



T.C

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**OTOZOMAL DOMİNANT POLİKİSTİK BÖBREK
HASTALIĞI TANILI OLGULARDA YENİ NESİL DİZİLEME İLE
SAPTANAN *PKD1* VE *PKD2* GEN VARYANTLARININ
RETROSPEKTİF ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Kübra BAYSAL

Tez Danışmanı

Prof. Dr. İbrahim TEKEDERELİ

Malatya-2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı	3
2.1.1. Epidemiyoloji	3
2.1.2. Genetik	4
2.1.3. Patofizyoloji	10
2.1.4. Klinik Bulgular	16
2.1.5. Tanı	19
2.1.6. Tedavi	20
2.2.Yeni Nesil Dizileme Yöntemi	22
2.3.Amaç	26
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1. Hasta Seçimi	27
3.2. Verilerin toplanması	27
3.3. Genomik DNA izolasyonu	28
3.3.1. DNA Miktar ve Kalitesinin Belirlenmesi	28
3.4. Yeni Nesil Dizileme	29
3.4.1.Kütüphane Hazırlığı	29
3.4.2. Dizileme	35
3.5. YND Verilerinin Biyoinformatik Analizi	35
3.6. YND Varyantlarının Sınıflandırılması	36
3.7. Klinik Önemi Bilinmeyen Varyantlarının tekrar analizi	39
3.8.Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analiz	39
3.9.Etik Kurul Onayı	39
4.BULGULAR	40
4.1.Demografik Özellikler	40

4.2.Yeni Nesil Dizileme Bulguları-----	43
4.2.1. Hasta 1 -----	68
4.2.2. Hasta 2 -----	69
4.2.3. Hasta 3 -----	70
4.2.4. Hasta 5 -----	71
4.2.5. Hasta 6 -----	71
4.2.6. Hasta 7 -----	72
4.2.7. Hasta 8 -----	73
4.2.8. Hasta 9 -----	73
4.2.9. Hasta 10 -----	74
4.2.10. Hasta 11 ve Hasta 25 -----	75
4.2.11. Hasta 12 -----	76
4.2.12. Hasta 14 -----	76
4.2.13. Hasta 15 -----	77
4.2.14. Hasta 16, Hasta 26, Hasta 35, Hasta 38 ve Hasta 47 -----	78
4.2.15. Hasta 17 -----	80
4.2.16. Hasta 18 -----	80
4.2.17. Hasta 22 -----	81
4.2.18. Hasta 23 -----	82
4.2.19. Hasta 24 -----	83
4.2.20. Hasta 30 -----	84
4.2.21. Hasta 31 -----	85
4.2.22. Hasta 33 -----	85
4.2.23. Hasta 37 -----	86
4.2.24. Hasta 39 -----	87
4.2.25. Hasta 40 -----	87
4.2.26. Hasta 41 -----	88
4.2.27. Kontrollerde saptanan Yeni varyantların görüntüsü -----	89
5.TARTIŞMA -----	90
6.SONUÇ VE ÖNERİLER -----	101
KAYNAKLAR-----	103
EKLER-----	110
EK-1. Etik Kurul Kararı-----	110

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bana yol gösteren ve tıpta uzmanlık eğitiminde bana bilgi ve tecrübesiyle destek olan kıymetli hocam Prof. Dr. İbrahim Tekedereli'ye,

Tıpta uzmanlık eğitimimde katkı gösteren Prof. Dr. Elif Yeşilada, Prof. Dr. Ahmet Koç, Prof. Dr. Şengül Yüksel, Dr. Öğr Üyesi Cemal Ekici başta olmak üzere tüm İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı çalışanlarına,

Asistanlık hayatım boyunca birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Tüm hayatım boyunca desteklerini her zaman arkamda hissettiğim ve beni koşulsuz seven canım ailem, annem Bedia Gedik, babam Zekeriya Gedik, kardeşlerim Hilal ve Betül Gedik'e,

Her koşulda yanımda olup bana destek olan sevgili eşim Harun ve biricik kızım Zeynep'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı Tanılı Olgularda Yeni Nesil Dizileme ile Saptanan *PKD1* ve *PKD2* Gen Varyantlarının Retrospektif Araştırılması

Amaç: Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı, progresif böbrek kistleri ve böbrek yetmezliği ile karakterize multisistemik, klinik ve genetik olarak heterojen bir hastalıktır. Prevelansı 1/1000-1/2500'dür. Çoğunlukla *PKD1* ve *PKD2* genlerinde meydana gelen mutasyonlarla ortaya çıkmaktadır. Genetik testler ile erken dönemde hastalığın tanısının konması, hastaların prognozunu tahmin etmede, ileride gelişebilecek komplikasyonların önlenmesinde ve üreme danışmanlığı açısından oldukça önemlidir. Bu tez çalışmasında amaç ODPBH ön tanısı konulan hastalarda yeni nesil dizileme verileri retrospektif olarak incelenerek saptanan varyantları araştırmak, sınıflandırmak, yeni varyantları literatüre kazandırmak ve *PKD1* ve *PKD2* dizi analizinin tanısal değerini ortaya koymaktır. Böylece hastalık patofizyolojisinin altında yatan genetik çeşitliği ortaya koymak ve hasta yönetimini geliştirmek planlanmaktadır.

Materyal metot: Bu çalışmaya İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Polikliniği'nde 2017-2022 tarihleri arasında ODPBH açısından YND ile *PKD1* ve *PKD2* dizi analizi çalışılmış 48 hasta ve farklı nedenlerle aynı YND testi çalışılmış 48 benzer yaşta kontrol dahil edildi. Hastaların ve kontrollerin demografik özellikleri, aile öyküsü ve YND verileri retrospektif olarak incelendi. Patojenik, muhtemel patojenik ve klinik önemi bilinmeyen varyantlar ile tanı oranı hesaplandı.

Bulgular: *PKD1*'de 85, *PKD2*'de 12 varyant saptandı. Bunların 63'ü Benign, Muhtemel Benign olarak sınıflandırıldı. 34 mutasyonun 11'i patojenik, 11'i muhtemel patojenik, 12'si klinik önemi bilinmeyendir. En sık rastlanan mutasyonlar *PKD1*-missense (%38,8), *PKD1*-nonsense (%26,4) ve *PKD1*-frameshifttir (%17,6). Kontrol grubunda 67 varyant saptandı. Toplamda *PKD1*'de 12 yeni varyant görüldü. 27 hastada (%56,25) patojenik+muhtemel patojenik 8 hastada VUS varyant saptandı. Nedensel mutasyon görülen 35 hastanın (%72,9), 26'sında (%74,2) *PKD1*, 9'unda (%25,7) *PKD2* mutasyonu mevcuttu.

Sonuç: Bu çalışmayla Türk popülasyonunda ODPBH altında yatan genetik çeşitliliği gösterdik.

Anahtar Kelimeler: Otozomal Dominant polikistik böbrek hastalığı, ODPBH, *PKD1*, *PKD2*, yeni nesil dizileme

ABSTRACT

Retrospective Investigation of *PKD1* and *PKD2* Gene Variants Detected by Next Generation Sequencing in Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease

Aim: Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease, is a multisystemic, clinically and genetically heterogeneous disease characterized by progressive renal cysts and renal failure. Its prevalence is 1/1000-1/2500. It mostly occurs due to mutations in *PKD1* and *PKD2* genes. Early diagnosis of the disease with genetic tests is very important in predicting the prognosis of patients and reproductive counseling. In this thesis, we aimed to retrospectively analyze the Next Generation Sequencing data in patients with ADPKD, to investigate and classify the detected variants, to bring new variants to the literature and to reveal the diagnostic value of *PKD1* and *PKD2* sequence analysis. Thus, it is planned to reveal the genetic diversity underlying the pathophysiology of the disease and to improve patient management.

Material and Method: This study included 48 patients who underwent *PKD1* and *PKD2* sequence analysis in terms of ADPKD between 2017-2022 in İnönü University Faculty of Medicine Medical Genetics Polyclinic, and 48 aged matched controls who had the same NGS test for different clinic reasons. Demographic characteristics, family history and NGS data of patients and controls were reviewed retrospectively. Diagnosis rate was calculated with pathogenic, likely pathogenic and variant of unknown significance variants.

Results: A total of 85 variants were detected in *PKD1* and 12 variants in *PKD2*. 63 of them were classified as benign, likely benign. Of the 34 mutations, 11 were P, 11 were MP, and 12 were VUS, and the most common mutations were *PKD1*-missense (38.8%), *PKD1*-nonsense (26.4%) and *PKD1*-frameshift (17.6%). 67 variants were detected in the control group. In total, 12 novel variants detected in *PKD1*. P+MP variant was detected in 27 patients (56.25%) and VUS variant was detected in 8 patients. Of the 35 patients (72.9%) with a causative mutation, 26 (74.2%) had *PKD1*, 9 (25.7%) had *PKD2* mutations.

Conclusion: This study demonstrate the genetic diversity underlying ADPKD in the Turkish population.

Keywords: Autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD, *PKD1*, *PKD2*, next generation sequencing

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

aa: aminoasit

AC6: Adenilat siklaz 6

ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics

ADPKD: Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease

AE: Analiz edilmedi

B: Benign

BA1: Tek başına yeterli benign

BAM: Binary Alignment Map

BP: Destekleyici benign

BS: Güçlü Benign

cAMP: siklik AMP

CNV: Kopya numarası varyasyonları

EDTA: Ethylene diamine tetra acetic acid

ER: Endoplazmik Retikulum

FERA: Fragmentation, end-repair, and A-addition

FISH: Floresan in situ hibridizasyon

GAIN: GPCR otoproteoliz indükleyici bölge

GFH: Glomerüler Filtrasyon Hızı

GnomAD: Genom Toplama Veritabanı

HGMD: Human Gene Mutation Database

IGV: Bütünleştirici Genomik Görüntüleyici

kb: kilobaz

kD: kilodalton

LVH: Sol Ventrikül Hipertrofisi

bç: Baz çifti

İKA: İntrakraniyal anevrizmalar

İYE: İdrar yolu enfeksiyonları

Maks: Maksimum

MB: Muhtemel Benign

Min: Minumum

MLPA: Multipleks ligasyona bağlı prob amplifikasyonu

MP: Muhtemel patojenik

MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme
mTOR: rapamisinin mekanik hedefi
µl: mikrolitre
NGS: Next Generation Sequencing
nM: nanomolar
NO: Nitrik Oksit
NTC: No template control
OD: Otozomal dominant
OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man
OR: Otozomal resesif
ODPBH: Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı
QCI: Qiagen Clinical Insight
P: Patojenik
PBH: Polikistik Böbrek Hastalığı
PC1: Polikistin-1
PC2: Polikistin 2
PKH: Polikistik Karaciğer Hastalığı
pM: pikomolar
PM: Orta patojenik
PP: Destekleyici patojenik
PS: Güçlü patojenik
PVS1: Çok güçlü patojenik
PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAAS: Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi
REJ: Receptor for Egg Jelly
SDBY: Son Dönem Böbrek Yetmezliği
TCF: T hücre faktörü
TED: Tüm Ekzom Dizileme
TDY: Tanımlanmış domain yok
TSC: Tüberoskleroz kompleksi
U: Ulaşılamadı
UMI: Unique Molecular Indices
USG: Ultrasonografi
WES: Whole-Exome Sequencing

WGS: Whole-Genome Sequencing
WSC: cell wall integrity and stress component
VCF: Variant Calling File
VDKH: Vasküler Düz Kas Hücreleri
VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VUS: Klinik önemi bilinmeyen
YND: Yeni Nesil Dizileme



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1	PC1 ve PC2'nin yapısı.....6
Şekil 2.2	ODPBH fenotipini etkileyen çeşitli faktörler 10
Şekil 2.3	a.Kist oluşumu ve büyümesinde rol alan mekanizmalar, b.primier silyanın yapısı ile PC1 ve PC2'nin silyada lokalizasyonu.....12
Şekil 3.1	QIAseq Library Quant Assay Kit düzeni (Rotor 72).....34
Şekil 4.1	Çalışmaya dahil edilen hastaların ve kontrollerin cinsiyet dağılımı.....40
Şekil 4.2	Çalışmaya dahil edilen hastaların başlangıç şikayeti dağılımı.....41
Şekil 4.3	Aile öyküsü ile hastaların tanı alma durumunun karşılaştırılması.....43
Şekil 4.4	Hastalarda ve kontrollerde saptanan <i>PKD1</i> varyantlarının ACMG sınıflaması.....43
Şekil 4.5	Hastalarda tespit edilen VUS varyantların yeniden analiz sonrası değişimi.....44
Şekil 4.6	Hastalarda saptanan P, MP, VUS varyantların cinsiyetler ile ilişkisi...44
Şekil 4.7	Hastalarda ve kontrollerde saptanan <i>PKD1</i> varyantlarının tiplerine göre dağılımı.....45
Şekil 4.8	<i>PKD1</i> 'de saptanan P, MP ve VUS varyantların dağılımı.....45
Şekil 4.9	Ekzonlara göre <i>PKD1</i> varyant frekansları 46
Şekil 4.10	Hastalarda ve kontrollerde saptanan <i>PKD2</i> varyantlarının ACMG sınıflaması 56
Şekil 4.11	Hastalarda ve kontrollerde saptanan <i>PKD2</i> varyantlarının tiplerine göre dağılımı.....56
Şekil 4.12	Tekrar analiz edilen VUS varyantların patojenite sınıflaması.....61
Şekil 4.13	Çalışmamızda saptanan <i>PKD1</i> ve <i>PKD2</i> varyantlarının tiplerine göre ve hastalar arasında dağılımı 67
Şekil 4.14	<i>PKD1</i> c.11623G>A, (p.A3875T) homozigot varyantının BAM görüntüsü 68
Şekil 4.15	<i>PKD1</i> c.9034A>G, (p.T3012A) heterozigot varyantının BAM görüntüsü 69
Şekil 4.16	<i>PKD1</i> c.8620G>A, (p.V2874M) heterozigot varyantının BAM görüntüsü.....70
Şekil 4.17	<i>PKD1</i> c.6657_6671delGCGGCTG..., (p.R2220_P2224del) heterozigot

	varyantının BAM görüntüsü.....	71
Şekil 4.18	<i>PKD1</i> c.9710dupC, (p.S3238fs*15) heterozigot varyantının BAM görüntüsü.....	71
Şekil 4.19	<i>PKD1</i> c.7816C>T, (p.Q2606*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü	72
Şekil 4.20	<i>PKD1</i> c.9195_9196delGTinsCC, (p.F3066L) heterozigot varyantının BAM görüntüsü	73
Şekil 4.21	<i>PKD2</i> c.65G>A, (p.R22H) heterozigot varyantının BAM görüntüsü....	73
Şekil 4.22	<i>PKD1</i> c.10900C>G, (p.P3634A) heterozigot yeni varyantının BAM görüntüsü.....	74
Şekil 4.23	<i>PKD1</i> c.11461C>T, (p.Q3821*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü.....	75
Şekil 4.24	<i>PKD1</i> c.12031C>T, (p.Q4011*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü	75
Şekil 4.25	<i>PKD1</i> c.8311G>A, (p.E2771K) heterozigot varyantı BAM görüntüsü.....	76
Şekil 4.26	<i>PKD1</i> c.1522T>C, (p.C508R) heterozigot varyantının BAM görüntüsü.....	77
Şekil 4.27	<i>PKD1</i> c.9578C>G, (p.P3193R) heterozigot varyantının BAM görüntüsü.....	77
Şekil 4.28	<i>PKD2</i> c.1390C>T, (p.R464*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü	78
Şekil 4.29	<i>PKD1</i> c.796C>T, (p.Q266*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü	79
Şekil 4.30	<i>PKD1</i> c.2527T>C, (p.S843P) heterozigot varyantının BAM görüntüsü.....	80
Şekil 4.31	<i>PKD1</i> c.12682C>T, (p.R4228*) heterozigot varyantı BAM görüntüsü	81
Şekil 4.32	<i>PKD1</i> c.6727_6728delCA, (p.Q2243fs*18) heterozigot varyantı BAM Görüntüsü	81
Şekil 4.33	<i>PKD1</i> c.5476delT, (p.W1826fs*10) heterozigot yeni varyantının BAM görüntüsü.....	82
Şekil 4.34	<i>PKD1</i> ekzon 15'te c.3804G>T, (p.Q1268H) yeni heterozigot varyantı	

	BAM görüntüsü	83
Şekil 4.35	<i>PKD2</i> c. .958C>T, (p.R320*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü	83
Şekil 4.36	<i>PKD1</i> c.412C>T, (p.R138*) heterozigot varyantı IGV görüntüsü.....	84
Şekil 4.37	<i>PKD1</i> c.5722C>T, (p.Q1908*) heterozigot varyantı IGV görüntüsü	85
Şekil 4.38	<i>PKD1</i> c.6487C>T, (p.R2163*) heterozigot varyantı IGV görüntüsü	85
Şekil 4.39	<i>PKD1</i> c.6553T>G, (p.Y2185D) heterozigot varyantı IGV görüntüsü	86
Şekil 4.40	<i>PKD1</i> c.10631dupG, (p.L3545Sfs*82) yeni varyantının IGV görüntüsü	87
Şekil 4.41	<i>PKD1</i> c.9898G>A, (p.G3300R) heterozigot varyantı IGV görüntüsü	88
Şekil 4.42	<i>PKD1</i> , c.3081G>C, (p.V1027V) heterozigot yeni varyantının BAM görüntüsü.....	88
Şekil 4.43	<i>PKD1</i> , c.759A>C, (p.P253P) heterozigot yeni varyantının BAM görüntüsü	89
Şekil 4.44	<i>PKD1</i> , c.10364T>G, (p.L3455R) heterozigot yeni varyantının BAM görüntüsü.....	89

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1 Varyantlar değerdendirilirken kullanılan veri tabanları.....	24
Tablo 2.2 Varyantlar değerdendirilirken kullanılan in siliko tahmin araçları.....	25
Tablo 3.1 Fragmantasyon, uç-tamiri ve A-ekleme reaksiyon karışımı.....	30
Tablo 3.2 Fragmantasyon, uç-tamiri ve A-ekleme için PZR döngüsü.....	30
Tablo 3.3 Adaptör ligasyonu için reaksiyon karışımı.....	30
Tablo 3.4 DNA ligasyonu için inkübasyon şartları.....	31
Tablo 3.5 Hedef zenginleştirme için reaksiyon karışımı.....	31
Tablo 3.6 Hedef zenginleştirme PZR protokolü.....	32
Tablo 3.7 Universal PZR reaksiyon karışımı	32
Tablo 3.8 Universal PZR döngüsü.....	33
Tablo 3.9 ILMN standardının seyreltilmesi	33
Tablo 3.10 Kütüphane örneklerinin dilüsyonu.....	34
Tablo 3.11 PZR karışımı hazırlanması.....	34
Tablo 3.12 Real time RZR döngüsü.....	35
Tablo 3.13 Varyantların sınıflandırılmasında kullanılan kriterlerin birlikte değerdendirilmesi.....	38
Tablo 4.1 Hasta ve kontrollerde <i>PKD1</i> ve <i>PKD2</i> varyantları.....	41
Tablo 4.2 Hastaların demografik özellikleri.....	42
Tablo 4.3 Aile öyküsü olan ve olmayan hastalarda tanı oranları.....	42
Tablo 4.4 Hastalarda saptanan <i>PKD1</i> geni (Refseq Transkripti: NM_001009944) varyantları	47
Tablo 4.5 Kontrollerde saptanan <i>PKD1</i> geni (Refseq Transkripti: NM_001009944) Varyantları.....	52
Tablo 4.6 Hastalarda saptanan <i>PKD2</i> geni (Refseq Transkripti: NM_000297.4) Varyantları.....	57
Tablo 4.7 Kontrollerde saptanan <i>PKD2</i> geni (Refseq Transkripti: NM_000297.4) Varyantları.....	58
Tablo 4.8 Hastalarda saptanan <i>PKD1</i> ve <i>PKD2</i> varyantlarının tipleri ve sınıflamaları.....	59
Tablo 4.9 Hasta grubunda saptanan ACMG sınıflaması değışen VUS varyantlar.....	60

Tablo 4.10	Kontrol grubunda saptanan ACMG sınıflaması değişen VUS varyantlar	60
Tablo 4.11	Hem hastalarda hem kontrollerde saptanan varyantlar	61
Tablo 4.12	<i>PKD1</i> rs7203729 (c.12630T>C) p.P4210P -chr16-2090009-A-G polimorfizmi ilişki çalışması.....	63
Tablo 4.13	<i>PKD1</i> c.4674G>A p.T1558T rs79884128 chr16-2110493-C-T polimorfizmi ilişki çalışması.....	64
Tablo 4.14	<i>PKD1</i> c.2216G>A p.R739Q rs40433 chr16-2114807-C-T polimorfizmi ilişki çalışması	64
Tablo 4.15	<i>PKD1</i> c.12133A>G p.I4045V rs10960 chr16-2090679-T-C polimorfizmi ilişki çalışması.....	65
Tablo 4.16	<i>PKD2</i> c.83G>C p.Arg28Pro rs1805044 chr4-88007816-G-C polimorfizmi ilişki çalışması.....	66
Tablo 4.17	<i>PKD1</i> c.5172C>T p.A1724A rs9935526 chr16-2109995-G-A Polimorfizmi ilişki çalışması.....	66
Tablo 4.18	<i>PKD1</i> VE <i>PKD2</i> gen analizinin hastalarda tanısal değeri.....	67

1.GİRİŞ

Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ODPBH), böbreklerde progresif kist oluşumu ve büyümesi ile karakterize, genişlemiş böbrekler ile sonuçlanan ve sıklıkla son dönem böbrek yetmezliğine ilerleyen sistemik bir hastalıktır(1). Yaklaşık 1/1000-1/2500 prevalans ile en sık görülen kalıtsal böbrek hastalığıdır(2). Genetik ve klinik olarak son derece heterojendir. Vakaların çoğu sırasıyla polikistin-1 (PC1) ve polikistin-2 (PC2) proteinlerini kodlayan *PKD1* (OMIM# 601313) ve *PKD2* (OMIM# 173910) genlerindeki mutasyonlar nedeni ile ortaya çıkarken *GANAB* ve *DNAJB11* genlerindeki mutasyonlar da hastalığa neden olmaktadır (3, 4).

PKD1, 16. kromozomda bulunur, 12912 baz çifti (bç) bir kodlama dizisine sahip 46 ekzondan oluşur ve bu gendeki mutasyonlar ODPBH'nin %80'inden sorumludur. *PKD2*, 4. kromozomda bulunur 2907 bç kodlama dizisine sahip 15 ekzondan oluşur ve bu gendeki mutasyonlar ODPBH'nin %15'inden sorumludur(4, 5). ODPBH mutasyon veritabanında bugüne kadar 2331 *PKD1* DNA dizi varyantı, 305 *PKD2* DNA dizi varyantı listelenmiştir (<http://pkdb.mayo.edu>) (ODPBH mutasyon veritabanı) (3). Çoğu varyant tek bir ailede görülür ve benzersizdir. Tanımlanan tüm varyantların sadece %30'u tekrarlayan varyantlardır. ODPBH gibi haployetmezlik nedeniyle oluşan otozomal dominant hastalıklarda tek alleli etkileyen çerçeve kayması, anlamsız varyantlar, insersiyon ve delesyon varyantları patojenik olarak sınıflanabilirken, nadir görülen yanlış anlamlı, çerçeve içi silme, atipik ekleme ve sessiz varyantların sınıflaması zordur. Bu şekilde olan birçok varyant sınıflandırılmamış ve klinik önemi bilinmeyen varyantlar olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle, özellikle yanlış anlamlı, çerçeve içi silme ve atipik ekleme mutasyonları başta olmak üzere bu bilinen varyantları doğrulamak için daha fazla sayıda etkilenmiş aile soyağacının araştırılması gerekir(4, 5).

Hastalarda hangi gende varyant olduğu ve varyantın tipi hastaların prognozunu tahmin etmede kritik rol oynar. Genetik testler ile erken dönemde hastalığın tanısının konması, ileride gelişebilecek komplikasyonların önlenmesi ve üreme danışmanlığı açısından oldukça önemlidir(6).

Bu çalışmanın amacı ODPBH ile ilişkili olan *PKD1* ve *PKD2* genlerinde yeni nesil dizileme (YND) sonucu saptanan varyantları incelemek, ekzon ve ekzon-intron bileşkesinde bulunan varyantları sınıflandırmak ve bu varyantların toplum sıklığını araştırmak ve yeni tespit edilen varyantları varyant sınıflandırmasına kazandırmaktır. Tespit edilen varyantların genler üzerindeki dağılımı araştırılarak 'hot spot' bölgeler

belirlenecektir. Böylece hastalık patofizyolojisinin altında yatan genetik çeşitliği ortaya koymak ve hasta yönetimini geliştirmek planlanmaktadır.

Türk toplumunda tüm yaş gruplarında *PKD1* ve *PKD2* gen varyantlarının kontroller ile birlikte değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu verilerin *PKD1* ve *PKD2* genlerinde Türk toplumunda ODPBH açısından altta yatan genetik çeşitliliği göstermeye faydalı olacağı kanaatindeyiz.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı

ODPBH, en sık görülen kalıtsal böbrek hastalığıdır ve kalıtsal böbrek yetmezliğinin en yaygın nedenidir(7). *PKD1*, *PKD2*, *GANAB*, *DNAJB11* genlerindeki mutasyonlardan kaynaklanan genetik olarak heterojen bir hastalıktır. Genetik heterojenitesinden ve modifiye edici genlerden dolayı aile içi ve aileler arası çeşitliliği fazladır(3, 4). *PKD1* ve *PKD2* genleri sırasıyla fonksiyonel bir kompleks oluşturan PC1 ve PC2 membran proteinlerini kodlar(8). Bu proteinler sıvı transportu, hücrel farklılaşma, proliferasyon, apoptoz ve hücre adezyonunda rol oynarlar. Anormal hücre proliferasyonu, sıvı sekresyonu ve hücre dışı matris üretimi nedeniyle kistler oluşur ve yavaş yavaş büyür(2).

