL (2015). Mechanism and regulation of cytoplasmic dynein. *Annu Rev Cell Dev Biol* 31: 83-108.
148. Reck-Peterson SL, Redwine WB, Vale RD, Carter AP (2018). The cytoplasmic dynein transport machinery and its many cargoes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 19(6): 382-398.
149. Budzinska M, Wicher KB, Terenzio M (2017). Neuronal roles of the bicaudal D family of motor adaptors. *Vitam Horm* 104: 133-152.
150. Fry AM, O'Regan L, Sabir SR, Bayliss R (2012). Cell cycle regulation by the NEK family of protein kinases. *J Cell Sci* 125(Pt 19): 4423-4433.
151. Kageyama H, Miyajima M, Ogino I, Nakajima M, Shimoji K, Fukai R, Miyake N, Nishiyama K, Matsumoto N, Arai H (2016). Panventriculomegaly with a wide foramen of Magendie and large cisterna magna. *J Neurosurg* 124(6): 1858-1866.
152. Roberts AJ (2018). Emerging mechanisms of dynein transport in the cytoplasm versus the cilium. *Biochem Soc Trans* 46(4): 967-982.
153. WikiPathways (2021). Intraflagellar transport proteins binding to dynein (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4532>. [Accessed 10 Nisan 2021].
154. WikiPathways (2021). Genes related to primary cilium development (based on CRISPR) (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4536>. [Accessed 10 Nisan 2021].
155. Reiter JF, Leroux MR (2017). Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18(9): 533-547.

Ek 3. (Devam)

156. Yin Y, Bangs F, Paton IR, Prescott A, James J, Davey MG, Whitley P, Genikhovich G, Technau U, Burt DW, Tickle C (2009). The TALPID3 gene (KIAA0586) encodes a centrosomal protein that is essential for primary cilia formation. *Development* 136(4): 655-664.
157. Kobayashi T, Kim S, Lin YC, Inoue T, Dynlacht BD (2014). The CP110-interacting proteins TALPID3 and CEP290 play overlapping and distinct roles in cilia assembly. *J Cell Biol* 204(2): 215-229.
158. Yan H, Chen C, Chen H, Hong H, Huang Y, Ling K, Hu J, Wei Q (2020). TALPID3 and ANKRD26 selectively orchestrate FBF1 localization and cilia gating. *Nat Commun* 11(1): 2196.
159. WikiPathways (2021). Sialic acid metabolism (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP3363>. [Accessed 12 Nisan 2021].
160. Pshezhetsky AV, Hinek A (2009). Serine carboxypeptidases in regulation of vasoconstriction and elastogenesis. *Trends Cardiovasc Med* 19(1): 11-17.
161. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Sphingolipid metabolism - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00600. [Accessed 12 Nisan 2021].
162. Bennisroune A, Romier-Crouzet B, Blaise S, Laffargue M, Efremov RG, Martiny L, Maurice P, Duca L (2019). Elastic fibers and elastin receptor complex: Neuraminidase-1 takes the center stage. *Matrix Biol* 84: 57-67.
163. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Glycosaminoglycan degradation - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00531. [Accessed 12 Nisan 2021].
164. WikiPathways (2021). Glycosaminoglycan degradation (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4815>. [Accessed 12 Nisan 2021].
165. WikiPathways (2021). Sphingolipid pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP1422>. [Accessed 12 Nisan 2021].

Ek 3. (Devam)