ODPBH, böbrekte ilerleyici parankimal hasara yol açan kist büyümesi ile karakterizedir ve son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) ilerleyen, hemodiyaliz veya transplantasyon gerektiren hastaların yaklaşık %10'undan sorumludur(9). Ana bulguları renal kistler, karaciğer kistleri ve intrakraniyel anevrizmalardır. Bunların yanında seminal veziküller, pankreas, araknoid membran kistleri ve dolikoektaziler, mitral kapak prolapsusu, aort kökü dilatasyonu ve anevrizması ve abdominal duvar hernileri olmak üzere çeşitli ekstrarenal bulgular görülür(8, 10). Ortalama başlangıç yaşı orta yaşlardır ancak bebeklikten 80 yaşa kadar değişkenlik gösterir(10).

ODPBH'nin en sık görülen ekstrarenal bulgusu karaciğer kistleridir. Bir MRG çalışmasında ODPBH'li hastaların %83'ünde hepatik kistler saptanmıştır(11). Hepatik kistlerin prevalansı yaşla birlikte artar ve kadınlarda erkeklerden daha sık görülmektedir (12). İntrakraniyal anevrizma (İKA) hastaların %8'inde bulunur ve genel popülasyona göre 3-4 kat artmış risk söz konusudur. Hastalar arasında İKA için en büyük risk faktörü aile öyküsünde İKA ya da subaraknoid kanama olmasıdır(13).

2.1.1. Epidemiyoloji

ODPBH, en sık görülen kalıtsal böbrek hastalığı ve dünyada böbrek yetmezliğinin dördüncü en sık nedenidir (14). En sık görülen ölümcül olabilen tek gen hastalığıdır. Etkilenen kişilerde uzun süre asemptomatik kaldığı için hastalığın prevalansını tahmin etmek zordur(15). Yaklaşık prevalansı 1/1000-1/4000 arasındadır(15-17). Gelişmiş ülkelerdeki SDBY hastalarının %6-8'ini oluşturur. Fransa'da yapılan bir çalışmaya göre, SDBY hastalarının %6,2'sinde, diyaliz hastalarının %6,6'sında ve nakil hastalarının %12,7'sinde ODPBH bulunmaktadır (15). Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık

300000 hasta birey vardır (17). ODPBH, Birleşik Krallık'ta yaklaşık 70000 kişiyi etkilemiştir ve 608 renal replasman tedavisi alan vakanın olduğu bir çalışmada hastaların %7'sinden sorumlu bulunmuştur(18). Güneybatı Almanya'da yapılan çalışmada ODPBH'nin genel prevalansı 32.7/100000 olduğu ve yaşamın 6. dekadında maksimum 57.3/100000'e ulaştığı görülmüştür. Bu çalışmaya göre ODPBH prevalansı 2-5 kat fazla tahmin edilmektedir(19). İngiliz popülasyonunda yapılan çalışmanın sonucunda, minimum (yani yalnızca teşhis edilen vakalar) nokta prevalansının 100.000'de 39 olduğu tahmin edilmiştir (20). Son zamanlarda, ODPBH'nin genetik prevalansını doğrudan tahmin etmek için iki büyük popülasyon sekanslama veri tabanı kullanılmıştır. Yüksek güvenilirliğe sahip patojenik ve olası patojenik *PKD1* veya *PKD2* mutasyonlarının genel prevalansı sırasıyla 100.000'de 93 (68 *PKD1*, 26 *PKD2*) ve 174 (141 *PKD1*, 33 *PKD2*) tespit edilmiştir(21, 22).

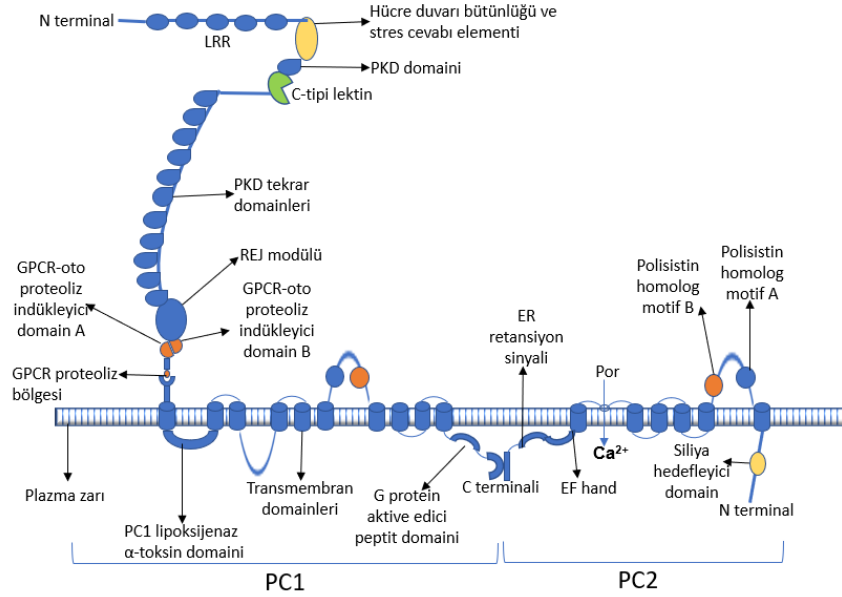
2.1.2. Genetik

ODPBH, *PKD1* ve *PKD2* genlerindeki mutasyonlar nedeniyle oluşur ve otozomal dominant kalıtılır. Kalıtım doğası gereği %50 sonraki nesle aktarılma riski vardır (23-25). Hastalığın yaklaşık %80'i *PKD1* (kromozom 16p13.3) ve %15 kadarı *PKD2* (kromozom 4q22.1) genlerindeki mutasyonlar ile açıklanırken, kalan %5-10'luk kısmında *GANAB*, *DNAJB11* ve *HNF1B* genlerindeki nadir mutasyonlar söz konusudur. Ancak hala çözülememiş vakalar mevcuttur(26). Somatik mozaizm, çözülmemiş vakaların alternatif bir açıklaması olabilir; son olarak, bazı hastalar *PKD1* ve *PKD2*'nin kodlamayan bölgesinde gözden kaçan nadir patojenik varyantları barındırabilir(6).

PKD1, 52 kb (kilobaz) genomik bölgeyi kapsayan 46 ekzondan oluşur, 14.1 kb mRNA'ya transkibe olan 12.909 bç uzunluğunda kodlama dizilimine sahiptir. *PKD1*'in, 1-32 ekzonlarının duplikasyonu ile ortaya çıkan altı psödogeni vardır(27) ve bunlardan üçü genle >%95 dizi benzerliği paylaşır ancak tam uzunlukta proteine dönüşmez. *PKD1*, 4302 aminoasitten oluşan, 450-kD boyutunda oldukça büyük bir integral membran proteini olan PC1'i kodlar. PC1, uzun hücre dışı N-terminal domain, 11 transmembran domain ve yaklaşık 200 aa'lık hücre içi karboksi terminal kuyruktan oluşur(26, 28) (Şekil 2.1). Primer siliyada (mekanotransdüksiyonda önemli bir rol oynayan apikal anten benzeri bir organel), plazma zarında ve polarize epitel hücrelerinde adezyon kompleksinde bulunur(28). PC1, plazma membranındaki karboksi-terminal fragmana kovalent olmayan bir şekilde bağlı kalan büyük bir amino terminal fragmanı oluşturmak için G proteinine bağlı reseptör proteolitik bölgesinden kesilir. Bunun PC1'in biyojenezini

ve lokalizasyonunu düzenlediği düşünülmektedir(26, 29). Ek olarak, hücre içi karboksi terminal kuyruğunun bölünmesi ve fragmanların sitoplazmaya bırakılması bunların çeşitli sinyal yollarını modüle etmek için çekirdeğe gitmesine ve transkripsiyon aktivatörleri, baskılayıcıları ve ko-aktivatörleri ile etkileşime girmesine zemin hazırlar(30). PC1'in birçok işlevi tam çözölememiştir ancak C-terminal kuyruğunun PC2'nin C-terminal kuyruğu ile etkileşime girdiği ve hücre içi kalsiyum regülasyonunda rol aldığı bilinmektedir(26, 28, 31).

PKD2, 68 kb genomik bölgeyi kapsayan 15 ekzondan oluşur, 2904 bp uzunluğundaki kodlama dizisi 5.3 kb mRNA'ya dönüşür (3). 968 aa'dan oluşan, yaklaşık 110-kD boyutunda 6 transmembran domaini ile sitoplazmik N-terminal domain ve C-terminal domaini bulunan PC2 proteini kodlar (Şekil 2.2). PC2, Geçici reseptör potansiyel ailesinin Ca²⁺ya yanıt veren katyon kanalı olarak işlev görür(23). PC2, PC1 ile birlikte siliyada ve plazma zarında bulunsa da en bol miktarda ER'de ve golgide bulunduğu görölmektedir. Hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyum salınımında görev almaktadır. Kalsiyum ileten por, beşinci ve altıncı transmembran alanları arasındaki döngüden oluşur ve iletken pordaki bir yanlış anlamalı mutasyonun ODPBH'ye neden olduğu gösterilmiştir. PC1 ve PC2'nin kompleks halinde oluşturduğu kanal, siliyer bükölmeye yanıt olarak aktive edilir ve kimyasal veya mekanik uyarılarla sinyal iletimine yol açar(28). Kriyo-elektronik mikroskopi tekniği, PC2 proteininin lipid nanodiskte homo-tetramerler oluşturduğunu(26) ve PC2'ye kesilmiş bir PC1 formunun eklenmesinin 3'e 1 oranında bir hetero-tetramer oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır(23). PC1 ve PC2 karşılıklı olarak birbirlerinin lokalizasyonunu etkilemektedir(28, 32).



Şekil 2.1 PC1 ve PC2'nin yapısı (26)

PKD1 ve *PKD2* mutasyonlarının araştırıldığı birçok rapor yayınlanmıştır. Raj ve ark.nın 2020 yılında 84 Hintli hasta ve 31 aile üyesinde *PKD1* ve *PKD2* varyantlarını araştırdığı çalışmada *PKD1*'de 67 varyant, *PKD2*'de 28 varyant tespit edilmiştir(3). Neumann ve ark. 294 ailesel ve 30 sporadik olgunun olduğu *PKD1* ve *PKD2* dizi analizi yaptıkları bir çalışmada %82.4 oranında *PKD1* mutasyonları saptamıştır(33). Başka bir çalışmada 230 hasta hedefli NGS ile *PKD1* ve *PKD2* genleri açısından taranmış ve toplamda 779 varyant bulunmuş ve bunlardan 176'sı olası patojenik ve 58'i muhtemel nötral olarak bildirilmiştir(27). İtalya'da 643 hastalık bir kohort ile yapılan çalışmada 701 varyant raporlanmıştır(34). Çek popülasyonundan bir yayına göre 56 hastada 39 *PKD1* ve *PKD2* varyantı saptanmıştır(35). Kim ve ark.nın çalışmasında 749 Koreli hastada *PKD1* ve *PKD2* mutasyonu araştırılmış ve 331 farklı mutasyon tespit edilmiştir(36). ODPBH mutasyon veritabanında şimdiye kadar *PKD1*'de 2322 DNA dizisi varyantı, *PKD2*'de 278 DNA dizisi varyantı listelenmiştir (<http://pkdb.mayo.edu>, 20.06.2023) (ODPBH mutasyon veritabanı). Leiden açık varyant veritabanında (Leiden open variation database) *PKD1*'de 3921 ayrı varyant, *PKD2*'de 368 ayrı varyant listelenmiştir (<https://www.lovd.nl/>, 20.06.2023).

ODPBH, organizma düzeyinde genetik olarak dominant kalıtılmaktadır ancak hücresel düzeyde resesiftir(28, 37). *PKD1* ya da *PKD2*'de germline bir mutasyon taşıyan hastalarda kistleri kaplayan hücrelerin, bir polisistin geninin her iki fonksiyonel kopyasını da kaybettiği görülmüştür(37). Bu da somatik 'ikinci vuruş' mutasyon ile açıklanmaktadır. Yani vahşi tip allelede somatik inaktivasyon ya da heterozigosite kaybı

olursa kist oluşumu başlar(26, 38-40). Bir çalışmada ODPBH olan kişilerin kist epitellerinden tüm genom dizileme yapılmış ve neredeyse bütün somatik ‘ikinci vuruş’ değişikliklerinin germline mutant olan aynı gende meydana geldiği görülmüştür(39). Koptides ve ark.ın yaptığı çalışmada bir ODPBH olan hastada germline *PKD1* mutasyonu mevcut olup, bazı kistlerinde somatik *PKD2* mutasyonu gösterilmiş ve her iki gende de mutasyon olan trans-heterozigot bir durum raporlanmıştır(41).

Ek olarak, Polikistik böbrek hastalığı(PBH) ile bağlantılı diğer genlerdeki veya tanımlanamayan modifiye edici genlerdeki varyantlar ve ayrıca akut böbrek hasarı gibi çevresel faktörler, kist oluşumunu ve hastalık ilerlemesini modüle edebilir(26). Polisistin eksprese eden hücreler üzerindeki hücre dışı otonom etkiler, *PKD1*'in hipomorfik mutasyonları ve PC1 fonksiyon kaybının gelişim aşamalarındaki zamanlaması dahil olmak üzere ek faktörler kist oluşumunun kapsamının belirlenmesine katkıda bulunur(28). Birçok kanıt PC1 ve PC2'nin kist oluşumunu doza bağımlı bir şekilde engellediğini göstermektedir(7). Fonksiyonel PC1 ve PC2 seviyeleri kritik bir eşiğin altına düştüğünde kist oluşum olasılığı artmaktadır(7, 26). Buna göre, fonksiyonel PC1 veya PC2 miktarı ve dolayısıyla mutasyon tipi (örneğin, inaktive edici mutasyonlar veya gen ürününün fonksiyonunu azaltan mutasyonlar (hipomorfik mutasyonlar)), kist oluşumu olasılığını ve hastalığın ilerlemesini etkiler(26). “İkinci vuruş” stokastik olduğundan ve yaşam süresince meydana geldiğinden, ODPBH kistleri odaklıdır ve boyutu değişkendir. *PKD1* kodlama dizisinin uzunluğu, *PKD2*'nin 4 katından fazladır; bu nedenle, somatik hücrelerde *PKD1* ikinci vuruşunun kümülatif insidansı, *PKD2*'ye göre çok daha yüksektir. Bu nedenle, bir *PKD1* mutant böbrek veya karaciğer, sabit bir zamanda bir *PKD2* mutantından daha fazla somatik mutasyon biriktirir; bu, *PKD1* mutasyonlu ODPBH hastalarının genellikle SDBY aşamasına *PKD2* mutasyonlu hastalardan çok daha erken ulaşmasını açıklayabilir(23). Farklı yaşlardaki ODPBH hastalarında 3 yıl boyunca kist sayısı ve bireysel kist hacminin izlenmesi ile, *PKD1* hastalarının erken aşamada *PKD2* hastalarına göre daha fazla böbrek kisti oluşturduğu görülürken, *PKD1* mutasyonuna bağlı kist büyüme oranının *PKD2*'ninkine benzer olduğu görülmüştür. Bunun sonucunda *PKD1* popülasyonunun *PKD2* popülasyonundan daha şiddetli kistik böbrek hastalığı geliştirmesinin nedeni, kist büyüme hızının farklı gen mutasyonları arasında farklılık göstermesinden değil *PKD1* hastalarında erken aşamada *PKD2* hastalarına göre daha fazla kist üretilmesi olduğu düşünülmektedir(42).

Genotip fenotip korelasyonu

ODPBH fenotipte çok çeşitli klinikler gösterir. Bu değişkenlik; renal fenotipte ileri yaşta böbrek yetmezliği olmayan hastalardan(26), anne karnında genişlemiş böbreklere sahip nadir hastaların olması ile hastalarda karaciğer bulgularının ve diğer böbrek dışı bulguların farklı karakterlerini içerir. Bu fenotipik değişkenliğin bir kısmı genik ve allelik değişkenlik ile açıklanabilirken, aile içi çeşitliliklerin de görülmesi değiştirici etki gösteren genlerin ve diğer çevresel faktörlerin göstergesidir(43). Burada *PKD1* ya da *PKD2* olmak üzere, hangi gende mutasyon olduğu güçlü bir etkiye sahiptir(44). *PKD1* mutasyonu taşıyan hastalarda, *PKD2* mutasyonu taşıyanlara göre daha erken yaşta SDBY, daha düşük glomerüler filtrasyon hızı (GFH) ve daha büyük böbrekler görülür (26). SDBY yaşı *PKD1* için ortalama 58, *PKD2* için 74.8'dir (17). Prenatal olarak saptanan böbrek kistleri ve büyümüş böbrekler, *PKD1*'li çocuklar için oldukça spesifiktir(45). 741 hastanın yer aldığı bir çalışmada hipertansiyon tanısındaki ortalama yaş, *PKD1* mutasyon taşıyıcıları için *PKD2* mutasyon taşıyıcılarına göre 10 yıl daha erken bulunmuştur(46). Şiddetli polikistik karaciğer hastalığı (PKH), *PKD1* kadar *PKD2* ile de ilişkilidir ve İKA'ların nispi sıklığı iki gen tipinde yaklaşık olarak eşittir(43). Ancak yapılan bir çalışmada hem *PKD2*'li hastaların hem de mutasyon saptanmayan hastaların *PKD1* hastalarına göre daha az karaciğer kist yüküne sahip olduğu görülmüştür(47).

Fenotipik çeşitlilikte cinsiyet de önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Renal fenotip erkeklerde kadınlara göre daha ağır seyretmektedir(26, 46). ODPBH ve şiddetli PKH olan hastaların >%80'i kadındır, bu da hormonal (östrojen) farklılıkların hastalık şiddetini etkileyebileceğini düşündürmektedir(26).

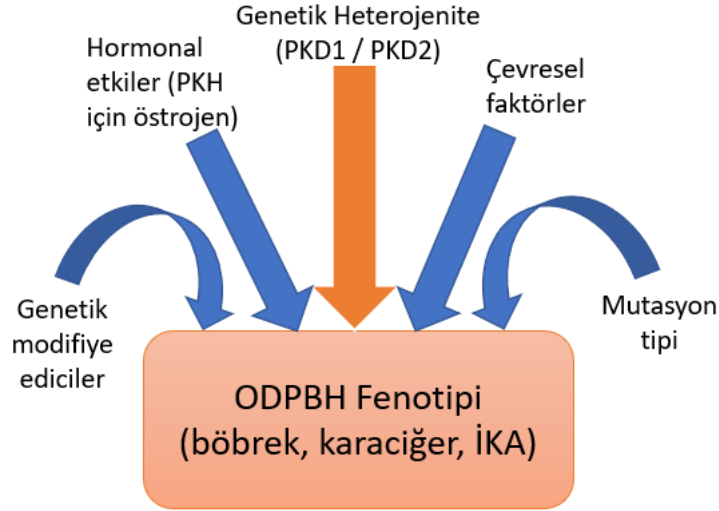
Yapılan çalışmalarda *PKD1*'deki allelik çeşitlilik önemli bir diğer etken olarak gösterilmektedir(26, 44, 46). Bir çalışmada trunke edici mutasyon grubunda (çerçeve kayması, anlamsız, ek mutasyonları ve büyük yeniden düzenlemeler) SDBY başlangıcı, trunke edici olmayan mutasyonlara (çerçeveyi bozmayan ve yanlış anlamlı) göre 12 yıl daha erken tespit edilmiştir. Trunke edici mutasyonların renal sağkalım üzerine etkisi daha kötü bulunurken, mutasyonun pozisyonun renal sağkalım üzerine etkisi olmadığı saptanmıştır(46). *PKD2*'deki trunke edici varyantların da trunke edici olmayanlara göre daha düşük GFH ve daha ciddi renal hastalığa neden olduğu gösterilmiştir(48).

Çok erken ve erken başlangıçlı ODPBH'de; trans pozisyonunda biallelik *PKD1* veya *PKD2* varyantları, digenik *PKD1* ve *PKD2* varyantı ya da *PKD1* ile *PKHD1* veya *HNFB1* genlerinden birinde transheterozigot varyantlar gibi klasik genotipin dışında durumlar gözlenmektedir(6). Normalde *PKD1* ya da *PKD2*'nin iki allelinin inaktive

olması durumunda embriyonik ölüm beklenmektedir(26). Çoğu yanlış anlamalı değişikliğin geni tamamen etkisiz hale getirdiğini gösteren bulgulara rağmen, 2009 yılında yapılan bir çalışmadan elde edilen veriler, bazı *PKD1* allellerinin hipomorfik ya da inkomplet penetran olabileceğini(49) yani aktivite ve ekspresyon seviyesini düşürdüğünü göstermektedir(26). Bu da trans pozisyonda biallelik *PKD1* ya da *PKD2* varyantlarının erken ya da çok erken başlangıçlı ODPBH'ye neden olmasını açıklamaktadır(47). Hipomorfik tek bir allel taşıyan hasta ise sıklıkla yalnızca birkaç kist ile başvurur(46, 49). Tek bir hipomorfik allel ile ilişkili hastalığın penetrasyonu düşük olduğundan, bu tür allelleri taşıyan ailelerin genellikle negatif bir aile öyküsü, çekinik kalıtım ile uyumlu öyküsü ya da nesiller arasında şiddet açısından belirgin bir heterojeniteye sahip olduğu görülmektedir(49).

Olguların %85'inden fazlasında aile öyküsü bulunmaktadır. Geriye kalan %10-15'inde ise de novo mutasyon, mozaisizm ya da hafif hastalıktan dolayı aile öyküsü bulunmaz(6, 26). Mozaisizm etkilenen kişide genetik olarak birden fazla hücre hattının varlığı olup, etkilenen dokudaki mutant gen seviyesine göre hastalık hafif ya da fokal gözlenebilmektedir(44). De novo olguların bir kısmı ve aile içi fenotipik çeşitlilik de mozaisizm ile açıklanabilir(26, 49). Bir ailede mozaikliğin olup olmadığının belirlenmesi önemlidir çünkü bu özellik, görünüşte de novo hastalığı olan bireyin kardeşlerinde hastalık riskini kökten değiştirir. Ayrıca, mozaisizm farklı dokularda çok farklı mutant allel seviyelerine yol açabileceğinden, mutant allelin lökositlerdeki oranı, böbrekteki oranının ve dolayısıyla hastalık şiddetinin zayıf bir göstergesidir(49). Mozaisizm, esas olarak YND'deki üstün dizileme derinliği nedeniyle, geleneksel dizilemeden ziyade YND tabanlı yaklaşımlarla daha güvenilir bir şekilde tespit edilebilir(26).

İkiz çalışmaları ve aile içi ya da aileler arası fenotipik çeşitliliği araştıran çalışmalar böbrek hastalığının şiddetindeki değişkenliğe önemli ölçüde katkıda bulunan başka genetik faktörler de olduğunu göstermektedir(26).



Şekil 2.2 ODPBH fenotipini etkileyen çeşitli faktörler

2.1.3. Patofizyoloji

Kist Oluşumu

ODPBH hastalarındaki kistler, böbrek epitelinden sıvı dolu fokal büyümelerdir, nefronların küçük bir kısmında (~%1-3) ortaya çıkar(2) ve fonksiyonel PC1 veya PC2 miktarı kritik olan eşik seviyenin altına düştüğünde kist oluşum olasılığı artar. PC1 ve PC2 proteinleri apikal ve bazolateral hücre zarında, dezmozomlarda, fokal adezyonlarda ve en önemlisi primer silyada bulunur. PC2 ayrıca endoplazmik retikulum (ER) zarında bulunur ve ER'den kalsiyum salınımında rol alır(26).

Primer silya birçok hücre tipinde bulunan, tek ve hareketsiz bir organeldir. Sıvı akışı, basınç, hormonlar, metabolitler, büyüme faktörleri gibi kimyasal ve mekanik uyarıları algılar. Silya kesme stresine yanıt olarak eğilir ve PC2'nin kalsiyum kanalı açılarak hücre içi kalsiyum akışı olur. Artmış hücre içi kalsiyum ile birçok hücre içi sinyal yolağı aktive edilir(50). Silyanın birçok dokuda fizyolojik ve patolojik işlemlerde görev aldığı gösterilmiştir. Primer silyanın yapısal değişiklikleri ya da disfonksiyonu siliyopatilerin altta yatan nedenidir(51). ODPBH bir siliyopatidir ve böbrek ve karaciğer kistleri oluşumunda hasarlı primer silyanın rolü vardır(23, 49). Ayrıca kist oluşumu ve büyümesinde birçok hücrel değişiklik de gerçekleşir(2). Polisistin ekspresyonundaki değişiklikler birçok hücrel sinyal yolağına zarar verir, bunlar sonucunda hücre proliferasyonu ve sıvı sekresyonları artarak kistler oluşur(2).

PC1 ve PC2 multimerik bir protein kompleksi oluşturur ve hücre içi kalsiyum dengesini sağlamak için geçici reseptör potansiyeli kanalı olarak görev yapar(28). Bunun yanında cAMP (siklik AMP), mTOR (rapamisinin mekanik hedefi), WNT, vasküler

endotelial büyüme faktörü (VEGF), Hippo sinyali gibi birçok sinyal yolağını modüle etmektedir(26). Polisistin proteinlerinin kist oluşumuna katkıda bulunabileceği potansiyel mekanizmalar: akış ve basınç duyusu, hücre döngüsü regülasyonu, düzlemsel hücre polaritesine katkısı ve sentrozom duplikasyonunun modülasyonu olsa da ODPBH'deki sistogenezin kesin mekanizması bilinmemektedir(49). Tasarlanmış siliya kaybı olan *PKD1* veya *PKD2*-mutant farelerde kistik fenotipin iyileşmekte olduğu görülmüştür. Bu da sağlıklı böbreklerde, polisistin proteinlerinin, renal epitelyal hücre proliferasyonunu kontrol eden silya tarafından düzenlenen sistojenik bir sinyal yolunu inhibe ettiğini düşündürmektedir(26). Polisistin proteinlerinin fonksiyonu bozulduğunda inhibisyon ortadan kalmakta ve kist oluşumu uyarılmaktadır(23, 26).

PBH ilerledikçe *PKD1* ve *PKD2*'deki mutasyonlar kisti oluşturan hücrelerde giderek artan bir şekilde sinyal yollarını bozarak apikal-bazal polarite ve düzlemsel hücre polaritesi değişikliklerine neden olmakta, hücre dışı matriks üretiminin ve hücre metabolizmasının (sıvı transportu, proliferasyon, apoptozis, hücre adezyonu ve farklılaşması) artmasına neden olan birçok hücresel değişiklik meydana getirmektedir(26). Kist büyümesi için kisti oluşturan hücrelerin sayıca artması ve artmış sıvı sekresyonu, azalmış sıvı geri emilimi ya da her ikisinin varlığı ile kist lümeninde sıvı birikmesi gerekmektedir(31). Kist hala orijin aldığı tübüle bağlıyken glomerular filtrat kist içinde birikir. Kist lümeninden ayrıldığında ise transepitelyal sıvı sekresyonu ile kist büyümesi devam eder(50). Ek olarak kist büyümesine bozulmuş yağ asidi oksidasyonu ve aerobik glikolize geçiş gibi hücresel metabolizma değişiklikleri de eşlik etmektedir(26). Kist duvarındaki artmış hücre bölünmesi çoğu zaman kist lümenine uzanan hiperplastik polip oluşumu ile sonuçlanabilir(31). Ayrıca kistler komşu nefronlarda mekanik stres oluşturarak renal epitel hücrelerinde apoptoza neden olur ve lokal olarak kist oluşum olasılığını artırır(26).

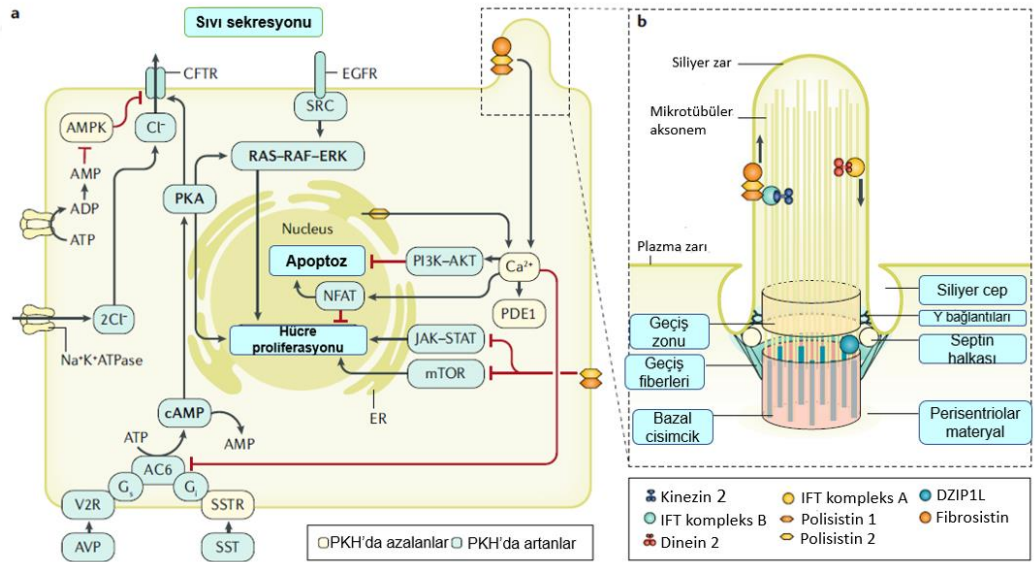
Özetle; silya sıvı akışını hissedip normal cevap verilmesini sağlar. ODPBH gibi genetik bozukluklara bağlı olarak renal epitelyal silyalarda meydana gelen disfonksiyonlar, idrar akışının doğru hissedilmesini engeller. Mutasyon nedeniyle kaybolan düzlemsel hücre polaritesi sonucunda hücreler düzgün oryantasyonda bölünemez ve tübül genişliği artarak sıvıyla dolmaya başlar. Kist tomurcuklanarak nefrondan ayrılır ama hala sekresyon ve absorpsiyon işlemleri nedeniyle genişlemeye devam eder. Nefron da gittikçe daralarak tıkanır(50).

PKD1 ve *PKD2*'deki mutasyonlar sonucu PC1 ya da PC2'nin kaybı hücre içi kalsiyum seviyelerinde azalma ile sonuçlanır, bu da cAMP sinyalinin artmasına neden

olur(2, 28). Hücre içi kalsiyum adenilat siklaz 6 (AC6)'yı inhibe eder. AC6 da ATP'den cAMP'ye dönüşüm sağlamaktadır(7). Dahası başka faktörler de cAMP oluşumunu düzenlemektedir. Hasarlı PC1 heterotrimerik G proteinlerine bağlanır, vazopressin V2 reseptörünü upregüle eder ve dolaşımdaki vazopressin, forskolin, ATP ve diğer adenilat siklaz agonistleri artır(28). cAMP sinyali protein kinaz A'yı uyarak Ras/Raf/ERK yolağı ile gen transkripsiyonunu aktifleştirir. Sonuç olarak kistik hücrelerde proliferasyona ve büyümeye neden olur. Dahası CFTR aracılı klor ve sıvı sekresyonunu da artırmaktadır(2, 7).

Artmış cAMP seviyeleri PBH'nin birçok hayvan modelinde sadece böbreklerde değil, kolanjiyositler, vasküler düz kas hücreleri, ve koroid pleksus gibi farklı dokularda da gözlenmiştir(28).

Kist büyümesine neden olabilecek diğer mekanizmalar mTOR, fosfoinositid 3 kinaz (PI3K)-AKT, AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK), Janus kinaz 2 (JAK2)-sinyal transdüseri ve transkripsiyon aktivatörü 1(STAT1/STAT3/STAT6), aktive edilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT) ve nükleer faktör- κ B (NF- κ B) yollarının değişen sinyalleridir(26).



Şekil 2.3 a.Kist oluşumu ve büyümesinde rol alan mekanizmalar, b.primer silyanın yapısı ile PC1 ve PC2'nin siliyada lokalizasyonu (26).

Polistatin proteinlerinin hücresel büyümeyi inhibe etmek için etkileştiği birçok yoldan biri mTOR yolağıdır(52). mTOR aynı zamanda hücre proliferasyonu, aktin hücre iskeleti ve apoptozu da düzenler(2). mTOR yolağının negatif düzenleyicisi tüberoskleroz kompleksidir (TSC)(28). TSC, TSC1 (hamartin) ve TSC2 (tuberin)

proteinlerinden oluşur(2). PC1'in C-terminal kuyruğu Tuberin proteini ile etkileşime girer(52). PC1-TSC2 etkileşimi sonucunda TSC1-TSC2 kompleksi mTOR sinyal yolağını inhibe etmektedir(28). mTOR yolağının, insan ODPBH'sinde ve farklı etkilenmiş genlere sahip üç fare modelinde kist epitel hücrelerinde uygunsuz bir şekilde aktive edildiği görüldüğü için bunun renal sistogenez sırasında yaygın bir olay olduğunu düşünülmektedir(52).

Hücre siklusunda rol alarak hücresel büyümenin inhibisyonunda polisistin proteinlerinin etkileşime girdiği diğer yolak ise JAK-STAT (Janus kinaz-transkripsiyonun sinyal iletilicileri ve aktivatörü) yolağıdır(2, 28). PC1, JAK2'ye bağlanarak aktive eder ve STAT1 ve 3'ün fosforillenerek aktivasyonunu sağlar. Bunlar da çekirdekte p21'in promotörüne bağlanarak ekspresyonunu artırır. Artan p21 ekspresyonu hücre siklusunu G0 evresinde durdurarak hücre bölünmesini(2) ve büyümesini azaltır(28). Bu yolağın aktivasyonunda PC2 de kofaktör olarak rol almaktadır. STAT6 da PC1 tarafından aktive edilmektedir ve transkripsiyonu artırmaktadır. Bazı hayvan modellerinde kisti oluşturan hücrelerde STAT6'nın yüksek aktivasyonu görülmüştür(2).

Embriyonal gelişim sırasında hücre büyümesini, farklılaşmasını, düzlemsel hücre polaritesini kontrol eden Wnt sinyal yolağı da PC1 ve PC2 proteinleri ile etkileşim halindedir(2). Wnt sinyal yolağı standart (β -catenin bağımlı) ve standart olmayan (β -catenin bağımsız) olarak sınıflandırılmaktadır. Polisistin proteinleri standart Wnt yolağını etkilemektedir(28). Standart Wnt yolağında β -catenin yıkımı önlenir, β -catenin ile birlikte T hücre faktörü (TCF) yükselir ve hedef genlerin transkripsiyonu artar. Normal PC1'in karboksi terminal kısmı β -catenin ile etkileşime girdiğinde, TCF ile β -catenin etkileşimini engeller ve transkripsiyonu inhibe eder. ODPBH'de ise kistik dokularda standart Wnt yolağı inhibisyonun ortadan kalkması ile aktive edilmektedir. Embriyogenez sırasında sistogenezin oluşumunda bu yolağın etkili olabileceği düşünülmektedir(2). Standart olmayan Wnt yolağı doku oluşumu aşamasında hücre polarite ve motilitenin kazanımında rol oynamaktadır(2). Yönlendirilmiş hücre bölünmesi ve böbrek tübül yapısının kurulması için düzlemsel hücre polaritesinin doğru oluşumu esastır ve bu süreçteki yanlışlar böbrek tübüllerinin genişlemesini ve kist oluşumunu tetikler(28). Kistik hücrelerde hücre polarite kaybı gözlenmektedir(2).

Hücre metabolizması ve sinyal yollarındaki değişimlerin yanında kist epitel hücrelerinde hücre-matriks etkileşimleri ve hücreler arası bileşkeler normal değildir. ODPBH'de yapışık bileşkelerin ve dezmozomların anormal bileşimi ve lokalizasyonu,

polisistin proteinlerinin hücreler arası adezyonu düzenlediğini ve hücre iskeletinin yeniden şekillenmesine izin verdiğini düşündürmektedir(26).

Kistik epitel hücrelerinin ana özellikleri olan epitel hücre proliferasyonu, sıvı sekresyonlarının artması ve hücre dışı matriksin fazlasıyla üretimine perikistik kan ve lenfatik mikrodamarlanmada değişiklikler de eşlik eder. Çoğu kist kendisini oluşturan tübülden kopar, kendi epitelindeki hücrelerin sıvı sekresyonu ile büyümeye devam eder ve komşu nefronlarda ve damarlarda bası nedeniyle tıkanıklığa neden olur. Tıkanan nefronlar en sonunda tübülü olmayan glomerüller ve apoptotik proksimal tübüller oluşturur. Bu olaylara epitel hücrelerinden, interstisyel fibroblastlardan ve makrofajlardan salgılanan kemokinler, sitokinler ve büyüme faktörleri de dahil olur. Hastalığın erken safhalarında başlayan epitel hücreleri ve inflamatuvar hücreler arasındaki anormal sitokin aracılı etkileşim daha çok inflamasyon ve fibrozise, yeni kist oluşumuna ve hastalığın ilerlemesine neden olur. En sonunda ileri derecede fibrotik böbrekler oluşur(26).

ODPBH, renal patolojilerin yanında, karaciğer kistleri ve başka kardiyovasküler anomalilerin de eşlik ettiği sistemik bir hastalıktır(8, 10). Karaciğer kistleri biliyer epitelin fazla büyümesi sonucunda karaciğer parankiminde dağınık olarak bulunan multipl kistlerdir(53). PKH genelde ODPBH'nin böbrek dışı bulgusu olarak görülürken böbrek kistleri olmaksızın ayrı bir hastalık olarak da görülmektedir. *PKD1* ve *PKD2* dışındaki bazı genler buna neden olmaktadır. Bu genlerin PC1'in dozajını etkilediği görülmüş, PKH ve ODPBH'nin neden olduğu karaciğer kistlerinde PC1'in hız sınırlayıcı olduğu bazı fare çalışmalarında gösterilmiştir(53). Etki mekanizmalarından biri böbreklerde olduğu gibi kolanjiyositlerde de cAMP artışı ile hücre proliferasyonun artmasıdır(28).

Hipertansiyon, arteryal anevrizma, aort kökü dilatasyonu, sol ventrikül hipertrofisi, kalp kapak anomalileri ve intrakraniyal anevrizmalar ODPBH'de görülen kardiyovasküler bulgulardır(26, 54). Hastalığın erken dönemlerinde henüz renal hastalık yokken çoğu hastada arteriyel hipertansiyon gelişmektedir. Bu kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi artırır. Arteryal hipertansiyonun en bilinen mekanizması renin-angiyotensin-aldosteron sisteminin (RAAS) aktifleşmesidir(26). Kist büyümesi ile parankime ve vasküler yapıya bası sonucu RAAS ve renal sempatik sinir sistemi aktifleşir ve birlikte intrarenal iskemiye neden olur(55). Kan damarlarının iç kısmında bulunan vasküler endotelial hücrelerde primer silya bulunur. Kan basıncındaki ve akışındaki değişiklikleri algılayan sıvı kesme gerilimi mekanosensörü olarak işlev yaparak düz kas

tonusu ve kan basıncını düzenler. Primer silya sıvı kesme stresi ya da kan basıncındaki değişiklikleri PC1-PC2 kompleksi vasıtasıyla algılar. Bunun sonucunda PC2 kalsiyum kanalından hücre içine kalsiyum akışı olur. Hücre içi kalsiyum artışı diğer sinyal yollarını aktive ederek nitrik oksit (NO) salınımına ve vazodilatasyona neden olur. Polisistinin silyalarda anormal ekspresyonu veya lokalizasyonu, kesme stresindeki artışa yanıt olarak NO'yu sentezleyememeye ve kan basıncının artmasına neden olabilir(50). Bunun yanında endotelin, NO ve intraselüler kalsiyum ile vasküler tonusun kontrolünün bozulması da etki etmektedir(26).

Polisistin proteinleri damarların tunika medya myofibroblastlarında ve vasküler düz kas hücrelerinde (VDKH) (özellikle aort ve serebral arterlerde) de eksprese edilmektedir. Bu proteinlerden birinin mutant olması arteriyopati nedeni olup, vasküler duvarda zayıflığa neden olarak anevrizma oluşumuna ve damar diseksiyonuna yatkınlık oluşturur(54). PC1 ve PC2 vasküler endotel hücrelerinde mekanosensasyonda çok önemli bir role sahiptir. Sıvı-kesme stresini algılayarak kalsiyum sinyalinin düzenlenmesi ile NO salınımında görev alırlar. Kan akışının artması ile endotel hücrelerde NO salınarak vazodilatasyon sağlanır. VDKH'nde, polisistiner, gerilmeyle aktive olan katyon kanallarının aktivitesini ve miyojenik kontraksiyonu modüle ederek basınç algılamasını düzenler. Miyojenik tonus kaybı arteryal duvar stresinin artmasına neden olarak anevrizma oluşumuna katkı sağlar. *PKD1* veya *PKD2*'nin haployetmezliğini ve hipomorfik modellerini içeren çalışmalar vasküler fenotipin nedeni olarak polisistin proteinlerinin seviyesindeki azalmayı göstermişlerdir(26). *PKD2*'nin haployetmezliği üzerine yapılan bir çalışmada, anormal intraselüler kalsiyum düzenlenmesinin olduğu ve bunun kontraksiyon, ekstraselüler matriks üretimi ve sekresyonu, hücrel proliferasyon ve apoptoz üzerinde etkili olduğu için vasküler fenotiple ilişkilendirilebileceği öne sürülmüştür(56).

Polisistin proteinlerinin kardiyak gelişimde ve fonksiyonda önemli bir role sahip olduğu hayvan çalışmalarında gösterilmiştir(55, 57). PC1 ve PC2 kardiyomyositlerde bulunur ve mutasyon sonucu proteinlerin hiç fonksiyon göstermemesi, kardiyak hasardan dolayı embriyonik dönemde ölüme yol açmakta iken ikisinden birinin kısmi çalışması da kardiyak anomalilere neden olmaktadır(57). Polisistiner sol-sağ aksis kardiyak gelişiminde rol alırken PC2 aynı zamanda interventriküler ve interseptal gelişimde rol almaktadır. Kapak hastalıklarının altında yatan mekanizmada histopatolojik incelemeler sonucunda defektif kollajen sentezi ve miksamatoz dejenerasyon ana faktör görülmektedir. Konjenital kalp hastalıklarının sıklığının artmasındaki diğer bir mekanizma

da polisistinin embriyogenez sırasında kalp ve damar gelişiminde rol alması olabilir. Özellikle aortun gelişiminde ve vasküler bütünlüğün korunmasında PC1 etki etmektedir(57). Primer silya ve onun ana sinyal iletim elementlerinden olan PC1, TGF- β 1-SMAD3 aktivasyonu ile ekstraselüler matriks üretimini ve hücre kontraktilitesini artırarak fibrojenezde önemli rol oynamaktadır(51). Bazı çalışmalarda embriyonik ve yetişkin insan kalbinde, aortik endotelial hücrelerde primer silyanın bulunduğu, bir çalışmada ise primer silyanın kardiyak fibroblast hücrelerinde olduğu gösterilmiştir(51). *PKD1* patojenik varyantları TGF- β 'nın artması ile aortik malformasyonlara ve mitral kapakta miksamatoz dejenerasyona neden olmaktadır(57).

Serebral anevrizma, kardiyak kapak hastalığı, kolonik divertikül diğer anomaliler de epitelial hücre farklılaşması, ekstraselüler matriks ve kollajen fonksiyonun bozulması ile ilişkilidir(58). Düz kas hücrelerinde eksprese olan polisistinin disfonksiyonu ODPBH'de görülebilen gastrointestinal divertiküllerin gelişimi ile ilişkili görünmektedir.

2.1.4. Klinik Bulgular

ODPBH, çoğunlukla geç başlangıçlı, bilateral böbrek kistleri, karaciğer kistleri, intrakraniyel anevrizma, pankreas, seminal veziküller araknoid membran kistleri görülen multisistemik bir hastalıktır. Böbrek kistlerine sekonder hipertansiyon gelişimi sık görülen bir bulgusudur. Bunların yanında aort kökü dilatasyonu, torasik aort anevrizması, mitral kapak prolapsusu, abdominal duvar hernileri de görülebilmektedir. Hastaların yaklaşık %50'si SDBY'ye girmektedir(17). Hastaların büyük çoğunluğu 20-40 yaş arasında bulgu verir ancak bazı çok erken başlangıçlı (intrauterin-18 ay) ya da erken başlangıçlı (<15 yaş) bulgu veren sporadik olgular da mevcuttur(59).

Böbrek Bulguları

ODPBH ilerleyici olup kist oluşumu çoğu zaman intrauterin başlar ve hastanın ömrü boyunca hem kist oluşumu hem de kist büyümesi devam eder(26). Tüm hastalarda kistler görülse de böbrek hastalığının ve diğer organ hastalıklarının şiddetinde farklılık izlenmektedir(17). Kist büyümesi total böbrek hacminde artışa ve en sonunda SDBY'ye neden olur. Erken başlangıçlı hipertansiyon, karında dolgunluk ve ağrı, hematüri, idrar yolu enfeksiyonları gibi semptomlar genelde böbrek yetmezliği görülmeden hatta çocukluk döneminde ortaya çıkmaktadır(26). Nadiren bir fetüste prenatal olarak genişlemiş ve ekojenik böbrekler (böbrek kisti olsun ya da olmasın) görülebilir. Bu hastalarda SDBY erişkin başlangıçlı hastalara göre daha erken görülür(17).

İdrar konsantrasyon yeteneğinde ve amonyak atılımında azalma hastalarda erken dönemde görülür. Asıl böbrek fonksiyonundaki düşüşü belirten serum kreatin konsantrasyonunda artış SDBY'ye yaklaşık 10-12 yıl kala ancak kendini göstermektedir. Diğer erken görülen bir fonksiyon bozukluğu da böbrek kan akımında azalmadır. Hipertansiyondan önce genç hastalarda tespit edilmiştir(17).

Hipertansiyon da hastalarda erken görülen bulgulardandır ve bazen tanıya götüren bulgu olabilmektedir. GFH'de herhangi bir düşüş olmadan hastaların yaklaşık %50-70'inde görülür. SDBY'ye hızlı ilerlemeye ve kardiyovasküler komplikasyonların artmasına neden olur(60, 61). ODPBH olan kadınlarda hipertansiyon ortalama tanı yaşı 34 iken, erkeklerde 32'dir. ODPBH olan çocukların ise %20-30'unda hipertansiyon görülür. Etkilenmiş ebeveynde hipertansiyon varsa çocuklarında da ortaya çıkma ihtimali daha yüksektir(61).

Böbrek ağrısı ODPBH'de sık görülen bulgulardan biridir. Kist kanaması, nefrolitiazis, kist enfeksiyonu ya da nadiren tümörlerden kaynaklı olabilmektedir. Kist kanaması çoğu zaman kist enfeksiyonundan kaynaklı olabilir ve ateş eşlik edebilir. Ağrı genellikle 2-7 gün içinde kendiliğinden geçmektedir(17).

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) hastaların yaklaşık %30-60'ında görülmektedir. Kist, böbrek parankimi veya alt üriner sistemde meydana gelebilen ve sık görülen klinik sorunlardan biridir. ODPBH'deki üst İYE, nefrolitiazis, kist enfeksiyonları veya piyelonefrite bağlı olabilir ve dikkatli bir değerlendirme gerektirir(62).

Nefrolitiazis ODPBH olan bireylerin %20'sinde görülmektedir. Renal hücreli karsinomun ise ODPBH'de diğer böbrek hastalıklarına göre daha sık gelişip gelişmediği tartışmalıdır(17).

ODPBH'li bireylerin yaklaşık %50'sinde 60 yaşına kadar SDBY gelişmektedir. Genişleyen kistlerin normal böbrek parankimine baskı uygulaması, vasküler skleroz, interstisyel enflamasyon ve fibroz ile tübüler epitel hücrelerinin apoptozu böbrek fonksiyonundaki düşüşten sorumlu olan mekanizmalardır(17).

Karaciğer Bulguları

PKH, ODPBH'li hastalarda en sık görülen böbrek dışı bulgudur ve hastaların %83'ünde hepatik kistler saptanmıştır. Prevalans artan yaş ve azalan böbrek fonksiyonu ile artar ve SDBY olan hastalarda en yüksektir (12). Çocuklarda karaciğer kistleri nadirdir. PKH, kadınlarda erkeklerden daha erken yaşta görülür. Birden fazla gebelik geçiren kadınlarda daha şiddetli olup, menopozdan sonra östrojen tedavisi alan kadınlarda

karaciğer kistlerinin boyutu artmaktadır(17). Östrojenin buradaki rolü kolanjiyositlerde proliferasyona neden olarak kist oluşumunu artırmasıdır(12).

Hastalarda karaciğer fonksiyonları çoğu zaman korunur. Semptomlar karaciğerin boyutu ile alakalı olup, abdominal ve torasik organlara basıya bağlı karın ağrısı, karında şişkinlik, erken doyma, bulantı, kusma gibi şikayetler olabilmektedir(12). Ayrıca kist kanaması, enfeksiyon ve rüptür komplikasyonları görülebilmektedir(17).

Konjenital hepatik fibroz, ODPBH'li bireylerde nadiren görülür(17).

Diğer organ kistleri

Bir çalışmada ODPBH'li hastaların %19'unda pankreas kistleri gözlenmiştir. Hastaların %1'inde ise papiller müsinöz neoplazi saptanmıştır. Pankreas kistleri asemptomatiktir(63).

Etkilenmiş erkeklerin %40'ında seminal veziküllerde kistler bulunur. Nadiren infertilite sebebi olup, defektif sperm hareketliliği erkek infertilitesinin nedeni olabilmektedir(17).

%8 hastada görülen araknoid membran kistleri de çoğu zaman asemptomatiktir ancak subdural hematom riskini artırır(17).

Vasküler ve Kardiyak Bulgular

ODPBH'de kardiyovasküler problemler mortalitanin ana nedenlerindendir(61). Hipertansiyon, sol ventrikül hipertrofisi, intrakraniyal ve ekstrakraniyal anevrizmalar, ve daha nadiren dolikoektazi(damar duvarlarının zayıflamasından kaynaklanan arterlerin uzaması ve gerilmesi), aort kökü dilatasyonu, torasik aort diseksiyonu, koroner arter anevrizmaları ve kardiyak kapak anormallikleri görülebilmektedir(17).

ODPBH olan bireylerde İKA prevalansı 5 kat artmaktadır. Ayrıca aort başta olmak üzere diğer büyük arterlerin anevrizma ve diseksiyonu da bildirilmiştir(64). İKA'lar hastaların %10'unda görülmektedir. Ailede anevrizma öyküsü olması riski artırmaktadır(17, 60). Anevrizmaların rüptüre olması ODPBH'li hastalarda genç yaşta ölüme sonuçlanabilir ve hastaların %4-7'si bu durumla karşılaşmaktadır.