166. WikiPathways (2021). Glycogen metabolism (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4072>. [Accessed 13 Nisan 2021].
167. van der Ploeg AT, Reuser AJ (2008). Pompe's disease. *Lancet* 372(9646): 1342-1353.
168. WikiPathways (2021). Plasma lipoprotein assembly, remodeling, and clearance (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4129>. [Accessed 14 Nisan 2021].
169. Pfeffer SR (2019). NPC intracellular cholesterol transporter 1 (NPC1)-mediated cholesterol export from lysosomes. *J Biol Chem* 294(5): 1706-1709.
170. WikiPathways (2021). Asparagine N-linked glycosylation (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP1785>. [Accessed 14 Nisan 2021].
171. de la Morena-Barrio ME, Hernandez-Caselles T, Corral J, Garcia-Lopez R, Martinez-Martinez I, Perez-Duenas B, Altisent C, Sevivas T, Kristensen SR, Guillen-Navarro E, Minano A, Vicente V, Jaeken J, Lozano ML (2013). GPI-anchor and GPI-anchored protein expression in PMM2-CDG patients. *Orphanet J Rare Dis* 8: 170.
172. Harada Y, Ohkawa Y, Kizuka Y, Taniguchi N (2019). Oligosaccharyltransferase: a gatekeeper of health and tumor progression. *Int J Mol Sci* 20(23).
173. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor biosynthesis - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00563. [Accessed 15 Nisan 2021].
174. Kinoshita T (2020). Biosynthesis and biology of mammalian GPI-anchored proteins. *Open Biol* 10(3): 190290.
175. Eisenhaber B, Sinha S, Wong WC, Eisenhaber F (2018). Function of a membrane-embedded domain evolutionarily multiplied in the GPI lipid anchor pathway proteins PIG-B, PIG-M, PIG-U, PIG-W, PIG-V, and PIG-Z. *Cell Cycle* 17(7): 874-880.
176. Schlotawa L, Adang LA, Radhakrishnan K, Ahrens-Nicklas RC (2020). Multiple sulfatase deficiency: a disease comprising mucopolysaccharidosis, sphingolipidosis, and more caused by a defect in posttranslational modification. *Int J Mol Sci* 21(10).

Ek 3. (Devam)

177. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Protein processing in endoplasmic reticulum - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04141. [Accessed 15 Nisan 2021].
178. WikiPathways (2021). Sterol regulatory element-binding proteins (SREBP) signalling (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP1982>. [Accessed 15 Nisan 2021].
179. WikiPathways (2021). Ethanol effects on histone modifications (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP3996>. [Accessed 15 Nisan 2021].
180. WikiPathways (2021). Trans-sulfuration pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4253>. [Accessed 15 Nisan 2021].
181. WikiPathways (2021). Glycogen synthesis and degradation (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP500>. [Accessed 15 Nisan 2021].
182. Souza PVS, Badia BML, Farias IB, Pinto W, Oliveira ASB, Akman HO, DiMauro S (2020). GBE1-related disorders: Adult polyglucosan body disease and its neuromuscular phenotypes. *J Inherit Metab Dis*.
183. Gaspersic J, Kristan A, Kunej T, Zupan IP, Debeljak N (2020). Erythrocytosis: genes and pathways involved in disease development. *Blood Transfus*.
184. WikiPathways (2021). Trans-sulfuration and one carbon metabolism (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP2525>. [Accessed 20 Nisan 2021].
185. WikiPathways (2021). Serine Metabolism (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4688>. [Accessed 20 Nisan 2021].
186. Yang M, Vousden KH (2016). Serine and one-carbon metabolism in cancer. *Nat Rev Cancer* 16(10): 650-662.

Ek 3. (Devam)

187. Vandekeere S, Dubois C, Kalucka J, Sullivan MR, Garcia-Caballero M, Goveia J, Chen R, Diehl FF, Bar-Lev L, Souffreau J, Pircher A, Kumar S, Vinckier S, Hirabayashi Y, Furuya S, Schoonjans L, Eelen G, Ghesquiere B, Keshet E, Li X, Vander Heiden MG, Dewerchin M, Carmeliet P (2018). Serine Synthesis via PHGDH Is Essential for Heme Production in Endothelial Cells. *Cell Metab* 28(4): 573-587 e513.
188. WikiPathways (2021). Glycolysis and gluconeogenesis (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP534>. [Accessed 20 Nisan 2021].
189. Al-Samkari H, Van Beers EJ, Kuo KHM, Barcellini W, Bianchi P, Glenthøj A, Del Mar Manu Pereira M, Van Wijk R, Glader B, Grace RF (2020). The variable manifestations of disease in pyruvate kinase deficiency and their management. *Haematologica* 105(9): 2229-2239.
190. WikiPathways (2021). Pentose phosphate pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4050>. [Accessed 20 Nisan 2021].
191. WikiPathways (2021). Heme biosynthesis (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP561>. [Accessed 20 Nisan 2021].
192. Donegan RK, Moore CM, Hanna DA, Reddi AR (2019). Handling heme: the mechanisms underlying the movement of heme within and between cells. *Free Radic Biol Med* 133: 88-100.
193. WikiPathways (2021). Metabolism of water-soluble vitamins and cofactors (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP1857>. [Accessed 20 Nisan 2021].
194. Mah W, Deme JC, Watkins D, Fung S, Janer A, Shoubridge EA, Rosenblatt DS, Coulton JW (2013). Subcellular location of MMACHC and MMADHC, two human proteins central to intracellular vitamin B(12) metabolism. *Mol Genet Metab* 108(2): 112-118.