ODPBH'li hastaların %18'inde kardiyak kapak anomalileri bildirilmiştir(61). Bir çalışmada ise kardiyak ultrasonografi ile tespit edilen klinik önemi bilinmeyen kardiyak anomaliler ve kapak anomalileri hastaların %25-30'unda bildirilmiştir. En sık görülenler mitral kapak prolapsusu ve aort regürjitasyonu olup(58), mitral kapak prolapsusu hastaların %20-30'unda görülmüştür(60). Aort regürjitasyonu, aort kökü dilatasyonuna bağlı ortaya çıkmaktadır. Fizik muayenede bir üfürüm duyulmadığı sürece ekokardiyografi taraması hastalarda önerilmemektedir(17).

Sol ventrikül hipertrofisi (LVH) kardiyovasküler morbidite ve mortalite açısından bağımsız bir risk faktörüdür. Hipertansiyon ve LVH arasından hem çocuk hem yetişkin hastalarda anlamlı bir ilişki bulunmuştur(61). ODPBH'li normotansif bireyler bile, hastalığın erken döneminde kardiyak tutulumu düşündüren önemli biventriküler diyastolik disfonksiyon göstermektedir(17, 61).

Divertiküler Hastalık

Kolonik divertikülozis ve divertikülit ODPBH nedeniyle SDBY olan hastalarda başka böbrek hastalıkları olan bireylere göre daha yüksektir. Ekstrakolonik divertiküler hastalık insidansı da artmıştır(17).

2.1.5. Tanı

Aşağıdaki bulguları olan hastalarda ODPBH'den şüphelenilmelidir:

- Fazla miktarda bilateral böbrek kisti ve başka bir kistik böbrek hastalığını düşündüren bulgu olmaması
- Özellikle karaciğer başta olmak üzere, seminal veziküller, pankreas, araknoid membran gibi diğer organ kistleri
- Fizik muayenede böbrek ya da karaciğerin büyük tespit edilmesi
- 35 yaş altı bireylerde hipertansiyon olması
- İntrakraniyal anevrizma olması
- Ailede ODPBH öyküsü olması(17)

Tanıyı kesinleştirmek için görüntüleme yöntemleri ya da genetik testler kullanılır. En sık kullanılan ve en ucuz görüntüleme yöntemi ultrasonografidir (USG). BT ya da MRG daha kuantitatif ve prognostik bir veri sağlamaktadır(26). Kesin tanı için yaşa spesifik USG veya MRG kriterleri ile aile öyküsü olması ya da ODPBH ile ilişkilendirilen *PKD1*, *PKD2*, *DNAJB11*, *GANAB*, *ALG5*, *ALG9* ve *IFT140* genlerinden birinde heterozigot patojenik bir varyant saptanması gereklidir. Bu genlerin tamamı taransa dahi nedeni bilinmeyen %5'lik bir kısım kalmaktadır. De novo mutasyonlar veya mozaisizme bağlı olarak %10-15 hastada aile öyküsü bulunmamaktadır(17).

15 yaş altındaki çocuklarda kesin kriterler olmadığı için tanı zordur. Aile öyküsü pozitif olan ve 1 cm'den büyük bir kisti bulunan bir çocuk ODPBH tanısı almış kabul edilebilir. Ancak tanıyı kesinleştirmek için genetik analiz gereklidir(65).

PKD1 geninin 5' ucunun dörtte üçünün (ekzon1-34), *PKD1* ile %99'a varan sekans homolojisine sahip altı psödogenin kromozom 16 üzerinde segmental intrakromozomal

kopyalanması nedeniyle ODPBH'nin moleküler tanısını elde etmek karmaşıktır(59). Bundan dolayı *PKD1* için özel tarama metodları kullanılması gerekmektedir. Tüm ekzom dizileme (TED)'de mutasyonlar her zaman tespit edilemeyebilir. Geleneksel olarak, *PKD1* ve psödogenler arasındaki nadir sekans farklılıklarından yararlanan *PKD1*'e özgü uzun menzilli polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) fragmanlarının kullanılması ve ardından mutasyonları tanımlamak için uzun menzilli ürünlerin Sanger sekanslaması veya YND'si ile genetik analiz kullanılmaktadır(26). Ayrıca hastalıktan sorumlu ana mutasyonun diğer PBH ya da siliyopati lokusları ile etkileşerek fenotipi modifiye ettiği ve hastalığın genotipini karmaşıkleştirdiğinden dolayı tüm kistik genleri içeren bir panelle taranması önerilmektedir(59). Bununla birlikte, spesifik yakalama iş akışlarını ve in siliko analizleri veya tüm genom dizilemeyi kullanan daha yeni gelişmiş YND yöntemleri rapor edilmiştir. ODPBH'nin genetik tanısı için yakalama paneline dayalı yaklaşımlar(26) ve sonrasında DNA dizileme ile varyantların doğrulanması tercih edilmektedir(59).

Genetik analizin sonuçlarının yorumlanması karmaşıktır. Bunda *PKD1*'in psödogenlerinin olmasının yanında, *PKD1* ve *PKD2*'de 1.900'den fazla farklı mutasyonun tanımlandığı ve hiçbir tek mutasyonun toplam hasta popülasyonunun %2'sinden fazlasını oluşturmadığı yüksek allel heterojenitesi rol oynamaktadır. *PKD1*'in varyantlarının yaklaşık %30'u çerçeve içi değişimdir ve bu genin 300'den fazla nötr etkili sessiz olmayan varyantı olduğundan bir yanlış anlamlı varyantın patojenik olup olmadığını belirlemek her zaman kolay değildir. ODPBH Mutasyon Veritabanının sorgulanması ve popülasyon veritabanlarından (örneğin, Genom Toplama Veritabanı (gnomAD) ve aile çalışmalarından gelen bilgilerle birlikte puanlama algoritmalarının kullanılması, bu varyantların patojenitesini belirlemeye yardımcı olabilir. ODPBH olan bireylerin yaklaşık %7'sinde mutasyon tespit edilememektedir. Bunun nedenleri derin intronik ya da düzenleyici bölgelerde olan mutasyonlar, ya da mozaikizm durumları olabilir(26).

2.1.6. Tedavi

ODPBH tedavisinde amaç böbrek fonksiyonlarındaki düşüşü yavaşlatmak ve böbrek ve böbrek dışı bulgulardan kaynaklanan mortalite ve morbiditeyi azaltmaktır(17). Tüm hastalara hidrasyonu artırmak, diyetle alınan sodyum ve proteini kısıtlamak ve sağlıklı bir kilo sağlamak için yaşam tarzı değişiklikleri önerilmektedir. Hastalığın prognozunda büyük fayda sağlayacak diğer bir öneri ise hipertansiyonun ve dislipideminin erken tespiti ve sıkı kontrolü olacaktır. Deneysel çalışmalar, ılımlı gıda

veya kalori kısıtlamasının, ODPBH'nin ortolog fare modellerinde hastalığın ilerlemesini önemli ölçüde engellediğini ve ODPBH'li hastalarda yüksek vücut kitle indeksinin kötü bir sonuçla ilişkili olduğunu göstermiştir(26).

ODPBH için özel bir tedavi seçeneği olan tolaptan birçok ülkede onaylanmıştır (66). Bir V2 reseptör antagonisti olan tolaptanın hem hayvan modellerinde hem de klinik çalışmalarda cAMP sinyal yolağını engelleyerek(59) erken ve geç dönem ODPBH olan bireylerde Toplam böbrek hacmi (TBH)'nin artışı ve eGFH'nin düşüşünü yavaşlattığı gösterilmiştir(26, 67). Yan etkileri poliüri, noktüri ve %5 hastada görülen karaciğer enzimlerinde yükseklik yapmasıdır. Özellikle hızlı ilerleyici hastalığı olan bireyler için endikedir(26, 59).

Hipertansiyonun mekanizmasında rol alan RAAS nedeniyle ACE inhibitörleri ve anjiyotensin 2 reseptör blokörleri böbrek fonksiyonları korunmuş kişilerde ilk seçenek olarak kullanılmaktadır. Bir çalışmada ODPBH olan bireylerde kalsiyum kanal blokörleri yerine ACE inhibitörlerinin kullanımının mikroalbuminüriyi azalttığı gösterilmiştir(17). ODPBH olan çocukların %20'sinde hipertansiyon görülmektedir(26). Bu yüzden ODPBH aile öyküsü olan çocukların hipertansiyon için 5 yaşından itibaren 3 yıl aralıklar ile taranması önerilmektedir. Çocuklarda hipertansiyon tedavisinde yine ilk seçenek ajan RAAS blokörleridir(67).

ODPBH için araştırılan diğer tedavilerden biri somatostatin analogu oktreotid de cAMP düzeylerini azaltarak etki etmektedir. Yapılan bir çalışmada PBH ilerlemesini yavaşlattığı gösterilmiş ancak istatistiksel anlamlı sonuç elde edilemediği için daha geniş çalışmalara gerek duyulmaktadır. mTOR inhibitörleri ile yapılan hayvan çalışmalarında umut vadeden sonuçlar olmasına rağmen klinik çalışmalarda fayda görülmemiştir. HMG-CoA redüktaz inhibitörü olan pravastatinin ise çocuklarda kist büyümesini yavaşlattığı küçük bir randomize klinik çalışmada gösterilmiştir(26).

Sirtuin 1, mikroRNA'lar ve MCP1 gibi PBH için olası tedaviler olarak öne sürülen alternatif mekanizmalar da mevcuttur. Son zamanlarda bir çoklu kinaz inhibitörü olan tesevatinibin Faz-II ve Faz-I klinik çalışmaları ODPBH için devam etmektedir(59).

SDBY için diyaliz tedavisi, diğer nedenlerle SDBY olan bireylere göre daha iyi sonuçlar vermektedir. Kadınlarda erkeklerden daha iyi sonuçlar alınmaktadır. Bunun nedeni kadınlarda daha yüksek endojen eritropoietin üretimi olabilir(17). ODPBH, periton diyalizi için bir kontrendikasyon olmamasına rağmen, büyük hacimli periton diyalizatını barındırma zorluğu ve artan karın duvarı fıtığı riski göz önüne alındığında, hemodiyalizden daha az kullanılır. Hemodiyaliz tedavisinde, ODPBH'li hastalarda

arteriovenöz fistüllerin anevrizmal dilatasyonu riski artabilir. Böbrek transplantasyonu renal replasman tedavisinin optimal yoludur ve başka nedenlerle SDBY olan bireylere göre sonuçları daha iyidir. Nefrektomi ise transplantasyondan önce, transplantasyon sırasında veya sonrasında yapılabilir(26).

ODPBH olan kişilerde nefrolitiazis, olmayan kişiler ile aynı şekilde tedavi edilmektedir. Yüksek sıvı alımı, potasyum sitrat, idrar alkalizasyonu, allopurinol, gerekirse ekstrakorporeal şok dalgası litotripsi ve perkütan litotomi başarı ile uygulanabilir(17).

PKH'li çoğu kişi asemptomatiktir ve tedavi ihtiyacı olmaz. Semptomatik olanlarda tedavi ise östrojenlerden sakınmak ve semptomatik rahatlama için H2 reseptör blokerleri ya da proton pompa inhibitörleri kullanmaktır. Ağır semptomları olan hastalarda kistlerin perkütan aspirasyonu ve sklerozu, laparoskopik fenestrasyon, kombine hepatik rezeksiyon ve kist fenestrasyonu, karaciğer transplantasyonu ve hepatik arter embolizasyonu gerekebilmektedir. Bunlardan herhangi biri kişi özelinde seçilmelidir(17).

İKA tedavisinde yırtılmış anevrizma boynundan cerrahi olarak kliplenmelidir(17). Yırtılmamış İKA için yönetim genel popülasyon ile aynıdır. Presemptomatik hastalarda manyetik rezonans anjiyografi ile yapılan taramalarda saptanan İKA'ların çoğunun boyutu 7 mm'den küçüktür ve anteriyele dolaşımdadır. Bunların genel popülasyonda rüptür riski çok düşüktür. Yapılan bazı çalışmalarda ODPBH'li bireylerde İKA seyrinin genel popülasyon ile aynı olduğu raporlanmıştır. 7 mm'den küçük İKA için tedavi genelde önerilmez. Tarama aralıkları ise boyutundaki değişime göre ayarlanmalıdır. İlk tarama negatif olduğunda, 5 yıl sonra yeniden tarama önerilmektedir(26).

2.2.Yeni Nesil Dizileme Yöntemi

İlk kez 1977 yılında başlayan spesifik zincir sonlandırıcı nükleotitlerin kullanıldığı Sanger dizileme, DNA dizileme tekniklerinde altın standart olmasına rağmen(68), sonuç verme süresinin uzun olması ve okuma uzunluğunun kısa olması gibi kısıtlılıklarından dolayı(69) milyonlarca DNA fragmentlerini aynı anda dizileyebilen YND teknolojisi günümüzde çok daha önemli bir yer tutmaktadır. YND ile çok az zamanda dizilenebilecek baz sayısı maksimuma çıkmakta, tüm genom, tüm ekzom ve çok sayıda gen içeren hedeflenmiş gen panelleri çok kısa bir sürede ve daha az maliyetle dizilenebilmekte, kompleks fenotiplerin çözülmesi kolaylaşmaktadır(70). Genetik olarak heterojen olan kalıtsal böbrek hastalıkları gibi birçok hastalıkta altta yatan nedeni bulmada, birçok geni

aynı anda dizileyebilen YND, Sanger dizilemenin önüne geçmiştir. YND kullanılarak elde edilen veriler tanıyı iyileştirmede, prognozu tahmin etmede, genetik danışmanlığı kolaylaştırmada ve hastalar için hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesini sağlamada potansiyel oluşturmaktadır(69, 71). Bunların yanında YND'nin Sanger dizilemeye göre hata oranının daha yüksek olması ve okuma uzunluğunun daha kısa olması, genomdaki psödogenler, tekrarlayan diziler, delesyon ve duplikasyonlar dolayısıyla genom hizalamanın zor olması, yanlış negatif ya da pozitif sonuçlar verebilmesi dezavantajlarıdır(70, 72).

Günümüzde YND masif paralel dizileme olarak da adlandırılmaktadır. YND uygulamaları DNA ve RNA dizileme ile nadir genetik hastalıkların tanısı, kanser teşhisi, aday gen keşfi(72), transkriptom çalışmaları, protein-DNA etkileşimleri, DNA metilasyon ölçümü, adli tıp, temel bilimler gibi birçok alanda kullanılmaktadır(69).

Bir YND çalışması sırasıyla genomik DNA izolasyonu, DNA'nın sonikasyon (yüksek frekanslı ses dalgaları) veya enzimatik reaksiyonlar yoluyla parçalara ayrılması, kütüphane hazırlama ve zenginleştirme, dizileme, referans genomu hizalama, varyant arama ve varyant açıklama (anotasyon) aşamalarını içermektedir. Fragmentasyon, hibridizasyon ve dizileme tekniklerine göre değişen birçok farklı YND platformu bulunmaktadır(69, 73). Bunların hepsi temelde milyonlarca ila milyarlarca kısa (20-250 bp) örtüşen dizi okumasının oluşturulması, bunların birbirleri ile ve referans genom ile hizalanarak haritalanması ve sonuçta devamlı bir DNA dizisinin oluşturulması prensibine dayanmaktadır. Okumalar referans genom ile hizalandığında, yeterli sayıda okuma bir ya da daha fazla baz pozisyonu ile eşleşmediğinde varyantlar tespit edilmektedir(72). Bu aşamadan sonra varyantların bir sonuç raporuna dönüştürülmesi ise oldukça karmaşık bir süreçtir. Tespit edilen varyantlar popülasyon ve varyant veri tabanlarındaki bilgilere göre filtrelenmekte ve sınıflandırılmaktadır. Klinik bulgular ile korelasyon yapılarak kompleks veri havuzu YND raporlarına dönüştürülmektedir(72).

Saptanan varyantların sınıflandırılmasında American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) tarafından yayınlanan, varyantın hastalıkla ilişkisinin kesinlik derecesini gösteren beş kategori (patojenik (P), muhtemel patojenik (MP), klinik önemi belirsiz (VUS), muhtemel benign (MB) ve benign (B)) bulunmaktadır. Varyantı bunlardan birinde sınıflandırmak için geliştirilen yönergeler kullanılmaktadır(74). Bu yönergelerde temelde 3 soruya cevap aranır. Varyant daha önce hastalıkla ilişkili olarak literatürde raporlanmış mı? Varyant popülasyonda ne kadar sıklıkta görülmektedir? Varyantın proteinin fonksiyonu üzerine etkisi nedir? Bu soruları cevaplamak için sık

görülen varyantlar dışlanmakta, bilgisayarlı tahmin araçlarını kullanılmakta ve literatür taraması yapılmaktadır. Bunun yanında kalıtım kalıbını da değerlendirmek gerekmektedir(72, 74). Varyantlar değerlendirilirken kullanılan veri tabanları tablo 2.1’de, bilgisayarlı tahmin araçları tablo 2.2’de gösterilmiştir(74).

Tablo 2.1 Varyantlar değerlendirilirken kullanılan veri tabanları(74)

Popülasyon veri tabanları	
Exome Aggregation Consortium	http://exac.broadinstitute.org/
Exome Variant Server	http://evs.gs.washington.edu/EVS
1000 Genomes Project	http://browser.1000genomes.org
dbSNP	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp
dbVar	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar
Hastalık Veri tabanları	
ClinVar	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar
OMIM	http://www.omim.org
Human Gene Mutation Database	http://www.hgmd.org
Lokus/ Hastalık/ Etnik / Diğer Özel Veri Tabanları	
Human Genome Variation Society	http://www.hgvs.org/dblist/dblist.html
Leiden Open Variation Database	http://www.lovd.nl
DECIPHER	http://decipher.sanger.ac.uk
Dizileme Veri Tabanları	
NCBI Genome	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome
RefSeqGene	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/rsg
Locus Reference Genomic (LRG)	http://www.lrg-sequence.org
MitoMap	http://www.mitomap.org/MITOMAP/
HumanMitoSeq	

Tablo 2.2 Varyantlar değerlendirilirken kullanılan in siliko tahmin araçları(74)
(Tüm veritabanları için erişim tarihi: 20.06.2023)

Kategori	İsim	Temel mekanizma	Web sitesi
	ConSurf	Evrimsel Korunma	http://consurftest.tau.ac.il
	FATHMM		http://fathmm.biocompute.org.uk
	MutationAssessor		http://mutationassessor.org
	PANTHER		http://www.pantherdb.org/tools/csnpscoreform.jsp
	PhD-SNP		http://snps.biofold.org/phd-snp/phd-snp.html
	SIFT		http://sift.jcvi.org

Yanlış anlamlı varyantlar için tahmin algoritmaları	SNPs&GO	Protein Yapı/Fonksiyon	http://snps-and-go.biocomp.unibo.it/snps-and-go
	Align GVGD	Protein yapı/fonksiyon ve evrimsel korunma	http://agvgd.iarc.fr/agvgd_input.php
	MAPP		http://mendel.stanford.edu/SidowLab/downloads/MAPP/index.html
	MutationTaster		http://www.mutationtaster.org
	MutPred		http://mutpred.mutdb.org
	PolyPhen-2		http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2
	PROVEAN	Varyant dizisi ve protein dizi homoloğu arasındaki benzerliğin hizalanması ve ölçümü	http://provean.jcvi.org/index.php
	nsSNPAnalyzer	Çoklu dizi hizalama ve protein yapı analizi	http://snpanalyzer.uthsc.edu
	Condel	SIFT, PolyPhen-2 ve MutationAssessor'ı birleştirir.	http://bg.upf.edu/fannsdb/
Kesim bölgesi tahmin algoritmaları	CADD	Simüle varyantlarla insanlarda sabit/neredeyse sabit türetilmiş allellerin ek açıklamalarını karşılaştırır.	http://cadd.gs.washington.edu
	GeneSplicer	Markov modelleri	http://www.cbcb.umd.edu/software/GeneSplicer/gene_spl.shtml
	Human Splicing Finder	Konuma bağlı mantık	http://www.umd.be/HSF/
	MaxEntScan	Maksimum entropi ilkesi	http://genes.mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentseq_scoreseq.html
	NetGene2	Nöral ağlar	http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2
	NNSplice		http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html
Nükleotid korunum tahmini	FSPLICE	Ağırlık matrisleri modeline dayalı kesim yerleri için türe özgü belirleyici	http://www.softberry.com/berry.phtml?topic=fsplce&group=programs&subgroup=gfind
	GERP	Genomik evrim hızı profili oluşturma	http://mendel.stanford.edu/sidowlab/downloads/gerp/index.html
	PhastCons	Korunan elementlerin koruma puanlaması ve tanımlanması	http://compugen.bscb.cornell.edu/phast/
	PhyloP	Hizalama ve filogenetik ağaçlar	http://compugen.bscb.cornell.edu/phast/help-pages/phyloP.txt

2.3.Amaç

PKD1 ve *PKD2* genlerindeki varyantların çoğu farklı ailelerde tekrarlamaz, tekrarlayan varyantlar %30'luk kısmı oluşturur. Şu ana kadar raporlanmış varyantların çoğu sınıflandırılmamış ve klinik önemi bilinmeyen varyantlar olarak adlandırılmıştır. Varyant saptanan gen ve varyantın tipi hastalığın prognozunu belirleyen ana faktörlerdir. Bu çalışmanın amacı, 2017-2022 yılları arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik polikliniğine başvuran ve YND ile Nefroloji paneli çalışılan ODPBH ön tanılı hastalarda ve bu fenotipe sahip olmayan kontrol grubu bireylerde *PKD1* ve *PKD2* genlerinde saptanan varyantları incelemek, ekzon ve ekzon-intron bileşkesinde bulunan varyantları sınıflandırmak, saptanan varyantların genler üzerindeki dağılımını araştırmak, hasta ve kontrol grubunda saptanan varyantları karşılaştırmak, bu varyantların toplum sıklığını araştırmak ve yeni tespit edilen varyantları varyant sınıflandırmasına kazandırmaktır. Bu sayede hastalık patofizyolojisinin altında yatan genetik çeşitliliği göstermek ve hasta yönetimini iyileştirmek amaçlanmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmamıza PBH nedeniyle Turgut Özal Tıp Merkezi Genetik polikliniğine başvuran ve *PKD1* ve/veya *PKD2* geni dizi analizi çalışılan 48 hasta ile benzer yaş grubunda kendinde veya ailesinde PBH öyküsü olmayan, başka nedenlerle nefroloji paneli çalışılmış, içerisinde bulunan *PKD1* ve *PKD2* genleri dizilenmiş 48 kontrol grubu birey dahil edilmiştir. Hastalar seçilirken aşağıda bulgular göz önünde bulundurulmuştur:

- Fazla miktarda böbrek kisti ve başka bir kistik böbrek hastalığını düşündüren bulgu olmaması
- Özellikle karaciğer başta olmak üzere, seminal veziküller, pankreas, araknoid membran gibi diğer organ kistleri
- Fizik muayenede böbrek ya da karaciğerin büyük tespit edilmesi
- 35 yaş altı bireylerde hipertansiyon olması
- İntrakraniyal anevrizma olması
- Ailede ODPBH öyküsü olması

Ön tanısı ve/veya nefroloji panel sonucu otozomal resesif PBH ile uyumlu olan hastalar ve sendromik PBH olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

3.2. Verilerin toplanması

Çalışmanın ilk adımında merkezimize başvuran hastaların tıbbi kayıtları ve genetik analiz sonuçları arşiv dosyalarının ve Turgut Özal Tıp Merkezi hastane sisteminin retrospektif incelenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Hastaların cinsiyet, doğum tarihi, tanı tarihi, radyolojik görüntüleme sonuçları, ailesinde kistik böbrek hastalığı olup olmadığı, ailesinde kronik böbrek yetmezliği olup olmadığı, anne-baba akrabalık derecesi, *PKD1* ve *PKD2* genlerinde saptanan varyantlar, varyantların tipi (missense, nonsense, delesyon vb.), varyantların sınıflaması kaydedilmiştir. Kontrol grubu bireylerin cinsiyeti, doğum tarihi, *PKD1* ve *PKD2* genlerinde saptanan varyantlar, varyantların tipi (missense, nonsense, delesyon vb.), varyantların sınıflaması kaydedilmiştir.

Hastalara ve kontrollere ait veriler bilgisayar ortamına girilmiştir ve değerlendirmeler bilgisayar yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Tablolarda sayılar yüzdelere ile beraber gösterilmiştir.

Bu çalışmada, hastalara ait periferik kan örneklerinin EDTA'lı tüpe alınması sonrasında genomik DNA izolasyonu, YND işlemi ile çalışılması, hastalarda tespit edilen

varyantlarının analizi ve patojenitelerine göre sınıflandırılma basamakları gerçekleştirilmiştir.

3.3. Genomik DNA izolasyonu

Hastalardan 2 ml periferik kan örneği EDTA'lı tüpe alınarak İnönü Üniversitesi Genetik Tanı Merkezi Laboratuvarına transfer edilmiştir. Genomik DNA izolasyonu için hasta kanlarının 200 µl'si QIAcube® cihazında (Qiagen, Almanya) spin kolon yöntemi ile QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak üreticinin talimatları doğrultusunda otomatik olarak yapılmıştır. İşlemin aşamaları aşağıdaki gibidir.

- 1) Solüsyonlar çalışma öncesi oda sıcaklığına getirilir.
- 2) Etiketleme yapılan 1,5 ml'lik ependorflar, rotor adaptörler ve spin kolonlar QIAcube cihazına belirli konfigürasyonda yerleştirilir.
- 3) Mikrosantrifüj tüplerine örnek başına önce 20 µl proteaz K, sonra 200 µl kan eklenir.
- 4) 200 µl Buffer AL, 200 µl etanol, 500 µl Buffer AW1, 500 µl Buffer AW2 ve 200 µl Buffer AE solüsyonları her örnek için üreticinin belirttiği protokollere göre cihaza eklenip QIAamp DNA Blood Mini Kit prosedürüne göre otomatik DNA izolasyonu yapılır.

3.3.1. DNA Miktar ve Kalitesinin Belirlenmesi

Genomik DNA eldesinin ardında DNA'nın konsantrasyonu ve saflığı belirlenmiştir. Bu işlem için Qubit® (Thermo Fisher Scientific, USA) florometre kullanılmıştır. DNA'ya spesifik olarak bağlanan florojenik boyaların ultraviyole ışını ile uyarılıp yayılan dalga boyunun florometre ile hesaplanması prensibine dayanarak DNA'nın florometrik ölçümü yapılır.

- 1) Hem standartların hem örneklerin ölçümü için Working solution (1 µl Reagent ve 199 µl HS Buffer) hazırlanır.
- 2) Önce standartların ölçümü yapılır (2 standart tüpünden birine 190 µl Working solution ve 10 µl Standart 1, diğerine 190 µl Working solution ile 10 µl Standart 2 eklenir. Kısa bir vortex-spin yapılarak standartlar ölçülür.
- 3) Örneklerin ölçümü için özel Qubit tüplerine 198 µl Working solution ve 2 µl DNA eklenir.
- 4) 2 dk oda sıcaklığında bekletilir. Sonra Qubit cihazından dsDNA-dsDNA High Sensitivity programı seçilir ve örneklerin kalite ve miktarı ölçülür.

- 5) Ölçüm sonrası örneklerin DNA konsantrasyonunu 10 ng/μl'ye getirecek kadar nuclease free su eklenir.

3.4. Yeni Nesil Dizileme

Genomik DNA izolasyonun ardından *PKD1* ve *PKD2*'yi de içeren 27 genin bulunduğu 1751 primer içeren ekzon ve ekzon-intron bileşkesindeki varyantları saptayabilecek Qiagen Qiaseq Targeted DNA Paneli (Nefroloji paneli) kiti kullanılarak ıslak laboratuvar çalışması yapılmış ardından “Qiagen Clinical Insight” online yazılımı ile GRCh37 (hg19) referans dizisi baz alınarak veriler analiz edilmiştir.

Nefroloji paneli içerisinde *COL4A3*, *COL4A4*, *COL4A5*, *NPHS1*, *NPHS2*, *PLCE1*, *ACTN4*, *TRPC6*, *CD2AP*, *LAMB2*, *PKD1*, *PKD2*, *PKHD1*, *NPHP1*, *WT1*, *SLC12A1*, *SLC12A3*, *KCNJ1*, *BSND*, *CTNS*, *CLDN16*, *CLCN5*, *CLCNKA*, *CLCNKB*, *SLC4A1*, *ATP6V0A4*, *ATP6V1B1* genleri dizilenmektedir.

3.4.1. Kütüphane Hazırlığı

Kütüphane hazırlığı için, Genomik DNA örneğinin fragmanlara ayrılması, uç tamiri yapılması, fragmanların 3' ucuna “A” nükleotidi eklenmesi, pürifikasyon ve sonrasında fragmanların uçlarına adaptör bağlanması, PZR ile amplifikasyonu, bağlanmayan adaptörlerin uzaklaştırılması, QIASeq Targeted DNA Panel kiti ile prop hibridizasyonu ve hedef zenginleştirme yapılması, hibridize olmayan fragmanların uzaklaştırılması amacıyla pürifikasyon, hedef kütüphane seçilmesi ve amplifikasyon sonrası hibridizasyon aşamaları sırayla gerçekleştirilmiştir. Hazırlanmış olan kütüphane, dizileme ham verilerini elde etmek amacıyla Miseq® (Illumina, ABD) YND cihazında yürütülmüştür.

Fragmentasyon: Genomik DNA örneği, kontrollü bir multi-enzim reaksiyon ile fragmente edildi, uç tamiri yapıldı ve A-kuyruğu eklendi.

- 1) Plakaya buz üzerinde, Tablo 3.1'e göre fragmentasyon, son onarım ve A-kuyruğu ekleme karışımı hazırlandı.
- 2) Her reaksiyona 5 μl Fragmentasyon Enzim Karışımı eklendi.
- 3) Plaka Thermalcycle'a konularak Tablo 3.2'de belirtilen protokole göre PZR gerçekleştirildi.

Tablo.3.1. Fragmentasyon, uç-tamiri ve A-ekleme reaksiyon karışımı

İçerik	Hacim (μl)
DNA	10-80 ng

Fragmantasyon Buffer, 10x	2,5
Nükleazsız Su	DNA miktarına göre
FERA Solüsyonu	0,75
Toplam	20

Tablo.3.2. Fragmantasyon, uç-tamiri ve A-ekleme için PZR döngüsü

Basamak	Süre	Derece
1	1 dk	4°C
2	24 dk	32°C
3	30 dk	72°C
4	∞	4°C

Adaptör Ligasyonu: Fragmente edilmiş DNA'lara, kullanılacak sekans platformuna spesifik adaptörler (UMI(unique molecular indices) ve sample index; 12 bazlık rasgele nükleotidler içeren spesifik diziler) 5'uçlarından bağlandı.

- 1) Tablo 3.3.e ya göre adaptör ligasyon karışımı hazırlandı.
- 2) Thermal cycler cihazında Tablo 3.4'e göre inkübe edilerek bağlanma gerçekleştirildi.

Tablo 3.3 Adaptör ligasyonu için reaksiyon karışımı

İçerik	Hacim (µl)
DNA	25
Ligasyon Buffer, 5x	10
IL-N7 adaptör	2,8
DNA ligaz	5
Ligasyon Çözeltisi	7,2
Toplam	50

Tablo 3.4 DNA ligasyonu için inkübasyon şartları

Adım	İnkübasyon sıcaklığı	İnkübasyon süresi
1	4°C	1 dk
2	20°C	15 dk
3	4°C	Bekleme

- 3) Adaptör eklenmiş olan DNA karışımı manyetik boncuklar ile temizlendi.
- 4) 9.4 µl süpernatant yeni plakaya aktarıldı.

Hedef Zenginleştirme: UMI içeren DNA fragmanlarının kütüphanede yeteri kadar zenginleştirilmesi için UMI bağlı DNA molekülleri, bir bölgeye özel primer ve adaptöre tamamlayıcı bir evrensel primer kullanılarak aşağıda belirtilen hacimler ve protokole göre hedefli PZR döngüsüne tabi tutuldu.

- 1) Hedef zenginleştirme için gerekli karışım Tablo 3.5.e göre hazırlandı.
- 2) Hedef zenginleştirme reaksiyonu santrifüj iyice karıştırıldıktan sonra 3. PZR için Thermalcycle'a yerleştirildi ve Tablo 3.6'ya göre PZR protokolü uygulandı.

Tablo 3.5. Hedef zenginleştirme için reaksiyon karışımı

İçerik	Hacim (µl)
Örnek (adaptör ligasyon protokolünden gelen)	9,4
TEPCR Buffer, 5x	4
QIAseq Targeted DNA panel	5
IL-Forward primer	0,8
HotStar Taq DNA Polimeraz	0,8
Toplam	20

- 3) DNA karışımı manyetik boncuklar (magnetic beads) ile temizlendi.
- 4) 13.4 µl süpernatant yeni plakaya aktarıldı.

Tablo 3.6. Hedef zenginleştirme PZR protokolü

Basamak	Süre (1500-12,000 primer/tüp)	Sıcaklık
İlk denatürasyon	13 dk 2 dk	95°C 98°C
6 döngü	15 sn 15 dk	98°C 66°C
1 döngü	5 dk	72°C
Bekleme	En az 5 dk	4°C

Universal PZR (Amplifikasyon): Kütüphaneyi çoğaltmak ve platforma özel adaptör dizileri ve ek numune indeksleri eklemek için Universal PZR gerçekleştirildi.

- 1) Universal PZR karışımı Tablo 3.7'ye göre hazırlandı.
- 2) PZR döngüsü Tablo 3.8'de olduğu gibi programlandı.
- 3) DNA karışımı manyetik boncuklar ile temizlendi.
- 4) 28 µl süpernatantı yeni plakaya aktarıldı.

Tablo 3.7. Universal PZR reaksiyon karışımı

İçerik	Hacim/reaksiyon
Örnek (hedef zenginleştirmeden gelen)	13,4 µl
HotStarTaq DNA	1µl
Nükleaz free su	1,6 µl
UPCR, Buffer, 5x	4 µl
Toplam	20 µl

Tablo 3.8. Universal PZR döngüsü

	Zaman (1500-12,000 primer/tüp)	Sıcaklık
İlk denatürasyon	13 dk 2 dk	95°C 98°C
21 döngü	15 sn 2 dk	98°C 60°C
1 döngü	5 dk	72°C
Bekleme	∞	4°C

Kütüphane kalite kontrolü: Kütüphane oluşturulduktan ve saflaştırıldıktan sonra kütüphane fragmanlarının boyut dağılımının doğruluğunu ve primer dimerlerinin yokluğunu kontrol etmek için hazırlanan kütüphanenin kalite kontrolü, QIAseq Library Quant Assay Kiti kullanılarak Real Time PZR (Rotor Gene) cihazında gerçekleştirildi. Illumina cihazları için hazırlanan kütüphaneler, 300 ile 1000 bp arasında bir boyut dağılımı göstermektedir.

- 1) ILMN DNA standartı buz üzerinde eritildikten sonra Tablo 3.9’da gösterildiği gibi 5 seri dilüsyonla seyreltildi.

Tablo 3.9 ILMN standardının seyreltilmesi

Standart	Illumina DNA standartı	Dilüsyon Buffer
Std1	5 µl dilüe edilmemiş	45 µl
Std2	5 µl Std1	45 µl
Std3	5 µl Std2	45 µl
Std4	5 µl Std3	45 µl
Std5	5 µl Std4	45 µl

- 2) Kütüphane örnekleri için 3 dilüsyon Tablo 3.10’daki gibi hazırlandı. (1:50, 1:5000, 1:50000).
- 3) PZR karışımı Tablo 3.11’deki oranlara göre (1 örnek için) hazırlandı.

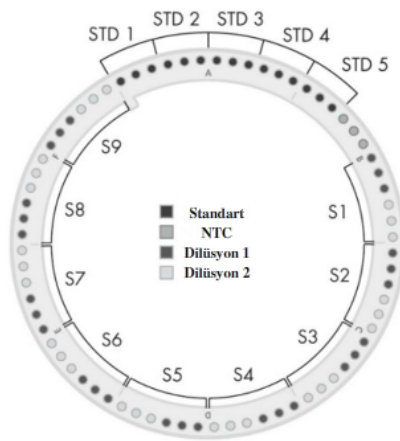
Tablo 3.10. Kütüphane örneklerinin dilüsyonu

Dilüsyon	Kütüphane	Dilüsyon Buffer
Dilüsyon 1 (1:50)	1 µl	49 µl
Dilüsyon 2 (1:5000)	1 µl (1:50)	99 µl
Dilüsyon 3 (1:50000)	4 µl (1:5000)	36 µl

Tablo 3.11. PZR karışımı hazırlanması

İçerik	Rotor disk 72
RNAaz/DNAaz içermeyen su	6,7 µl
Primer mix (10 µM)	0,8 µl
SYBR Green ROX FAST Mastermix	10 µl
Toplam hacim	17,5 µl

- 4) Tüplere 17,5 µl PZR karışımı dağıtılır ve her bir tüpe 2,5 µl dilue standartlardan (her standarttan 3'er tüp) sırasıyla eklenir. Ardından NTC (non-template kontrol) 3 tüpe eklenir. Dilue edilen kütüphaneler (1/5000 ve 1/50.000) sırasıyla eklenir ve Real-Time PZR (Rotor Gene) cihazına yüklenir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. QIAseq Library Quant Assay Kit düzeni (Rotor 72)

- 5) Real time PZR cihazı (Rotor Gene) aşağıdaki döngüde kuruldu. 30 döngünün sonunda floresan ışına için veri toplaması yapıldı.

Tablo 3.12. Real time RZR döngüsü

Döngü	Süre	Sıcaklık	Yorum
1	10 dk	95°C	HotStarTaq DNA polimeraz bu ısıtma adımında aktive olur.
30	15 sn 5 sn 5 sn 60 sn	95°C 68°C 65°C 60°C	Floresan veri toplanması yapılır.

- 6) PZR döngüsü bittikten sonra örneklerin Rotorgene’den çıkan Ct değerleri alındı ve “Illumina Veri Analiz Programı _ 72’lik rotor disk için” excel tablosuna yazıldı ve pikomolar (pM) cinsinden konsantrasyonlara ulaşıldı. Örnek Ct değerleri std Ct değerleri ile kıyaslanarak örneğin hangi konsantrasyonundan kullanılacağına karar verildi.

3.4.2. Dizileme

- 1) Kütüphane konsantrasyonları nükleaz içermeyen su kullanılarak 4 nM’e (yükleme konsantrasyonu) dilue edildi.
- 2) Tek bir tüpte ortak kütüphane (megapol) her örnekten 5 µl alınarak hazırlandı.
- 3) 597 µl Hibridizasyon Buffer (HT1) ve 3 µl Qiaseq A Read1 Custom Primer bir ependorf tüpe eklenerek Forward primer olarak etiketlendi.
- 4) Kullanılan kartuşa (v2/v3) ve kütüphaneye göre örneklerin dilüsyonuna devam edildi. (v2:12pM, v3:15pM-20pM)
- 5) İstenen konsantrasyona getirilmiş örneklerden 600 µl, “forward primer” olarak hazırlanan tüpten 600 µl üreticinin önerdiği şekilde “flow cell” ve kartuşa yüklendi.
- 6) Miseq Control Software üzerinden sekans komutuna basarak yükleme aşamaları takip edildi ve kontroller sağlandıktan sonra dizileme başlatıldı. 2 günlük cihaz dizileme sürecinden sonra ham veriler alındı. Kartuş tanıtılarak Miseq cihazında dizileme işlemi başlatıldı.

3.5. YND Verilerinin Biyoinformatik Analizi

- 1) YND paneli dizileme işlemlerinden sonra hedeflenmiş genlerin dizilerini içeren ham veriler FastQ formatında elde edildi.

- 2) FASTQ dosyaları Human Genome 19 / hg19 referans dizisine hizalanarak BAM (Binary Alignment Map) dosyası elde edildi.
- 3) Referans diziyle olan farklılıklar VCF (Variant Calling File) dosyasına dönüştürüldükten sonra kalite standartlarına göre filtrelenerek analize hazır hale getirildi.
- 4) Verilerin analizi için Qiagen Clinical Insight (QCI) Interpret yazılımı kullanıldı.

3.6. YND Varyantlarının Sınıflandırılması

- 1) Genlerin transkriptleri ‘Ensembl’ ve RefSeq’ veri tabanlarından, protein izoform ve domain bilgileri ‘UniProt’ veritabanından elde edildi. Varyantlar Human Genome Variation Society tarafından yayınlanan kılavuza göre yazılmıştır.
- 2) 20x derinlikte ve en az %97 kapsamı olan varyantlar değerlendirilmeye alınmıştır.
- 3) Elde edilen varyantların sınıflandırılması için AMP (Association for Molecular Pathology) ve ACMG tarafından yayınlanan kılavuzların önerileri kullanılmıştır. Kılavuza göre belirtilen kriterler benign (B) ya da patojenik (P) olarak iki gruba ayrılıp kanıt düzeyine göre çok güçlü (very strong; VS), tek başına yeterli (standa alone; SA), güçlü (strong; S), orta (moderate; M), destekleyici (supporting; P) olarak sınıflandırılmıştır(74). Bu kılavuza göre kullanılması gereken kriterler şu şekildedir:

- Proteinde fonksiyon kaybına neden olacak “Nonsense”, “frameshift” delesyon veya duplikasyon varlığı çok güçlü patojenik (PVS1) kriter olarak değerlendirilir.
- Aynı kodondaki nükleotidin farklı bir nükleotide dönüşümünden kaynaklanan tanımlanmış patojenik aynı aminoasit değişikliğinin varlığı, aile çalışması yapılan olgularda varyantın de novo olması, varyantın patojenitesini gösteren fonksiyonel çalışma olması, vaka-kontrol çalışmasında hasta bireylerde kontrollere göre önemli artış olması güçlü patojenik (PS1, PS2, PS3, PS4) kriter olarak değerlendirilir.
- Varyantın protein üzerinde mutasyonel ‘hotspot’(sıcak nokta) ya da iyi tanımlanmış kritik bir domainde yer alması, varyantın GnomAD, ExAC gibi sağlıklı toplum veri tabanlarında daha önce bildirilmemiş olması, otozomal resesif hastalıklarda patojenik varyantın trans pozisyonunda bulunması, tekrar bölgeleri dışında çerçeve kayması ya da stop kodonu oluşturan mutasyonların protein uzunluğunu değiştirmesi, aynı kodonu

etkileyen patojenik farklı bir missense değişimin olması orta patojenik (PM1, PM2, PM3, PM4, PM5) kriter olarak değerlendirilir.

- Varyantın aynı aile içinde aynı hastalığa sahip bireylerde segregasyonu olması, missense varyantların hastalık mekanizmasında bulunması ve gendeki benign missense mutasyon oranının düşük olması, “missense” mutasyonlar için “CADD, MutationTaster, Polyphen, SIFT, PROVEAN, MutPred, FATHMM, EIGEN, DEOGEN2, REVEL, MetaRNN” gibi in-siliko analiz programlarının çoğunluğunun gen veya son protein ürününde hasar verici yönde skor vermesi, hastanın kliniğinin genetik etiyojideki hastalıkla uyumlu olması, güvenilir literatürde patojenik olarak bildirilmiş olması destekleyici patojenik (PP1, PP2, PP3, PP4, PP5) kriter olarak değerlendirilir.
- Varyantın Exome Sequencing Project (ESP) (<https://esp.gs.washington.edu/drupal/>, 23.06.2023) veya 1000 Genom Projesi (<http://www.internationalgenome.org/>, 23.06.2023) veya Exome Toplama Konsorsiyumu (ExAC) (<http://exac.broadinstitute.org/>, 23.06.2023) gibi sağlıklı toplum veri tabanlarında allel sıklığının %5’in üzerinde olması tek başına yeterli benign (BA1) kriter olarak değerlendirilir.
- Allel sıklığının klinik için beklenenden yüksek olması, tam penetrans gösteren hastalıklarda sağlıklı yetişkin bireylerde bulunması, fonksiyonel çalışmalarında hasar verici etki görülmemesi, aile segregasyonunda etkilenen bireyde bulunmaması güçlü benign (BS1, BS2, BS3, BS4) kriter olarak değerlendirilir.
- Hastalık etiyopatogeneğinde erken sonlanma mutasyonlarının olduğu durumda missense mutasyon saptanması, tekrar bölgesinde çerçeve içi delesyon veya insersiyon saptanması, in siliko veri tabanlarının gen veya protein ürününün hasar verici etkilendiğini göstermemesi, güvenilir literatürde benign olarak bildirilmiş olması, sessiz değişimin splicing algoritmalarında konsensüs dizilerinde değişiklik yapmaması ve alternatif splice oluşturmaması ve nükleotidin korunmuşluk düzeyi yüksek bir bölgede bulunmaması destekleyici benign (BP1, BP2, BP3, BP4, BP5, BP6, BP7) kriter olarak değerlendirilir.

Tablo 3.13. Varyantların sınıflandırılmasında kullanılan kriterlerin birlikte değerlendirilmesi (74)

Patojenik	1) 1 Çok güçlü (PVS1) VE a. ≥ 1 Güçlü (PS1–PS4) YA DA b. ≥ 2 Orta (PM1–PM6) YA DA c. 1 Orta (PM1–PM6) ve 1 destekleyici (PP1–PP5) YA DA d. ≥ 2 Destekleyici (PP1–PP5) 2) ≥ 2 Güçlü (PS1–PS4) YA DA 3) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE a. ≥ 3 Orta (PM1–PM6) YA DA b. 2 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 2 destekleyici (PP1–PP5) YA DA c. 1 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 4 destekleyici (PP1–PP5)
Muhtemel Patojenik	1) 1 Çok güçlü (PVS1) VE 1 orta (PM1–PM6) YA DA 2) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE 1–2 orta (PM1–PM6) YA DA 3) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE ≥ 2 destekleyici (PP1–PP5) YA DA 4) ≥ 3 Orta (PM1–PM6) YA DA 5) 2 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 2 destekleyici (PP1–PP5) YA DA 6) 1 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 4 destekleyici (PP1–PP5)
Benign	1) 1 Tek başına (BA1) YA DA 2) ≥ 2 Güçlü (BS1–BS4)
Muhtemel Benign	1) 1 Güçlü (BS1–BS4) VE 1 destekleyici (BP1–BP7) YA DA 2) ≥ 2 Destekleyici (BP1–BP7)
Klinik Önemi Belirsiz	1) Yukarıdaki kriterler karşılanamıyorsa YA DA 2) Benign ve patojenik kriterler arasında çelişki varsa

- 4) Patojenite sınıflaması yapılırken Qiagen Clinical Insight (QCI) Interpret yazılımı yanında; Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enstitüsü'ne ait ClinVar veri tabanı (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>, 23.06.2023), Varsome (Saphetor, İsviçre), Franklin (Genoox, ABD) analiz platformlarından da yararlanıldı. Ayrıca raporlanacak tüm varyantlar Bütünleştirici Genomik Görüntüleyici (IGV) yazılımı kullanılarak değerlendirildi. İmkan bulunan hastalarda aile segregasyonları yapıldı.

- 5) Verilen kriterler ve kanıt düzeyine göre varyantlar sırasıyla B, MB, VUS, MP ve P olarak 5 sınıfa ayrıldı.

3.7. Klinik Önemi Bilinmeyen Varyantlarının tekrar analizi

Hastaların ve kontrollerin klinik bilgileri ve genetik sonuçları İnönü Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı arşivinden toplanmıştır. Klinik önemi bilinmeyen varyantların sınıflaması, veri tabanlarının güncellenmesi, literatür bilgilerinin değişmesi sonucu farklılaşabileceğinden yeniden analiz edilme ihtiyacı bulunmaktadır. Bundan dolayı VUS varyant tespit edilen olgular Varsome (Saphetor, İsviçre) ve Franklin (Genoox, ABD) analiz platformları ile Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enstitüsü'ne ait ClinVar veri tabanı kullanılarak yeniden analiz edilmiştir. Ayrıca PubMed veri tabanında ve arama motorunda varyant ile ilişkilendirilmiş yayınlar incelenmiştir. Elde edilen veriler ve ACGM'nin son kılavuzuna göre varyantlar tekrar değerlendirilerek yeniden 5 sınıfa ayrıldı.

3.8. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analiz

Saptanan varyantlar ACMG kriterleri, çeşitli in siliko tahmin araçları, segregasyon analizleri, klinik bilgiler kullanılarak değerlendirilmiştir. *PKD1* ve *PKD2* gen taramasının ODPBH için tanı değeri P ve MP varyant saptanan hasta sayısı tüm hasta sayısına oranlanarak yüzde cinsinden hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar güncel literatür verileri ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmada hastaların ve kontrollerin elde edilen verileri Excel programına girilerek hastalarda saptanan klinik ve genetik bulgular arasındaki ilişki tanımlayıcı istatistiksel metotlar (ortalama, standart sapma, medyan, sıklık ve oran) ile değerlendirilmiştir. Hem hastalarda hem de kontrollerde allel frekansları Ki-kare testi kullanılarak Hardy-Weinberg dengesi için kontrol edilmiş ve p-değeri<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3.9. Etik Kurul Onayı

Çalışma için Etik Kurul onayı, 06.09.2022 tarihli İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu, Sağlık Bilimleri Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 2022/3812 karar numarasıyla alınmıştır (EK-1).

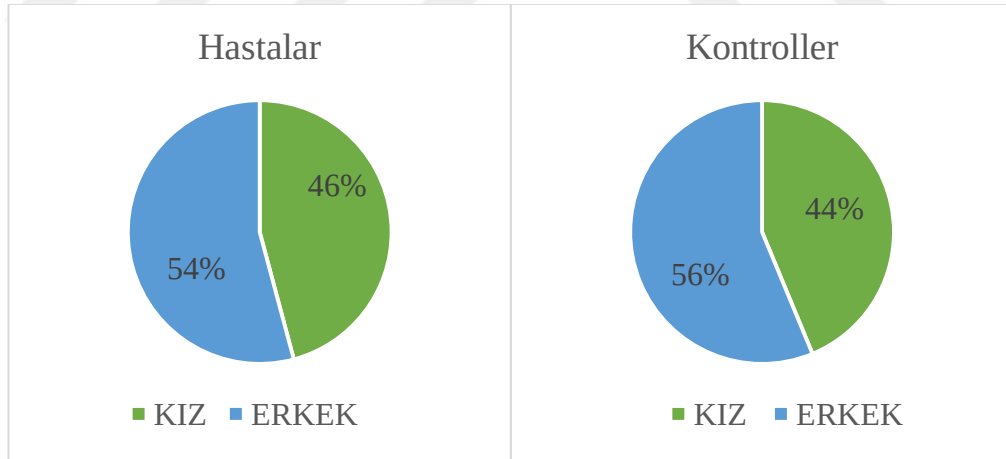
4.BULGULAR

4.1.Demografik Özellikler

Çalışmamız retrospektif tanımlayıcı türde bir çalışma olup, 2017 ve 2022 yılları arasında merkezimize başvuran, çocuk veya erişkin nefroloji bölümleri tarafından ODPBH ön tanısıyla veya ön tanının kesinleştirilemediği PBH bulgularıyla takip edilen 11 erişkin ve 37 çocuk (0-18 yaş) olmak üzere 48 hastanın ve benzer yaş grubunda kendinde veya ailesinde PBH öyküsü olmayan, başka nedenlerle nefroloji paneli çalışılmış, içerisinde bulunan *PKD1* ve *PKD2* genleri dizilenmiş 48 kontrol grubu bireyin yeni nesil dizileme çalışması sonrası elde edilen verileri, dosya ve HBYS sistemindeki kayıtları retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

Tüm hastaların kliniğimize başvuru anındaki yaş ortalaması $15,07 \pm 15,51$ (medyan 11.71; en küçük 3 günlük, en büyük 64 yaş) olup, hastalık başlangıç (ilk semptom) yaşı ortalaması ise $11,49 \pm 13$ 'tür (medyan:9 (0-56)) (Tablo 4.2). Hastaların 26'sı erkek (%54), 22'si kız (%46) cinsiyetten oluşmaktadır (Şekil 4.1).