Ek 3. (Devam)

195. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Fructose and mannose metabolism - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00051. [Accessed 20 Nisan 2021].
196. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Sphingolipid signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04071. [Accessed 20 Nisan 2021].
197. WikiPathways (2021). Sphingolipid metabolism (integrated pathway) (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP4726>. [Accessed 20 Nisan 2021].
198. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Steroid biosynthesis - Homo sapiens (human) [online]. Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00100. [Accessed 20 Nisan 2021].
199. Duffy SP, Shing J, Saraon P, Berger LC, Eiden MV, Wilde A, Tailor CS (2010). The fowler syndrome-associated protein FLVCR2 is an importer of heme. *Mol Cell Biol* 30(22): 5318-5324.
200. Chiabrando D, Fiorito V, Petrillo S, Tolosano E (2018). Unraveling the role of heme in neurodegeneration. *Front Neurosci* 12: 712.
201. Ohana E, Shcheynikov N, Park M, Muallem S (2012). Solute carrier family 26 member a2 (Slc26a2) protein functions as an electroneutral SO₄Formate/OH⁻/Cl⁻ exchanger regulated by extracellular Cl⁻. *J Biol Chem* 287(7): 5122-5132.
202. Tanneberger K, Pfister AS, Brauburger K, Schneikert J, Hadjihannas MV, Kriz V, Schulte G, Bryja V, Behrens J (2011). Amer1/WTX couples WNT-induced formation of PtdIns(4,5)P₂ to LRP6 phosphorylation. *EMBO J* 30(8): 1433-1443.
203. Segawa K, Kurata S, Yanagihashi Y, Brummelkamp TR, Matsuda F, Nagata S (2014). Caspase-mediated cleavage of phospholipid flippase for apoptotic phosphatidylserine exposure. *Science* 344(6188): 1164-1168.
204. Segawa K, Kurata S, Nagata S (2016). Human type IV P-type ATPases that work as plasma membrane phospholipid flippases and their regulation by caspase and calcium. *J Biol Chem* 291(2): 762-772.

Ek 3. (Devam)

205. Bartoloni L, Blouin JL, Maiti AK, Sainsbury A, Rossier C, Gehrig C, She JX, Marron MP, Lander ES, Meeks M, Chung E, Armengot M, Jorissen M, Scott HS, Delozier-Blanchet CD, Gardiner RM, Antonarakis SE (2001). Axonemal beta heavy chain dynein DNAH9: cDNA sequence, genomic structure, and investigation of its role in primary ciliary dyskinesia. *Genomics* 72(1): 21-33.
206. Fassad MR, Shoemark A, Legendre M, Hirst RA, Koll F, le Borgne P, Louis B, Daudvohra F, Patel MP, Thomas L, Dixon M, Burgoyne T, Hayes J, Nicholson AG, Cullup T, Jenkins L, Carr SB, Aurora P, Lemullois M, Aubusson-Fleury A, Papon JF, O'Callaghan C, Amselem S, Hogg C, Escudier E, Tassin AM, Mitchison HM (2018). Mutations in outer dynein arm heavy chain DNAH9 cause motile cilia defects and situs inversus. *Am J Hum Genet* 103(6): 984-994.
207. Paquin MC, Cagnol S, Carrier JC, Leblanc C, Rivard N (2013). ERK-associated changes in E2F4 phosphorylation, localization and transcriptional activity during mitogenic stimulation in human intestinal epithelial crypt cells. *BMC Cell Biol* 14: 33.
208. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Estrogen signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: <https://www.genome.jp/pathway/hsa04915>. [Accessed 20 Nisan 2021].
209. Kennedy D, Mnich K, Oommen D, Chakravarthy R, Almeida-Souza L, Krols M, Saveljeva S, Doyle K, Gupta S, Timmerman V, Janssens S, Gorman AM, Samali A (2017). HSPB1 facilitates ERK-mediated phosphorylation and degradation of BIM to attenuate endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *Cell Death Dis* 8(8): e3026.
210. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). VEGF signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: <https://www.genome.jp/pathway/hsa04370>. [Accessed 20 Nisan 2021].
211. WikiPathways (2021). p38 MAPK signaling pathway (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP400>. [Accessed 20 Nisan 2021].