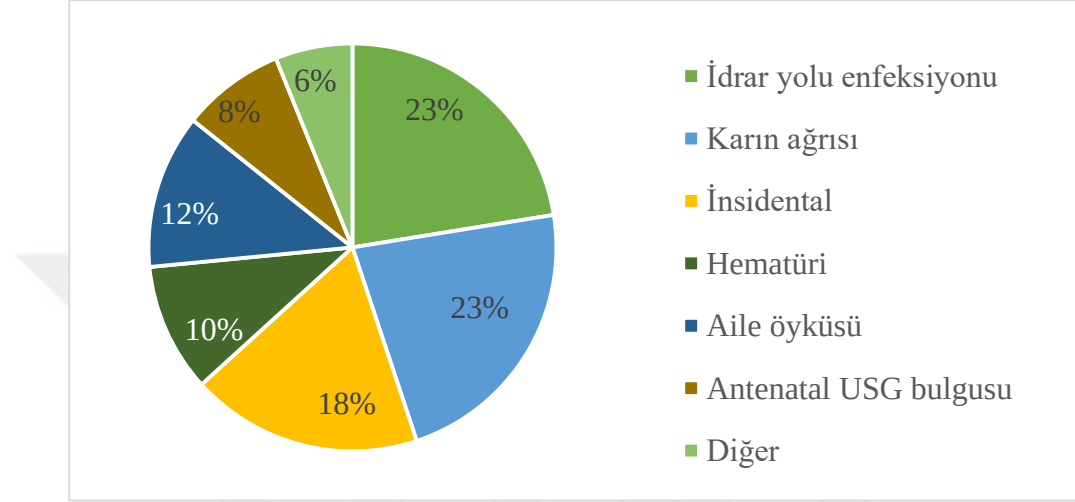
Kontrol grubunun başvuru yaşı ortalaması $14,48 \pm 15,15$ (medyan 10,7; en küçük 1 aylık, en büyük 66 yaş) olup, kontrollerin 27'si erkek (%56), 21'i kız (%44) cinsiyetten oluşmaktadır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Çalışmaya dahil edilen hastaların ve kontrollerin cinsiyet dağılımı

Hastaların başlangıç şikâyeti çoğunlukla İYE ve karın ağrısı olduğu görülmüştür. Bunları insidental olarak saptanan böbrek kistleri takip etmektedir. Hematüri ve aile öyküsü yanında böbrek yetmezliğiyle ve sarılıkla başvuran birer olgumuz mevcuttur. En erken başlangıçlı olan antenatal USG bulgusu ile tanı alan 4 hastadan ikisinde antenatal hidronefroz, ikisinde antenatal böbrek kistleri görülmüştür (Şekil 4.2).

Şekil 4.2 Çalışmaya dahil edilen hastaların başlangıç şikayeti dağılımı



48 hastanın *PKD1* ve *PKD2* genlerini içeren YND panel sonucunda 20 (%41,6) hastada *PKD1*, 7 (%14,6) hastada *PKD2* olmak üzere toplamda 27 (%56,25) hastada P veya MP varyant saptanarak hastalığın genetik etiyojisi açıklanmıştır. 8 (%16,6) hastada VUS varyant tespit edilirken 13'ünde (%27) sadece B ve/veya MB varyantlar saptanmıştır. Nedensel olabilecek varyant tespit edilemeyen 13 hastadır (%27). Buna karşılık kontrollerde beklendiği gibi P veya MP varyant saptanmamıştır (Tablo 4.1). Nedensel olabilecek 34 P, MP ve VUS varyantın 30'u *PKD1*'de (%88,2), 4'ü *PKD2*'dedir (%21,8).

Tablo 4.1 Hasta ve kontrollerde *PKD1* ve *PKD2* varyantları

Varyant tipi	Hasta sayısı n (%)	Kontrol sayısı n (%)
<i>PKD1</i> -P/MP	20 (%41,6)	0
<i>PKD2</i> -P/MP	7 (%14,6)	0
<i>PKD1/PKD2</i> patojenik olmayan	21 (%43,8)	48 (%100)
Toplam	48 (%100)	48 (%100)

Tablo 4.2 Hastaların demografik özellikleri

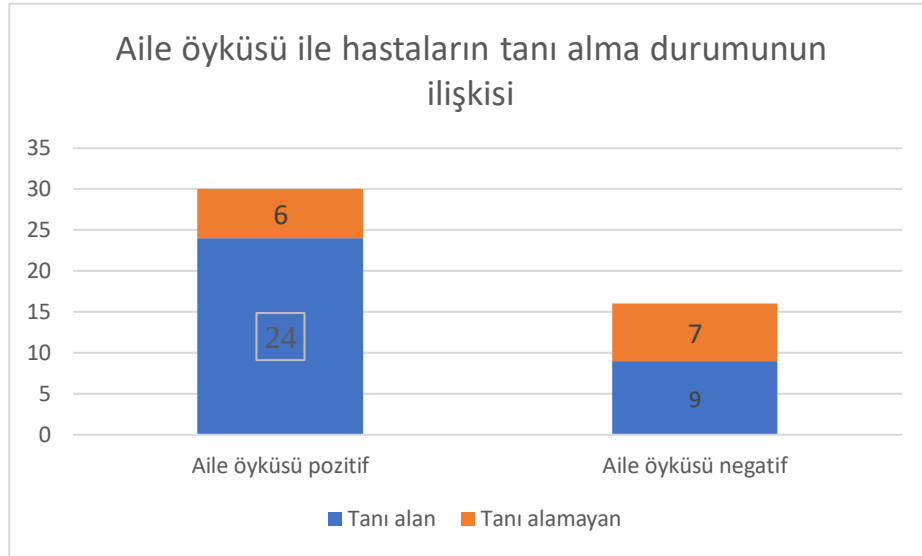
Özellik	Sayısı (yüzde)
Cinsiyet Erkek Kız	26 (%54) 22 (%46)
Başvuru Yaşı Ortalama±Standart Sapma Medyan (Min-Maks)	15,07±15,51 11.71 (0-64)
Başlangıç Yaşı Ortalama±Standart Sapma Medyan (Min-Maks)	11,49 ± 13 9 (0-56)
Aile Öyküsü Var Yok	30 (%65,2) 16 (%34,8)
Ekstrarenal kist varlığı Var Yok Bilinmeyen	8 (%16,6) 19 (%39,6) 21 (%43,8)

46 hastanın 30'unda(%65,2) aile öyküsü pozitifken 16'sında (%34,8) aile öyküsü negatiftir (sporadik)(Tablo 4.3). Aile öyküsü pozitif olanlardan %70'i (21/30) kesin tanı alırken, aile öyküsü negatif hastalardan %25'i (4/16) kesin tanı almıştır (Şekil 4.3).

Tablo 4.3 Aile öyküsü olan ve olmayan hastalarda tanı oranları

	Aile öyküsü pozitif n (%)	Aile öyküsü negatif n (%)	Toplam n (%)
Tanı alan	21 (70)	4 (25)	25 (54,3)
Tanı alamayan	9 (30)	12 (75)	21 (45,7)
Toplam(n)	30 (100)	16 (100)	46 (100)

Aile öyküsü ve tanı alma arasındaki ilişkiye bakıldığında aile öyküsü olanlarda tanı alma oranı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır (Ki kare=8.517, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0.035).



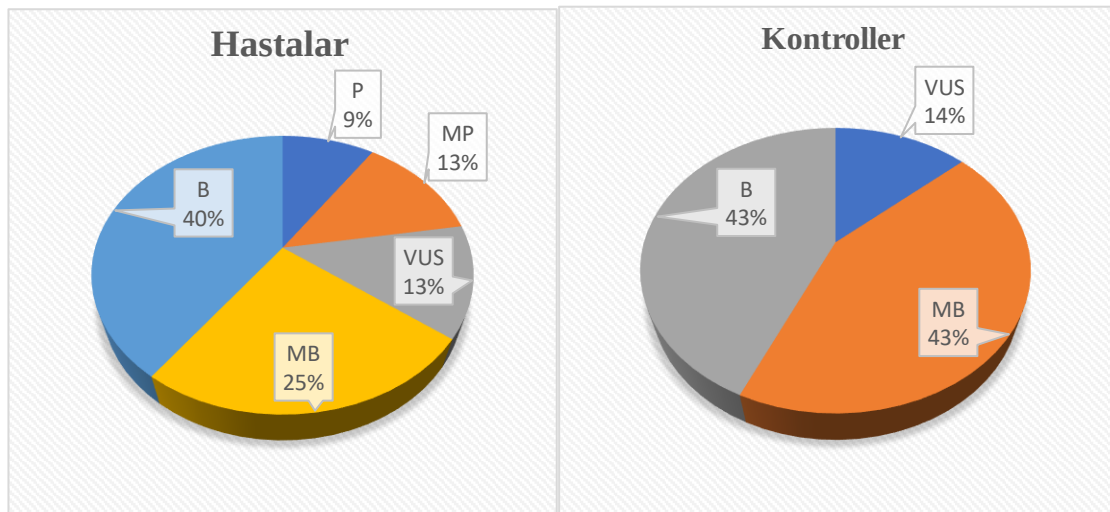
Şekil 4.3 Aile öyküsü ile hastaların tanı alma durumunun karşılaştırılması

4.2.Yeni Nesil Dizileme Bulguları

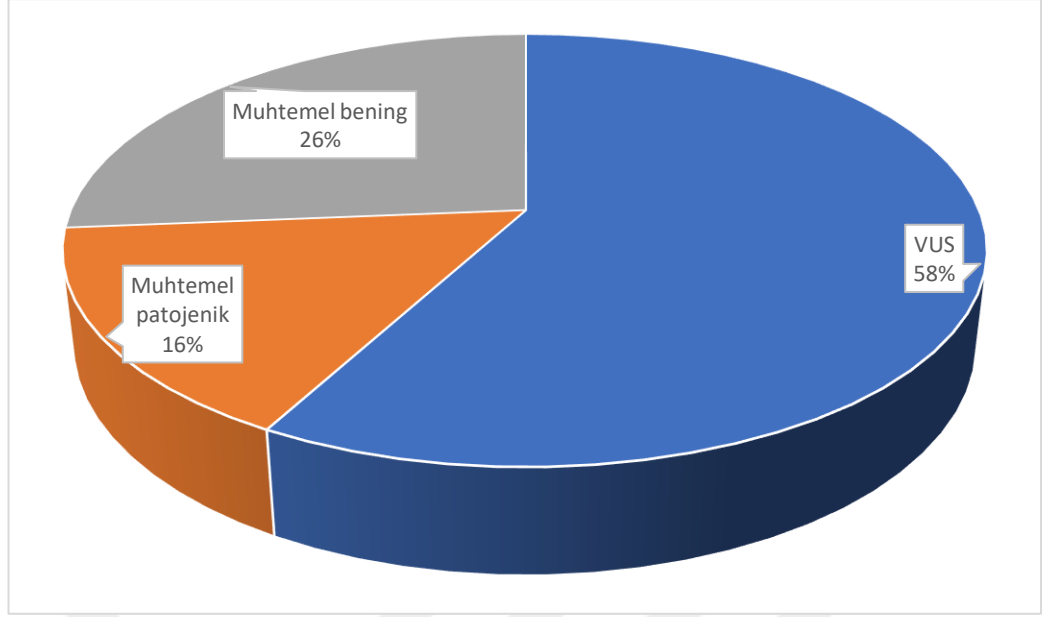
Hasta grubunda *PKD1* geninde 19 VUS, 8 P, 8 MP, 16 MB, 34 B sınıflamasında olan toplam 85 varyant saptandı. ACMG kriterleri ile 2023 yılında yeniden değerlendirildikten sonra 19 VUS varyantın 3'ü MP, 5'i MB olarak değişmiş 11 VUS varyantın sınıflaması değişmemiştir. Buna göre varyantlar 8 P, 11 MP, 11 VUS, 21 MB, 34 B olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 4.3).

Kontrol grubunda *PKD1*'de toplam 67 varyant saptandı. 29 B, 29 MB, 9 VUS olarak sınıflandırıldı (Şekil 4.4).

Hasta grubundaki VUS varyantların sınıflamasının yeniden analiz sonrası değişimi Şekil 4.5'te gösterilmiştir.

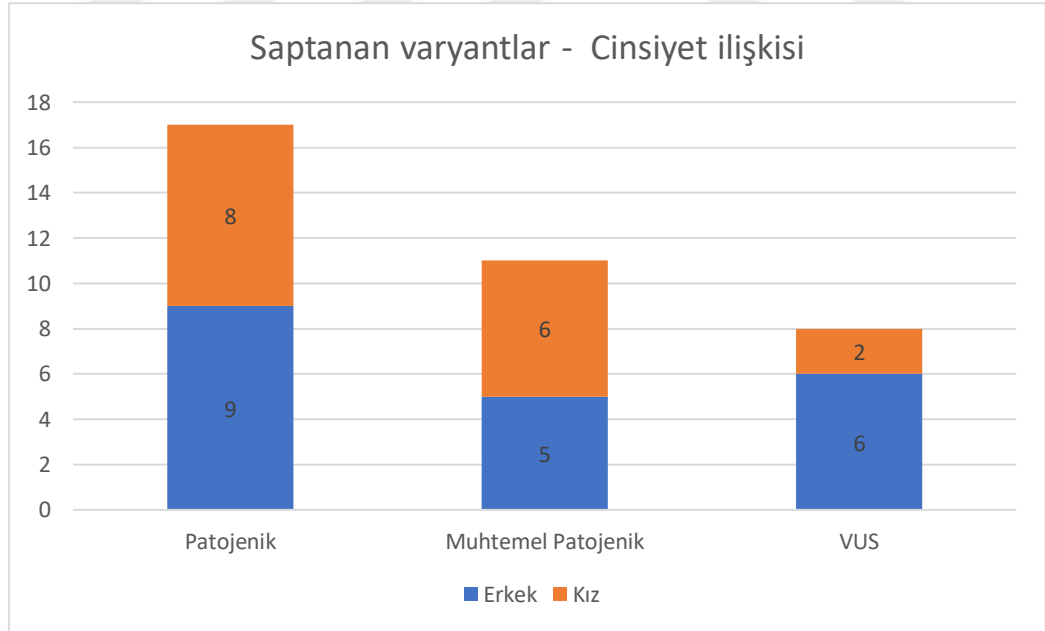


Şekil 4.4 Hastalarda ve kontrollerde saptanan *PKD1* varyantlarının ACMG sınıflaması



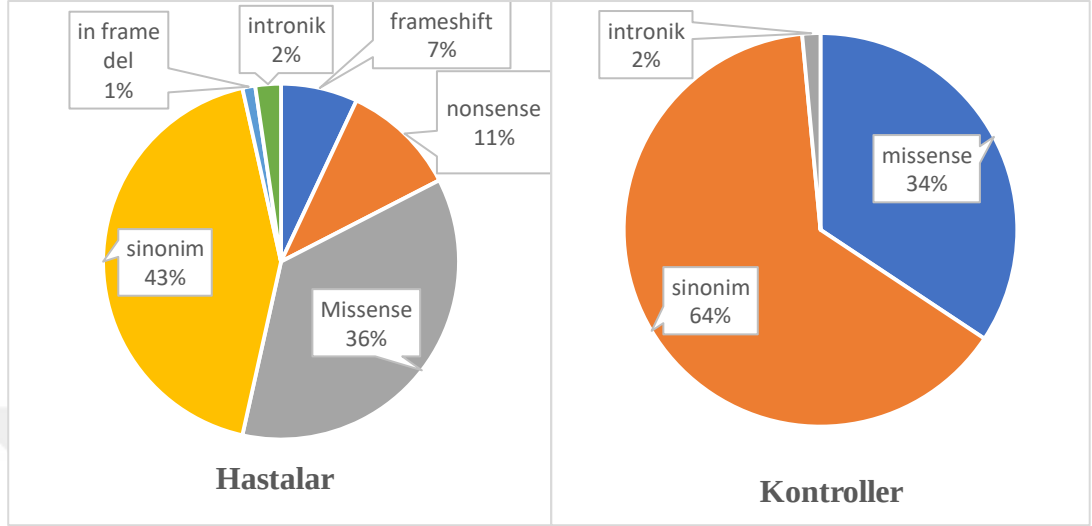
Şekil 4.5 Hastalarda tespit edilen VUS varyantların yeniden analiz sonrası değişimi

Hastalarda tespit edilen P, MP ve VUS varyantların cinsiyete göre dağılımı Şekil 4.6’da gösterilmiştir.



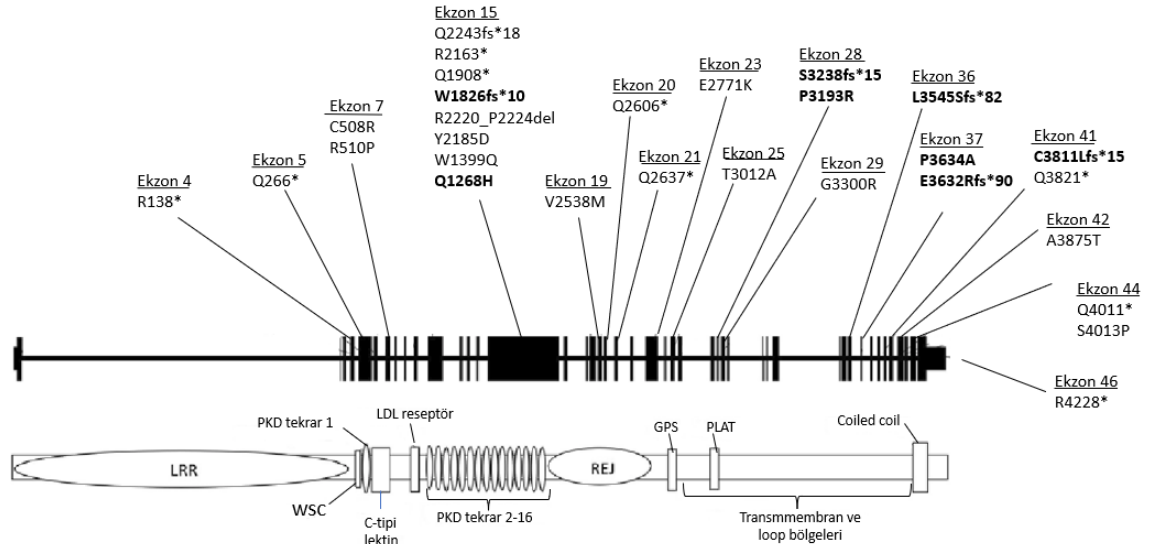
Şekil 4.6 Hastalarda saptanan P, MP, VUS varyantların cinsiyetler ile ilişkisi

Hasta grubunda *PKD1*'de saptanan varyantların 6'sı frameshift, 9'u nonsense, 31'i missense, 37'si sinonim, biri in frame delesyon, 2'si introniktir (Şekil 4.7). Kontrollerde 23 missense, 43 sinonim, 1 intronik varyant saptandı (Şekil 4.7).

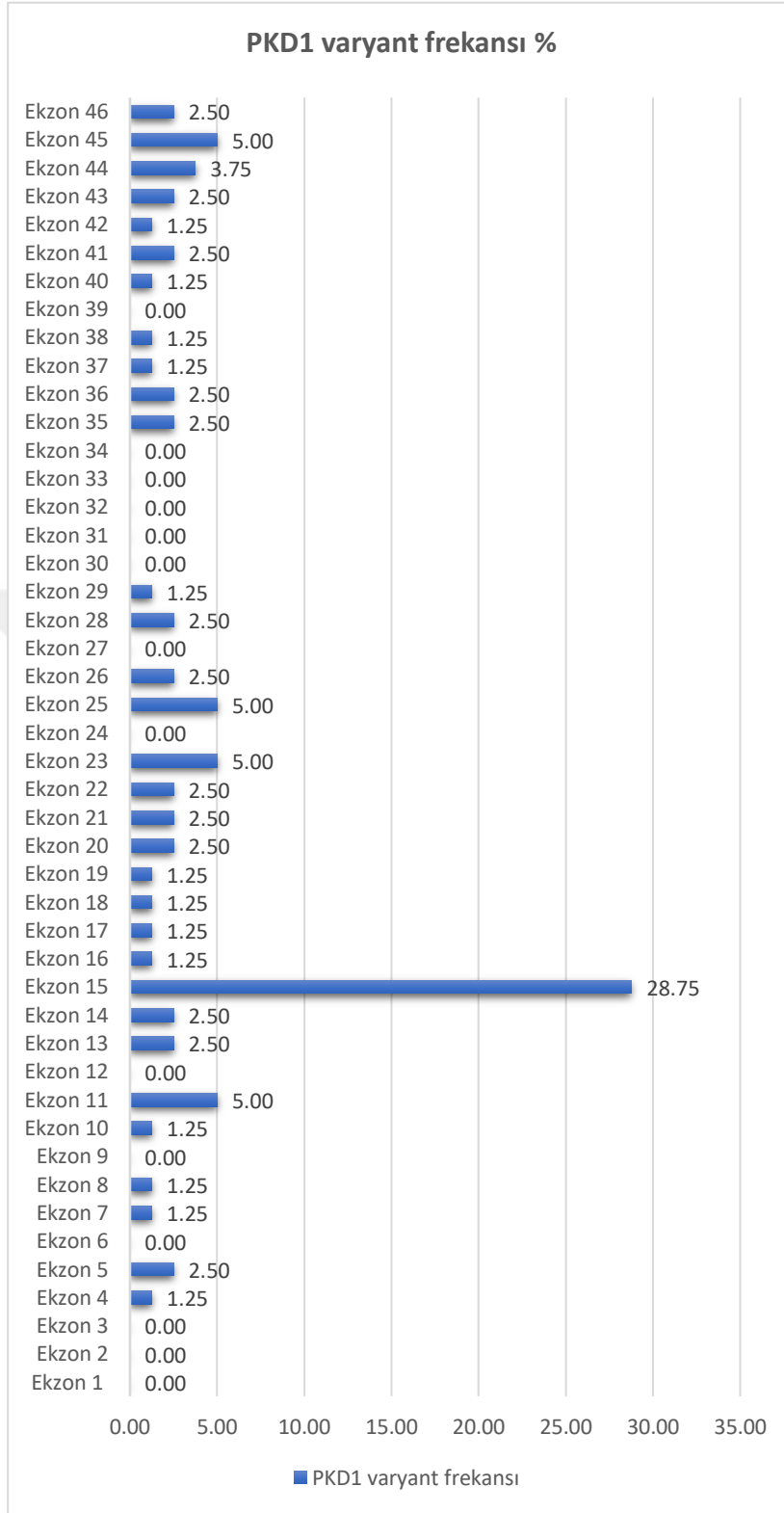


Şekil 4.7 Hastalarda ve kontrollerde saptanan *PKD1* varyantlarının tiplerine göre dağılımı

Hasta grubunda saptanan *PKD1* varyantlarının ekzonlara göre dağılımına bakılmış varyantların en sık ekzon 15'te olduğu görülmüştür. Varyantlar protein üzerinde ise en sık Receptor for Egg Jelly (REJ) modülüne denk gelmektedir (Şekil 4.8-9).



Şekil 4.8 *PKD1*'de saptanan P, MP ve VUS varyantların dağılımı (Yeni (bir yerde ilk kez karşılaşılan) varyantlar kalın olarak gösterilmiştir.)



Şekil 4.9 Ekzonlara göre *PKD1* varyant frekansları

Hastalarda saptanan *PKD1* genindeki varyantlar trunke edici (frameshift ve nonsense), sinonim olmayan (missense ve in frame delesyon), sinonim ve intronik olarak 4 gruba ayrılmış ve Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4 Hastalarda saptanan *PKD1* geni (Refseq Transkripti: NM_001009944) varyantları

cDNA	Protein	Domain	Ekzon	Tip	Veritabanı	İn silico analizler					ACMG Kriterleri	ACMG Smifı	Kaç hastada görüldü ?
						CADD	Polyphen	SIFT	Mutation Taster	PROVE AN			
TRUNKE EDİCİ													
c.12682C>T	p.R4228*	Coiled coil	46	Nonsense	rs199476095	Zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PS4, PM2, PM6, PP1, PP5	P	1
c.12031C>T	p.Q4011*	TDY	44	Nonsense	HGMD: CM981544	Zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PS4, PM2, PM6, PP5	P	1
c.11461C>T	p.Q3821*	TDY	41	Nonsense	HGMD: CM001307	Zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PS2, PM2, PP5	P	2
c.11432delG	p.C3811Lfs*15	TDY	41	Frameshift	YENİ	Zararlı	AE	AE	NA	AE	PVS1, PM2	MP	1
c.10893dup	p.E3632Rfs*90	TDY	37	Frameshift	YENİ	AE	AE	AE	NA	AE	PVS1, PM2	MP	1
c.10631dupG	p.L3545Sfs*82	TDY	36	Frameshift	YENİ	AE	AE	AE	NA	AE	PVS1, PM2	MP	1
c.9710dupC	p.S3238fs*15	TDY	28	Frameshift	YENİ	AE	NA	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PM2	MP	1
c.7909C>T	p.Q2637*	REJ	21	Nonsense	HGMD: CM119594	Zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PM2	MP	1
c.7816C>T	p.Q2606*	REJ	20	Nonsense	HGMD: CM1618372	Zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PS4, PM2, PP5,	P	1
c.6727_6728delCA	p.Q2243fs*18	REJ	15	Frameshift	rs1567191601	Zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PS4, PM2, PP1, PP5	P	1
c.6487C>T	p.R2163*	REJ	15	Nonsense	rs1555454411	Zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PP5, PM2	P	1
c.5722C>T	p.Q1908*	PKD15	15	Nonsense	HGMD: CM1110561	Zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PP5, PM2	P	1
c.5476delT	p.W1826fs*10	PKD14	15	Frameshift	YENİ	AE	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PM2	MP	1
c.796C>T	p.Q266*	WSC	5	Nonsense	HGMD: CM022653	Zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PM2	P	1
c.412C>T	p.R138*	LRRCT	4	Nonsense	rs1596591955	Zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PVS1, PP5, PM2	MP	1

SİNONİM OLMAYAN														
c.12436G>A	p.V4146I	TDY	45	Missense	rs148478410	Zararlı	Olası hasar verici	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign destekle yici	PP3, BS1, BS6	MB		4
c.12176C>T	p.A4059V	TDY	45	Missense	rs3209986	Olası Zararlı	Benign	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign destekle yici	BA1, BP6	B		1
c.12133A>G	p.I4045V	TDY	44	Missense	rs10960	Zararlı değil	Benign	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign destekle yici	BA1, BP2, BP4, BP6	B		9
c.12037T>C	p.S4013P	TDY	44	Missense	rs1555444981	Olası zararlı	NAV	Benign destekle yici	Hastalık yapıcı	Belirsiz	PM2	VUS		1
c.11623G>A	p.A3875T	TDY	42	Missense	rs1381046981	Olası zararlı	NAV	Benign destekle yici	Belirsiz	Benign destekle yici	PM2, BP4	VUS		1
c.10900C>G	p.P3634A	TDY	37	Missense	YENİ	Zararlı	Olası hasar verici	Belirsiz	Hastalık yapıcı	Patojenik destekleyici	PM2, PP3	VUS		1
c.10535C>T	p.A3512V	TDY	35	Missense	rs34197769	Zararlı değil	Benign	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign destekle yici	BA1, BP4, BP6	B		1
c.10529C>T	p.T3510M	TDY	35	Missense	rs45478794	Zararlı değil	Benign	Belirsiz	Polimorfizm	Benign destekle yici	BA1, BS2, BP4, BP6	B		3
c.9898G>A	p.G3300R	PLAT	29	Missense	rs777024498	Olası zararlı	U	Belirsiz	Hastalık yapıcı	Patojenik destekle yici	PM2	VUS		1
c.9578C>G	p.P3193R		28	Missense	YENİ	Zararlı	Olası hasar verici	Patojenik destekle yici	Hastalık yapıcı	Patojenik destekle yici	PM1, PM2, PP3	MP		1
c.9196T>C	p.F3066L	TDY	25	Missense	rs9925969	Olası zararlı	U	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign destekle yici	BA1, BS2, BP4, BP6	B		1
c.9195_9196delGTinsCC	p.F3066L	GPS	25	Missense	rs372874584	Zararlı değil	Benign	AE	Polimorfizm	NA	PM2, BP6, BP1	MB		5
c.9034A>G	p.T3012A		25	Missense	rs767541153	Zararlı	Olası hasar verici	Benign destekle yici	Hastalık yapıcı	Benign destekle yici	pp3	VUS		1
c.8620G>A	p.V2874M	TDY	23	Missense	rs574287355	Zararlı	Olası hasar verici	Patojenik	Hastalık yapıcı	Benign destekle yici	PP3, BP1, BP6	MB		1

c.8311G>A	p.E2771K	REJ	23	Missense	rs1057518897	Zararlı	Olası hasar verici	destekle yici	Hastalık yapıcı	Belirsiz	PS4, PM2, PP1, PP3, PP5	MP	1
c.8123C>T	p.T2708M	REJ	22	Missense		Zararlı	Olası hasar verici	Belirsiz	Hastalık yapıcı	Belirsiz	PP3, BS1, BS6	MB	1
c.8111C>T	p.A2704V	REJ	22	Missense	rs200509641	Zararlı değil	Benign	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign orta	BS1, BP4, BP6	MB	1
c.7913A>G	p.H2638R	REJ	21	Missense	rs9936785	Zararlı değil	Benign	Benign orta	Polimorfizm	Benign orta	BA1, BP4, BP6	B	2
c.7612G>A	p.V2538M	REJ	19	Missense	CLINVAR: VCV00233348 9.1	Zararlı	U	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign orta	PP3, PM1, PM2, BS2	VUS	1
c.6657_6671delGCGGCTG...	p.R2220_P2224del	REJ	15	In frame del	-	Olası zararlı	AE	AE	Hastalık yapıcı	AE	PM2, PM4	MP	1
c.6598C>T	p.Arg2200Cys	REJ	15	Missense	rs140869992	Zararlı	Olası hasar verici	Belirsiz	Polimorfizm	Benign orta	BS1, BS2, BP6	MB	1
c.6553T>G	p.Y2185D	REJ	15	Missense	HGMD: CM020487	Zararlı	U	Belirsiz	Hastalık yapıcı	Patojenik orta	PM2, PP3, PP5	MP	1
c.4264G>A	p.Ala1422Thr	PKD9	15	Missense	rs140980374	Zararlı değil	Benign	Benign orta	Polimorfizm	Benign orta	BS1, BP4, BP5, BP6	MB	2
c.4195_4196delinsCA	p.W1399Q	PKD9	15	Missense	CLINVAR: VCV00050439 7.1	AE	AE	AE	AE	AE	PM2	VUS	1
c.4195T>C	p.W1399R	PKD9	15	Missense	rs116092985	Zararlı değil	Benign	Benign orta	Polimorfizm	Benign orta	BA1, BS2, BP4, BP6	B	8
c.4018C>T	p.R1340W	PKD8	15	Missense	rs143690392	Zararlı değil	Benign	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign orta	BS1, BP4, BP6	MB	1
c.3804G>T	p.Q1268H	PKD7	15	Missense	YENİ	Olası zararlı	Olası hasar verici	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign orta	PM2	VUS	1
c.3275T>C	p.M1092T	PKD5	14	Missense	rs2549677	Zararlı değil	Benign destekle yici	Benign orta	Polimorfizm	Benign orta	BA1, BS2, BP6	B	1
c.2527T>C	p.S843P	TDY	11	Missense	rs181738771	Zararlı	Olası hasar verici	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign orta	BS1, BS2, BP6	MB	1
c.2216G>A	p.R739Q	TDY	11	Missense	rs40433	Zararlı değil	Benign	Benign orta	Polimorfizm	Benign orta	BA1, BS3, BP2, BP4, BP5, BP6	B	14

c.2017C>G	p.P673A	TDY	10	Missense	rs372961544	Zararlı değil	Belirsiz	Benign destekle yici	Polimorfizm	Benign orta	PM2, BP4, BP3, BP1	MB	1
c.1529G>C	p.R510P	C-tipi lektin	7	Missense	-	Zararlı	U	Belirsiz	Hastalık yapıcı	Benign orta	PP3, PM1, PM2	VUS	1
c.1522T>C	p.C508R	C-tipi lektin	7	Missense	rs58598099	Zararlı	Olası hasar verici	Patojenik destekle yici	Hastalık yapıcı	Patojenik destekle yici	PM1, PM2, PP3, PP5	VUS	2
SINONİM													
c.12630T>C	p.P4210P	TDY	46	Sinonim	rs7203729	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6	B	10
c.12409C>T	p.L4137L	TDY	45	Sinonim	rs79899502	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6	B	1
c.12276A>G	p.A4092A	TM11	45	Sinonim	rs3087632	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	10
c.11916C>T	p.R3972R	TDY	43	Sinonim	rs77634115	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP2, BP4, BP6	MB	1
c.11719C>T	p.L3907L	TDY	43	Sinonim	rs768176046	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP7	VUS	1
c.11616G>A	p.E3872E	TDY	42	Sinonim	rs370230612	Olası zararlı	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BS2, BP6	B	1
c.11388C>G	p.A3796A	TDY	40	Sinonim	rs149331148	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BS2, BP6, BP7	MB	1
c.11346C>T	p.D3782D	TDY	40	Sinonim	rs145955373	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6	MB	4
c.11058G>A	p.L3686L	TDY	38	Sinonim	rs749136085	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP4	MB	1
c.10768C>T	p.L3590L	TM5	36	Sinonim	rs116114803	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6, BP7	MB	1
c.9330T>C	p.P3110P	TDY	26	Sinonim	rs12926160	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BS2, BP7	MB	1
c.9270C>T	p.V3090V	TDY	26	Sinonim	rs149056734	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BS2, BP7, BP6	B	2
c.9195G>C	p.V3065V	TDY	25	Sinonim	rs9935834	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BS2, BP6, BP7	B	1
c.8364G>A	p.S2788S	REJ	23	Sinonim	rs145176597	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6	MB	1
c.7708T>C	p.L2570L	REJ	20	Sinonim	rs28575767	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	7
c.7441C>T	p.L2481L	REJ	18	Sinonim	rs2003782	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	9
c.7165T>C	p.L2389L	REJ	17	Sinonim	rs2457533	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BS2, BP6, BP7	B	1

c.6927C>T	p.G2309G	REJ	16	Sinonim	rs189277711	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BS2, BP7, BP6	B	2
c.5847C>T	p.S1949S	PKD15	15	Sinonim	rs80111665	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BS2, BP4, BP6	B	1
c.5172C>T	p.A1724A	PKD13	15	Sinonim	rs9935526	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	9
c.4836G>A	p.T1612T	PKD11	15	Sinonim	rs138116334	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BS1, BP4	MB	1
c.4674G>A	p.T1558T	PKD11	15	Sinonim	rs79884128	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BS4, BP2, BP4, BP6	B	12
c.4665A>C	p.A1555A	PKD11	15	Sinonim	rs71385734	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BP4, BP6	B	9
c.4545C>T	p.H1515H	PKD10	15	Sinonim	rs755083696	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	PM2, BP4, BP7	MB	1
c.4495C>T	p.L1499L	PKD10	15	Sinonim	rs142002333	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BS1, BP4, BP6	MB	1
c.4071G>T	p.L1357L	PKD8	15	Sinonim	rs145737766	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BS1, BS2, BP4, BP6, BP7	B	1
c.3375C>T	p.S1125S	PKD5	15	Sinonim	rs74331768	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	7
c.3372_3375delinsTTCT	p.A1124A	PKD5	15	Sinonim	YENİ	NA	AE	AE	NA	AE	PM2, BP4, BP7	MB	1
c.3372C>T	p.A1124A	PKD5	15	Sinonim	rs75510884	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	7
c.3168C>T	p.T1056T	PKD5	14	Sinonim	rs770188395	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	PM2, BP6, BP7	MB	1
c.3111A>G	p.L1037L	PKD5	13	Sinonim	rs2099534	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BP4, BP6	B	1
c.3063T>C	p.G1021G	TDY	13	Sinonim	rs2369068	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BP4, BP6	B	7
c.2730C>T	p.D910D	PKD3	11	Sinonim	rs35965348	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	1
c.2700G>A	p.P900P	PKD3	11	Sinonim	rs35667726	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BP4, BP6, BP8	B	1
c.1710C>T	p.H570H	TDY	8	Sinonim	rs367983387	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BS1, BP4, BP6, BP7	MB	3
c.1119C>T	p.Leu373Leu	TDY	5	Sinonim	rs35842	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfiz m	AE	BA1, BP4, BP6	B	9
İNTRONİK													

c.11537+5_11537+6insGGG				Splice bölge	rs201204878	Zararlı değil	NA	NA	Polimorfizm	AE	BS1, BS2, BP6	B	3
c.1850-4A>G				Splice bölge	rs35929659	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BS2, BP4, BP6	B	3

TDY: Tanımlanmış domain yok, AE: Analiz edilmedi, U: Ulaşılamadı.

Kontrollerde saptanan varyantlar sinonim, sinonim olmayan ve intronik olarak 3 gruba ayrılmış ve Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5 Kontrollerde saptanan *PKD1* geni (Refseq Transkripti: NM_001009944) varyantları

cDNA	Protein	Domain	Ekzon	Tip	Veritabanı	İn silico analizler					ACMG Kriterleri	ACMG sınıfı	Kaç hastada görüldü?
						CADD	Polyphen	SIFT	Mutation Taster	PROVEAN			
SİNONİM OLMAYAN													
c.12436G>A	p.V4146I	TDY	45	Missense	rs148478410	Zararlı	Olası hasar verici	Benign destekleyici	Polimorfizm	Benign destekleyici	PP3, BS1, BS6	MB	5
c.12176C>T	p.A4059V	TDY	45	Missense	rs3209986	Olası Zararlı	Benign	Benign destekleyici	Polimorfizm	Benign destekleyici	BA1, BP6	B	3
c.12133A>G	p.L4045V	TDY	44	Missense	rs10960	Zararlı değil	Benign	Benign destekleyici	Polimorfizm	Benign destekleyici	BA1, BP2, BP4, BP6	B	13
c.11870G>A	p.G3957D	TDY	43	Missense	rs536586062	Olası Zararlı	Olası hasar verici	Benign destekleyici	Polimorfizm	Benign orta	BS1	LB	1
c.10364T>G	p.L3455R	TDY	33	Missense	YENİ	Olası Zararlı	U	Belirsiz	Hasalılık yapıcı	Benign orta	PM2, BP1	VUS	1
c.10535C>T	p.A3512V	TDY	35	Missense	rs34197769	Zararlı değil	Benign	Benign destekleyici	Polimorfizm	Benign destekleyici	BA1, BP4, BP6	B	2
c.10529C>T	p.T3510M	TDY	35	Missense	rs45478794	Zararlı değil	Benign	Belirsiz	Polimorfizm	Benign destekleyici	BA1, BS2, BP4, BP6	B	5
c.10351G>A	p.D3451N	TDY	33	Missense	rs146507511	Zararlı	Olası hasar verici	Benign destekleyici	Hasalılık yapıcı	Benign orta	PP3	VUS	1
c.9853G>A	p.V3285I	TDY	29	Missense	rs201780393	Zararlı değil	Benign	Benign destekleyici	Polimorfizm	Benign orta	BP4	VUS	1
c.9195_9196delGTinsCC	p.F3066L	TDY	25	Missense	rs372874584	Zararlı değil	Benign	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP6, BP1	MB	7
c.8689G>A	p.V2897I	TDY	23	Missense	rs145532417	Zararlı değil	Benign	Benign orta	Polimorfizm	Benign orta	BS1, BP4	MB	1
c.8629C>T	p.P2877S	TDY	23	Missense	rs1454911075	Olası Zararlı	Benign	Benign orta	Polimorfizm	Belirsiz	PM2	VUS	1
c.7913A>G	p.H2638R	REJ	21	Missense	rs9936785	Zararlı değil	Benign	Benign orta	Polimorfizm	Benign orta	BA1, BP4, BP6	B	3

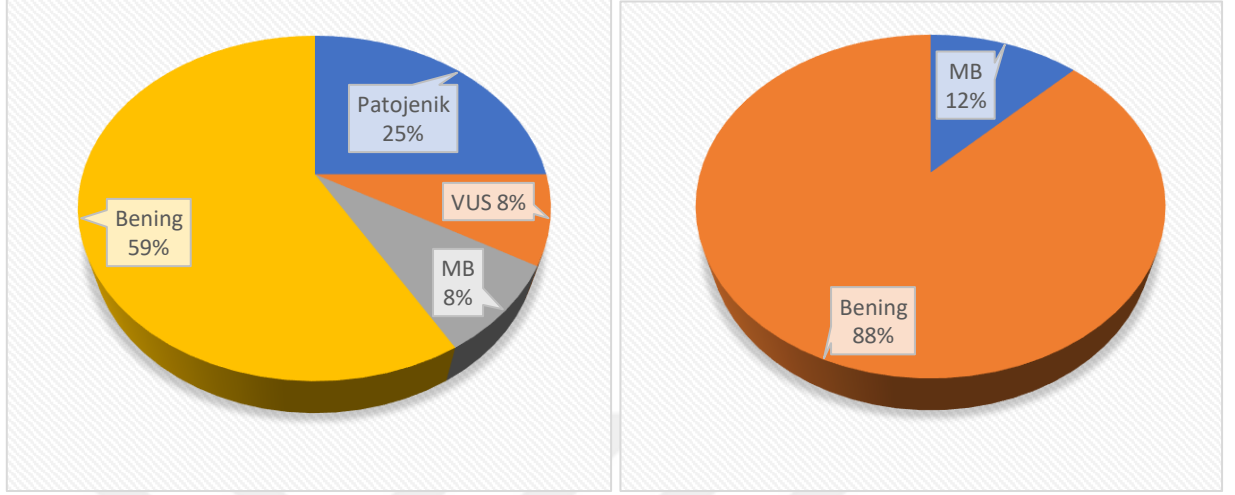
c.7429C>T	p.R2477C	REJ	18	Missense	rs376283361	Zararlı Olası	Belirsiz	Belirsiz	Belirsiz	Hasıtalık yapıcı	Belirsiz	PM2, BP1, BP6	LB	1
c.6965C>T	p.T2322M	REJ	16	Missense	rs564570407	Zararlı	Benign	Benign	Benign	Polimorfizm	Benign orta	PM2, BP4, BP6	LB	1
c.6749C>T	p.T2250M	REJ	15	Missense	rs139971481	Zararlı	Olası hasar verici	Belirsiz	Belirsiz	Hasıtalık yapıcı	Belirsiz	BS1, BS4, BP2, BP6, PP3, PS3	B	1
c.4546G>A	p.A1516T	PKD10	15	Missense	rs148164067	Zararlı değil	Benign	Benign	Benign orta	Benign	Benign orta	BS1, BP4, BP6	B	1
c.4264G>A	p.Ala1422Thr	PKD9	15	Missense	rs140980374	Zararlı değil	Benign	Benign	Benign orta	Polimorfizm	Benign orta	BS1, BP4, BP5, BP6	MB	4
c.4195T>C	p.W1399R	PKD9	15	Missense	rs116092985	Zararlı değil	Benign	Benign	Benign orta	Polimorfizm	Benign orta	BA1, BS2, BP4, BP6	B	8
c.3877G>A	p.V1293I	PKD7	15	Missense	rs774353552	Zararlı	Olası hasar verici	Belirsiz	Belirsiz	Polimorfizm	Benign orta	PP3	VUS	1
c.2216G>A	p.R739Q	TDY	11	Missense	rs40433	Zararlı değil	Benign	Benign	Benign orta	Polimorfizm	Benign orta	BA1, BS3, BP2, BP4, BP5, BP6	B	8
c.1758A>C	p.E586D	TDY	9	Missense	rs766424461	Olası	Benign	Benign	Benign	Polimorfizm	Benign orta	PM2, BP4	VUS	2
c.1522T>C	p.C508R	C-tipi lektin	7	Missense	rs58598099	Zararlı	Olası hasar verici	Benign	Benign	Hasıtalık yapıcı	Patojenik destekleyici	PM1, PM2, PP3, PP5	VUS	7
SİNONİM														
c.12630T>C	p.P4210P	TDY	46	Sinonim	rs7203729	Zararlı değil	AE	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6	B	13
c.12409C>T	p.L4137L	TDY	45	Sinonim	rs79899502	Zararlı değil	AE	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6	B	3
c.12276A>G	p.A4092A	TM11	45	Sinonim	rs3087632	Zararlı değil	AE	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	13
c.12024C>T	p.F4008F	TDY	44	Sinonim	rs781420939	Zararlı değil	AE	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP4, BP7	MB	1
c.11916C>T	p.R3972R	TDY	43	Sinonim	rs77634115	Zararlı değil	AE	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP2, BP4, BP6	MB	1
c.11388C>G	p.A3796A	TDY	40	Sinonim	rs149331148	Zararlı değil	AE	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BS2, BP7, BP6	MB	1
c.11346C>T	p.D3782D	TDY	40	Sinonim	rs145955373	Zararlı değil	AE	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6	MB	5
c.10768C>T	p.L3590L	TM5	36	Sinonim	rs116114803	Zararlı değil	AE	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6, BP7	MB	1
c.9957C>T	p.S3319S	TDY	30	Sinonim	rs141101590	Zararlı değil	AE	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6	MB	1

c.9678C>T	p.N3226N	PLAT	28	Sinonim	rs138332867	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6, BP7	MB	1
c.9669G>A	p.T3223T	PLAT	28	Sinonim	rs144817614	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6	MB	1
c.9270C>T	p.V3090V	TDY	26	Sinonim	rs149056734	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BS2, BP7, BP6	B	1
c.9006G>A	p.S3002S	TDY	25	Sinonim	rs367709319	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4	MB	1
c.8679C>G	p.S2893S	TDY	23	Sinonim	rs114143642	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6	MB	1
c.8499C>T	p.P2833P	REJ	23	Sinonim	rs778864608	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP7	VUS	1
c.7708T>C	p.L2570L	REJ	20	Sinonim	rs28575767	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	8
c.7566C>T	p.C2522C	REJ	19	Sinonim	rs373216060	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4	MB	1
c.7441C>T	p.L2481L	REJ	18	Sinonim	rs2003782	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	13
c.6927C>T	p.G2309G	REJ	16	Sinonim	rs189277711	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BS2, BP7, BP6	B	3
c.6753G>A	p.V2251V	REJ	15	Sinonim	rs752060021	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP7, BP4	LB	1
c.6405G>T	p.A2135A	PKD17	15	Sinonim	rs754384338	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP4, BP7	MB	1
c.6066G>A	p.S2022S	PKD16	15	Sinonim	rs559859602	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP4, BP7	MB	1
c.5913G>A	p.V1971V	PKD15	15	Sinonim	rs200626823	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP4, BP7	MB	1
c.5814C>T	p.H1938H	PKD15	15	Sinonim	rs1199519847	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BP4, BP7	MB	1
c.5172C>T	p.A1724A	PKD13	15	Sinonim	rs9935526	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	12
c.4836G>A	p.T1612T	PKD11	15	Sinonim	rs138116334	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4	MB	4
c.4674G>A	p.T1558T	PKD11	15	Sinonim	rs79884128	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BS4, BP2, BP4, BP6	B	9
c.4665A>C	p.A1555A	PKD11	15	Sinonim	rs71385734	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6	B	12
c.4495C>T	p.L1499L	PKD10	15	Sinonim	rs142002333	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6	MB	2
c.4071G>T	p.L1357L	PKD8	15	Sinonim	rs145737766	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BS2, BP4, BP6, BP7,	B	1

c.3793C>T	p.L1265L	PKD7	15	Sinonim	rs533498090	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BP4, BP7	MB	1
c.3525G>A	p.P1175P	PKD6	15	Sinonim	rs375443604	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP4, BP6, BP7	MB	1
c.3375C>T	p.S1125S	PKD5	15	Sinonim	rs74331768	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	9
c.3372C>T	p.A1124A	PKD5	15	Sinonim	rs75510884	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	9
c.3111A>G	p.L1037L	PKD5	13	Sinonim	rs2099534	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6	B	6
c.3081G>C	p.V1027V	PKD5	13	Sinonim	YENİ	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP4, BP7	MB	1
c.3063T>C	p.G1021G	TDY	13	Sinonim	rs2369068	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6	B	9
c.2730C>T	p.D910D	PKD3	11	Sinonim	rs35965348	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	3
c.2700G>A	p.P900P	PKD3	11	Sinonim	rs35667726	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP8	B	3
c.2655C>T	p.C885C	PKD3	11	Sinonim	rs142606648	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6	MB	1
c.1710C>T	p.H570H	TDY	8	Sinonim	rs367983387	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BP4, BP6, BP7	MB	1
c.1119C>T	p.Leu373Leu	TDY	5	Sinonim	rs35842	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6	B	11
c.1023C>T	p.A341A	PKD1	5	Sinonim	rs11643513	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BA1, BP4, BP6, BP7	B	1
c.759A>C	p.P253P	WSC	5	Sinonim	YENİ	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	PM2, BP4, BP7	MB	1
İNTRONİK													
c.11537+5_11537+6insGGG		TDY		Splice bölge	rs201204878	Zararlı değil	AE	AE	Polimorfizm	AE	BS1, BS2, BP6	B	1

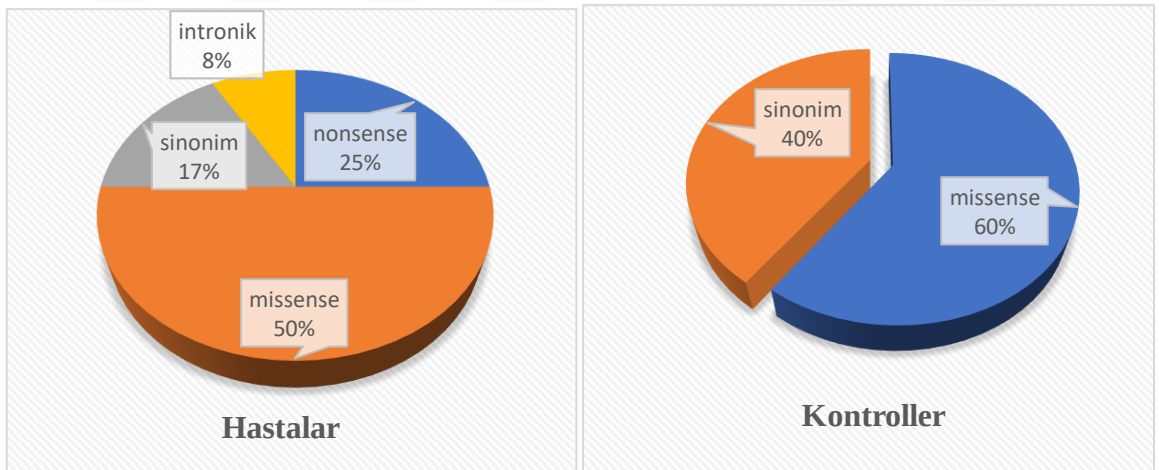
TDY: Tanımlanmış domain yok, AE: Analiz edilmedi, U: Ulaşılamadı

Hasta grubunda *PKD2* geninde 3 P, 1 VUS, 1 MB, 7 B varyant olmak üzere toplam 12 varyant, kontrol grubunda ise 5 B, 1 MB olmak üzere 6 varyant saptanmıştır (Şekil 4.10)



Şekil 4.10 Hastalarda ve kontrollerde saptanan *PKD2* varyantlarının ACMG sınıflaması

Hasta grubunda saptanan 12 varyantın 3'ü nonsense, 6'sı missense, 2'si sinonim, 1'i introniktir. Kontrol grubundaki 6 varyantın ise 4'ü missense, 2'si sinonimdir. (Şekil 4.11)



Şekil 4.11 Hastalarda ve kontrollerde saptanan *PKD2* varyantlarının tiplerine göre dağılımı

Hasta ve kontrol grubunda *PKD2* geninde saptanan varyantlar Tablo 4.6 ve Tablo 4.7'de özetlenmiştir.