Ek 3. (Devam)

212. WikiPathways (2021). Hematopoietic stem cell differentiation (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP2849>. [Accessed 20 Nisan 2021].
213. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Vascular smooth muscle contraction - Homo sapiens (human) [online]. Available from: <https://www.genome.jp/pathway/hsa04270>. [Accessed 12 Ekim 2021].
214. Wiesel-Motiuk N, Assaraf YG (2020). The key roles of the lysine acetyltransferases KAT6A and KAT6B in physiology and pathology. *Drug Resist Updat* 53: 100729.
215. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Neurotrophin signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: <https://www.genome.jp/pathway/hsa04722>. [Accessed 12 Ekim 2021].
216. Koneczny I, Cossins J, Vincent A (2014). The role of muscle-specific tyrosine kinase (MuSK) and mystery of MuSK myasthenia gravis. *J Anat* 224(1): 29-35.
217. An H, Fan C, Sharif M, Kim D, Poitelon Y, Park Y (2020). Functional mechanism and pathogenic potential of MYRF ICA domain mutations implicated in birth defects. *Sci Rep* 10(1): 814.
218. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Thermogenesis - Homo sapiens (human) [online]. Available from: <https://www.genome.jp/pathway/hsa04714>. [Accessed 12 Ekim 2021].
219. Hassel D, Dahme T, Erdmann J, Meder B, Huge A, Stoll M, Just S, Hess A, Ehlermann P, Weichenhan D, Grimmmler M, Liptau H, Hetzer R, Regitz-Zagrosek V, Fischer C, Nurnberg P, Schunkert H, Katus HA, Rottbauer W (2009). Nexilin mutations destabilize cardiac Z-disks and lead to dilated cardiomyopathy. *Nat Med* 15(11): 1281-1288.
220. Delling M, DeCaen PG, Doerner JF, Febvay S, Clapham DE (2013). Primary cilia are specialized calcium signalling organelles. *Nature* 504(7479): 311-314.
221. Masyuk AI, Gradilone SA, LaRusso NF (2014). Calcium signaling in cilia and ciliary-mediated intracellular calcium signaling: are they independent or coordinated molecular events? *Hepatology* 60(5): 1783-1785.

Ek 3. (Devam)

222. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Natural killer cell mediated cytotoxicity - Homo sapiens (human) [online]. Available from: <https://www.genome.jp/pathway/hsa04650>. [Accessed 13 Ekim 2021].
223. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). AMPK signaling pathway - Homo sapiens (human) [online]. Available from: <https://www.genome.jp/pathway/hsa04152>. [Accessed 13 Ekim 2021].
224. WikiPathways (2021). Target of rapamycin (TOR) signaling (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP1471>. [Accessed 13 Ekim 2021].
225. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (2021). Ribosome - Homo sapiens (human) [online]. Available from: <https://www.genome.jp/pathway/hsa03010>. [Accessed 14 Ekim 2021].
226. Fukunaka A, Suzuki T, Kurokawa Y, Yamazaki T, Fujiwara N, Ishihara K, Migaki H, Okumura K, Masuda S, Yamaguchi-Iwai Y, Nagao M, Kambe T (2009). Demonstration and characterization of the heterodimerization of ZnT5 and ZnT6 in the early secretory pathway. *J Biol Chem* 284(45): 30798-30806.
227. Zhou Q, Heinke J, Vargas A, Winnik S, Krauss T, Bode C, Patterson C, Moser M (2007). ERK signaling is a central regulator for BMP-4 dependent capillary sprouting. *Cardiovasc Res* 76(3): 390-399.
228. Yoshitomi Y, Ikeda T, Saito-Takatsuji H, Yonekura H (2021). Emerging role of AP-1 transcription factor JunB in angiogenesis and vascular development. *Int J Mol Sci* 22(6).
229. WikiPathways (2021). Interactome of polycomb repressive complex 2 (PRC2) (Homo sapiens) [online]. Available from: <https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP2916>. [Accessed 15 Ekim 2021].
230. Steimle JD, Moskowitz IP (2017). TBX5: A key regulator of heart development. *Curr Top Dev Biol* 122: 195-221.
231. Liu X, Tsai B (2020). UBQLN4 facilitates endoplasmic reticulum-to-cytosol escape of a nonenveloped virus during infection. *J Virol* 94(11).

Ek 3. (Devam)

232. Huang S, Dong X, Wang J, Ding J, Li Y, Li D, Lin H, Wang W, Zhao M, Chang Q, Zhou N, Cui W, Huang C (2018). Overexpression of the Ubiquilin-4 (UBQLN4) is associated with cell cycle arrest and apoptosis in human normal gastric epithelial cell lines GES-1 cells by activation of the ERK signaling pathway. *Med Sci Monit* 24: 3564-3570.
233. Liu K, Jian Y, Sun X, Yang C, Gao Z, Zhang Z, Liu X, Li Y, Xu J, Jing Y, Mitani S, He S, Yang C (2016). Negative regulation of phosphatidylinositol 3-phosphate levels in early-to-late endosome conversion. *J Cell Biol* 212(2): 181-198.
234. Fujino M, Li XK (2013). Role of STAT3 in regulatory T lymphocyte plasticity during acute graft-vs.-host-disease. *JAKSTAT* 2(4): e24529.
235. Severance S, Hamza I (2009). Trafficking of heme and porphyrins in metazoa. *Chem Rev* 109(10): 4596-4616.
236. Fleming MD, Hamza I (2012). Mitochondrial heme: an exit strategy at last. *J Clin Invest* 122(12): 4328-4330.
237. Da Costa L, Leblanc T, Mohandas N (2020). Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 136(11): 1262-1273.
238. Rio S, Gastou M, Karboul N, Derman R, Suriyun T, Manceau H, Leblanc T, El Benna J, Schmitt C, Azouzi S, Larghero J, Karim Z, Macias-Garcia A, Chen JJ, Hermine O, Courtois G, Puy H, Gouya L, Mohandas N, Da Costa L (2019). Regulation of globin-heme balance in Diamond-Blackfan anemia by HSP70/GATA1. *Blood* 133(12): 1358-1370.
239. Lee YJ (2020). Cell fate determination of lymphatic endothelial cells. *Int J Mol Sci* 21(13).
240. Beemiller P, Zhang Y, Mohan S, Levinsohn E, Gaeta I, Hoppe AD, Swanson JA (2010). A Cdc42 activation cycle coordinated by PI3-kinase during Fc receptor-mediated phagocytosis. *Mol Biol Cell* 21(3): 470-480.
241. Doshi BM, Hightower LE, Lee J (2010). HSPB1, actin filament dynamics, and aging cells. *Ann N Y Acad Sci* 1197: 76-84.
242. Weston CA, Teressa G, Weeks BS, Prives J (2007). Agrin and laminin induce acetylcholine receptor clustering by convergent, Rho GTPase-dependent signaling pathways. *J Cell Sci* 120(Pt 5): 868-875.

243. Bezakova G, Ruegg MA (2003). New insights into the roles of agrin. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4(4): 295-308.



sunum, Türkçe) XVI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi. 27-30 Ekim 2019.
Muğla, Türkiye

KURSLAR

1. Deney Hayvanları Kullanımı Kursu, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2019.
2. LEICA SP8 Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2019
3. A Global Galaxy Course, Online,2021

BİLİMSEL KURULUŞLARA ÜYELİKLER

2018 - Halen Tıbbi Biyoloji ve Genetik Derneği