Tablo 4.6 Hastalarda saptanan *PKD2* geni (Refseq Transkripti: NM_000297.4) varyantları

c. variant	p. variant	Ekzon	Tip	Veritabanı	In silico analizler					ACMG Kriterleri	ACMG Sınıfı	Kaç hastada görüldü ?
					CADD	Polyphen	SIFT	Mutation taster	PROVEAN			
c.2420G>A	p.R807Q	13	missense	rs147654263	Zararlı	Belirsiz	Benign destekle yici	Benign	Benign orta	BA1, BS1, BS2, BP6	B	1
c.2398A>C	p.M800L	13	missense	rs2234917	Olası zararlı	Benign	Benign orta	Benign	Benign orta	BS1, BP4, BP6	B	2
c.2240+10A>G	-	IVS11	splice bölge	rs201679112	NA	NA	NA	NA	NA	PM2, BP6	VUS	1
c.1837C>T	p.Q613*	8	nonsense	HGMD: CM127160	Zararlı	NA	NA	Hastalık yapıcı	NA	PVS1, PF5, PM2	P	1
c.1830G>A	p.A610A	8	sinonim	rs144968710	Zararlı değil	NA	NA	Benign	NA	BS1, BP6, BP4	B	2
c.1445T>G	p.F482C	6	missense	rs75762896	Zararlı	Belirsiz	Belirsiz	Benign	Benign orta	BS1, BS2, BP6	MB	1
c.1390C>T	p.R464*	6	nonsense	rs121918042	Zararlı	NA	NA	Hastalık yapıcı	NA	PVS1, PS4, PM2, PP1, PP5	P	5
c.958C>T	p.R320*	4	nonsense	rs749004212	Zararlı	NA	NA	Hastalık yapıcı	NA	PVS1, PP5, PM2	P	1
c.568G>A	p.A190T	1	missense	rs117078377	Zararlı	Belirsiz	Benign orta	Benign	Benign orta	BA1, BP6, PP3	B	6
c.420G>A	p.G140G	1	sinonim	rs2728118	Zararlı değil	NA	NA	Benign	NA	BA1, BP4, BP6, BP7	B	6
c.83G>C	p.P28P	1	missense	rs1805044	Olası zararlı	Belirsiz	Belirsiz	Benign	Benign orta	BA1, BS2, BP4, BP6	B	13
c.65G>A	p.P22H	1	missense	rs1450630438	Zararlı	Benign	Benign destekle yici	Benign	Benign orta	PP3, BS1	B	1

Tablo 4.7 Kontrollerde saptanan PKD2 geni (Refseq Transkripti: NM_000297.4) varyantları

c. variant	p. variant	Ekzon	Tip	Veritabanı	İn silico analizler					ACMG Kriterleri	ACMG Sınıfı	Kaç kontrolde görüldü?
					CADD	Polyphen	SIFT	Mutation taster	PROVEAN			
c.83G>C	p.R28P	1	missense	rs1805044	Olası zararlı	Belirsiz	Belirsiz	Benign	Benign orta	BA1, BS2, BP4, BP6	B	22
c.420G>A	p.G140G	1	sinonim	rs2728118	Zararlı değil	NA	NA	Benign	NA	BA1, BP4, BP6, BP7	B	4
c.568G>A	p.A190T	1	missense	rs117078377	Zararlı	Belirsiz	Benign orta	Benign	Benign orta	BA1, BP6, PP3	B	2
c.1445T>G	p.F482C	6	missense	rs75762896	Zararlı	Belirsiz	Belirsiz	Benign	Benign orta	BS1, BS2, BP6	MB	1
c.1830G>A	p.A610A	8	sinonim	rs144968710	Zararlı değil	NA	NA	Benign	NA	BS1, BP6, BP4	B	1
c.2398A>C	p.M800L	13	missense	rs2234917	Olası zararlı	Benign	Benign orta	Benign	Benign orta	BS1, BP4, BP6	B	3

Tablo 4.8 Hastalarda saptanan *PKD1* ve *PKD2* varyantlarının tipleri ve sınıflamaları

Varyant tipi	Hastalar		Toplam
	<i>PKD1</i>	<i>PKD2</i>	
Patojenik (n=11)			
Nonsense	7	3	10
Frameshift	1	-	1
Muhtemel patojenik (n=11)			
Nonsense	2	-	2
Frameshift	5	-	5
İn frame del	1	-	1
Missense	3	-	3
VUS (n=12)			
Missense	10	-	10
Sinonim	1	-	1
Splice bölge	-	1	1
Muhtemel benign (n=22)			
Missense	10	1	11
Sinonim	11	-	10
Benign (n=41)			
Missense	8	5	13
Sinonim	24	2	26
Splice bölge	2	-	2
Toplam	85	12	97

Hasta grubunda *PKD1*'de toplam 9 yeni varyant saptanmıştır. Kontrol grubunda ise 3 yeni varyant görülmüştür. 12 yeni varyantın 6'sı MP, 3'ü VUS, 4'ü MB olarak sınıflandırılmıştır.

Hasta grubunda 18'i *PKD1*'de, 2'si *PKD2*'de olmak üzere 20 VUS varyant saptanmış, bunların 2023 yılında ACMG kriterleri ile yeniden değerlendirilmesi sonucu 3'ü MP, 6'sı MB, 1'i B olarak değişmiş, 11'i VUS olarak kalmıştır (Tablo.4.9).

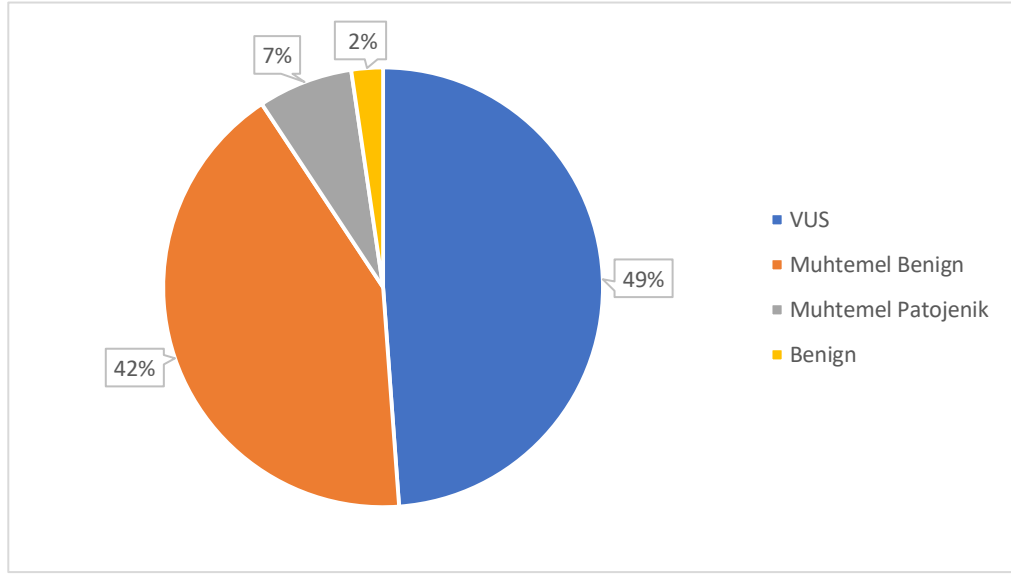
Kontrol grubunda hepsi *PKD1* geninde olan 21 VUS varyant saptanmış, bunlardan 12 VUS varyantın 2023 yılında ACMG kriterleri ile yeniden değerlendirilmesine göre hepsi MB olarak sınıflanmıştır. (Tablo.4.10).

Tablo 4.9 Hasta grubunda saptanan ACMG sınıflaması değişen VUS varyantlar

VARYANT	ACMG (2017-2022 yılında değerlendirilen)	ACMG (2023 yılında değerlendirilen)
<i>PKD1</i> : c.11058G>A p.L3686L	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.9578C>G p.P3193R	VUS	Muhtemel patojenik
<i>PKD1</i> : c.6657_6671delGCGGCTG... p.R2220_P2224del	VUS	Muhtemel patojenik
<i>PKD1</i> : c.6553T>G p.Y2185D	VUS	Muhtemel patojenik
<i>PKD1</i> : c.2527T>C p.S843P	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.9195_9196delGTinsCC p.F3066L	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.3372_3375delinsTTCT p.A1124A	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.4545C>T p.His1515His	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.8620G>A p.V2874M	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD2</i> : c.65G>A p.Arg22His	VUS	Benign

Tablo 4.10 Kontrol grubunda saptanan ACMG sınıflaması değişen VUS varyantlar

VARYANT	ACMG (2017-2022 yılında değerlendirilen)	ACMG (2023 yılında değerlendirilen)
<i>PKD1</i> : c.12024C>T p.F4008F	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.11870G>A p.G3957D	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.10351G>A p.D3451N	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.9195_9196delGTinsCC p.F3066L	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.8499C>T p.P2833P	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.7429C>T p.R2477C	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.6965C>T p.T2322M	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.6753G>A p.V2251V	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.6405G>T p.A2135A	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.6066G>A p.S2022S	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.5913G>A p.V1971V	VUS	Muhtemel benign
<i>PKD1</i> : c.3081G>C p.V1027V	VUS	Muhtemel benign



Şekil 4.12 Tekrar analiz edilen VUS varyantların patojenite sınıflaması

Hasta grubunda ve kontrol grubunda ortak olarak görülen 43 varyant Tablo 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 4.11 Hem hastalarda hem kontrollerde saptanan varyantlar

Gen	Varyant	Hasta sayısı(n)	Kontrol sayısı (n)	Patojenite sınıfı
<i>PKD1</i>	c.12630T>C p.P4210P rs7203729	10	13	B
<i>PKD1</i>	c.12436G>A p.V4146I rs148478410	4	5	MB
<i>PKD1</i>	c.12409C>T p.L4137L rs79899502	1	3	B
<i>PKD1</i>	c.12276A>G p.A4092A rs3087632	10	13	B
<i>PKD1</i>	c.12176C>T p.A4059V rs3209986	1	3	B
<i>PKD1</i>	c.12133A>G p.I4045V rs10960	9	13	B
<i>PKD1</i>	c.11916C>T p.R3972R rs77634115	1	1	MB
<i>PKD1</i>	c.11537+5_11537+6insGGG rs201204878	3	1	B
<i>PKD1</i>	c.11346C>T p.D3782D	4	5	MB
<i>PKD1</i>	c.10900C>G p.P3634A	1	1	VUS
<i>PKD1</i>	c.10768C>T p.L3590L rs116114803	1	1	MB
<i>PKD1</i>	c.10535C>T p.A3512V rs34197769	1	2	B
<i>PKD1</i>	c.10529C>T p.T3510M	3	5	B

	rs45478794			
PKD1	c.9270C>T p.V3090V rs149056734	2	1	B
PKD1	c.9195_9196delGTinsCC p.F3066L rs372874584	5	7	MB
PKD1	c.7913A>G p.H2638R rs9936785	2	3	B
PKD1	c.7708T>C p.L2570L rs28575767	7	8	B
PKD1	c.7441C>T p.L2481L rs2003782	9	13	B
PKD1	c.6927C>T p.G2309G rs189277711	2	3	B
PKD1	c.5172C>T p.A1724A rs9935526	9	12	B
PKD1	c.4836G>A p.T1612T rs138116334	1	4	MB
PKD1	c.4674G>A p.T1558T rs79884128	12	9	B
PKD1	c.4665A>C p.A1555A rs71385734	9	12	B
PKD1	c.4495C>T p.L1499L rs142002333	1	2	MB
PKD1	c.4264G>A p.Ala1422Thr rs140980374	2	4	MB
PKD1	c.4195T>C p.W1399R rs116092985	8	8	B
PKD1	c.4071G>T p.L1357L rs145737766	1	1	B
PKD1	c.3375C>T p.S1125S rs74331768	7	9	B
PKD1	c.3372C>T p.A1124A rs75510884	7	9	B
PKD1	c.3111A>G p.L1037L rs2099534	1	6	B
PKD1	c.3063T>C p.G1021G rs2369068	7	9	B
PKD1	c.2730C>T p.D910D rs35965348	1	3	B
PKD1	c.2700G>A p.P900P rs35667726	1	3	B
PKD1	c.2216G>A p.R739Q rs40433	14	8	B
PKD1	c.1710C>T p.H570H rs367983387	3	1	MB
PKD1	c.1522T>C p.C508R rs58598099	2	7	VUS

<i>PKD1</i>	c.1119C>T rs35842	p.Leu373Leu	9	11	B
<i>PKD2</i>	c.83G>C rs1805044	p.Arg28Pro	13	22	B
<i>PKD2</i>	c.420G>A rs2728118	p.Gly140Gly	6	3	B
<i>PKD2</i>	c.568G>A rs117078377	p.Ala190Thr	6	2	B
<i>PKD2</i>	c.1445T>G rs75762896	p.Phe482Cys	1	1	MB
<i>PKD2</i>	c.1830G>A rs144968710	p.Ala610=	2	1	B
<i>PKD2</i>	c.2398A>C rs2234917	p.Met800Leu	2	3	B

Ortak saptanan varyantlardan 5 *PKD1*'de, 1 *PKD2*'de 6 sık rastlanan varyant seçilmiş (Tablo 4.11 mavi renkle işaretlenmiş), hasta ve kontrol grubu arasındaki ilişki araştırılmıştır (Tablo 4.12, Tablo 4.13, Tablo 4.14, Tablo 4.15, Tablo 4.16, Tablo 4.17).

Tablo 4.12 *PKD1* rs7203729 (c.12630T>C) p.P4210P - chr16-2090009-A-G polimorfizmi ilişki çalışması

Gruplar	<i>PKD1</i> genotipleri				Allel frekansları		
	AA	AG	GG	Toplam	A Alleli	G Alleli	Toplam
PKBH Hastaları n (%)	38 (79,2)	10 (20,8)	0 (0.00)	48 (100)	86 (0,896)	10 (0,104)	96
%95 CI	0,677 0,907	0,093 0,323	0,000 0,000		0,835- 0,957	0,043- 0,165	
Kontroller n (%)	35 (72,9)	13 (27,1)	0 (0.00)	48 (100)	83 (0,865)	13 (0,135)	96
%95 CI	0,603 0,855	0,145 0,397	0,000 0,000		0,796 0,933	0,067 0,204	
Toplam	73	23	0	96	169	23	192

Hastalar ve kontroller arasında genotipler açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki-kare=0,5146, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0,4732, Odds Ratio=0.7085 - CI: 0,2758, 1,82)

Hastalar ve kontroller arasında allel frekansları açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki-kare=0,4446, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0,5049)

Tablo 4.13 *PKD1* c.4674G>A p.T1558T rs79884128 chr16-2110493-C-T polimorfizmi ilişki çalışması

Gruplar	<i>PKD1</i> genotipleri				Allel frekansları		
	CC	CT	TT	Toplam	C Alleli	T Alleli	Toplam
PKBH Hastaları n (%)	36 (75)	12 (25)	0 (0.00)	48 (100)	84 (0,87)	12 (0,13)	96
%95 CI	0,628 0,873	0,128 0,373	0,000 0,000		0,809 0,941	0,059 0,191	
Kontroller n (%)	39 (0,813)	9 (0,188)	0 (0.00)	48 (100)	87 (0,90)	9 (0,10)	96
%95 CI	0,702 0,923	0,077 0,298	0,000 0,000		0,848 0,965	0,035 0,152	
Toplam	76	20	0	96	171	21	192

Hastalar ve kontroller arasında genotipler açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki-kare=0,54, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0.4589, Odds Ratio=1.444 CI: 0.5444, 3.832)

Hastalar ve kontroller arasında allel frekansları açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki-kare=0,48, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0.4879)

Tablo 4.14 *PKD1* c.2216G>A p.R739Q rs40433 chr16-2114807-C-T polimorfizmi ilişki çalışması

Gruplar	<i>PKD1</i> genotipleri					Allel frekansları		
	CC	CT	TT	CT + TT	Toplam	C Alleli	T Alleli	Toplam
PKBH Hastaları n (%)	34 (70,8)	3 (6,3)	11 (22,9)	14 (29,2)	48 (100)	71 (0,74)	25 (0,26)	96
%95 CI	0,580 0,837	-0,006 0,131	0,110 0,348			0,652 0,827	0,173 0,348	
Kontroller n (%)	40 (83,3)	4 (8,3)	4 (8,3)	8 (17,4)	48 (100)	84 (0,875)	12 (0,125)	96
%95 CI	0,728 0,939	0,005 0,162	0,005 0,162			0,809 0,941	0,059 0,191	
Toplam	70	7	15		92	155	37	192

Hastalar ve kontroller arasında CC ve CT+TT genotipleri açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki-kare=2.123, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0.1452, Odds Oranı:2.059-CI:0.7715, 5.494))

Hastalar ve kontroller arasında allel frekansları açısından anlamlı bir ilişki **saptanmıştır**. (Ki-kare=5.658, Degrees of Freedom=1, **p-değeri=0.01738**)

Tablo 4.15 *PKD1* c.12133A>G p.I4045V rs10960 chr16-2090679-T-C polimorfizmi ilişki çalışması

Gruplar	<i>PKD1</i> genotipleri					Allel frekansları		
	TT	TC	CC	TC+C C	Toplam	T Alleli	C Alleli	Toplam
PKBH Hastaları n (%)	39 (81,3)	9 (18,8)	0 (0,00)	9 (18,8)	48 (100)	87 (0,9)	9 (0,1)	96
%95 CI	0,702 0,923	0,077 0,298	0,000 0,000			0,848 0,965	0,035 0,152	
Kontroller n (%)	35 (72,9)	11 (22,9)	2 (4,2)	13 (27,1)	48 (100)	81(0,84)	15(0,16)	96
%95 CI	0,603 0,855	0,110 0,348	-0,015 0,098			0,771 0,916	0,084 0,229	
Toplam	70	20	2		92	168	24	192

Hastalar ve kontroller arasında TT ve TC+CC genotipleri açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki-kare=0,9435, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0,3314, Odds oranı=0,6213 - CI: 0,2368, 1,63)

Hastalar ve kontroller arasında allel frekansları açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki-kare=1,714, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0,1907)

Tablo 4.16 *PKD2* c.83G>C p.Arg28Pro rs1805044 chr4-88007816-G-C polimorfizmi ilişki çalışması

Gruplar	<i>PKD2</i> genotipleri					Allel frekansları		
	GG	GC	CC	GC+CC	Toplam	G Alleli	C Alleli	Toplam
PKBH Hastaları n (%)	28 (68,3)	12 (29,3)	1 (2,4)	13 (31,7)	41 (100)	68 (0,829)	14 (0,171)	82
%95 CI	0,540 0,825	0,153 0,432	-0,023 0,072			0,748 0,911	0,089 0,252	
Kontroller n (%)	26 (54,2)	18 (37,5)	4 (8,3)	22 (45,7)	48 (100)	70 (0,73)	26 (0,23)	96
%95 CI	0,401 0,683	0,238 0,512	0,005 0,162			0,637 0,819	0,181 0,363	
Toplam	54	30	5	35	89	138	40	178

Hastalar ve kontroller arasında GG ve GC+CC genotipleri açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki-kare=1,849, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0.1741, Odds oranı:0.5487 CI:0.2301, 1.308)

Hastalar ve kontroller arasında allel frekansları açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki-Kare=2,544, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0.1108)

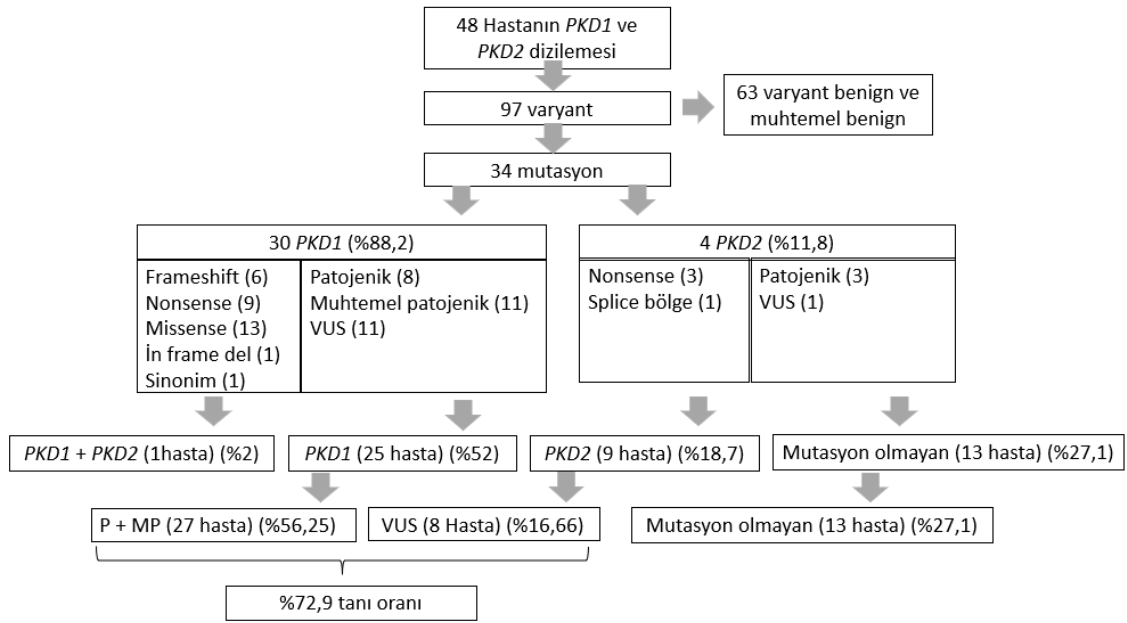
Tablo 4.17 *PKD1* c.5172C>T p.A1724A rs9935526 chr16-2109995-G-A polimorfizmi ilişki çalışması

Gruplar	<i>PKD1</i> genotipleri					Allel frekansları		
	GG	GA	AA	GA+AA	Toplam	G Alleli	A Alleli	Toplam
PKBH Hastaları n (%)	39 (81,3)	8 (16,7)	1 (2,1)	9 (18,8)	48 (100)	86 (0,896)	10 (0,104)	96
%95 CI	0,702 0,923	0,061 0,272	-0,020 0,061			0,835 0,957	0,043 0,165	
Kontroller n (%)	36 (75)	10 (20,8)	2 (4,2)	12 (26)	48 (100)	82 (0,854)	14 (0,146)	96
%95 CI	0,628 0,873	0,093 0,323	-0,015 0,098			0,784 0,925	0,075 0,216	
Toplam	75	18	3	21	96	168	24	192

Hastalar ve kontroller arasında GG ve GA+AA genotipleri açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki kare=0,5486, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0,4598, Odds oranı:0,6923, CI:0,2609, 1,837)

Hastalar ve kontroller arasında allel frekansları açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Ki kare =0,7619, Degrees of Freedom=1, p-değeri=0,3827).

Bu çalışmada PBH ön tanısı konulan 48 hastadan 27'sinde *PKD1* ve *PKD2* dizi analizinde P ve MP varyant saptanarak tanısal değer %56,25 hesaplanmıştır. VUS varyant saptanan 8 hasta da eklendiğinde ise %72,9 tanısal değeri saptanmıştır.



Şekil 4.13 Çalışmamızda saptanan *PKD1* ve *PKD2* varyantlarının tiplerine göre ve hastalar arasında dağılımı

Tablo 4.18 *PKD1* VE *PKD2* gen analizinin hastalarda tanısal değeri

	Tanısal Değer
Patojenik, Muhtemel Patojenik (n=27)	%56,25
Patojenik, Muhtemel Patojenik + VUS (n=35)	%72,9

4.2.1. Hasta 1

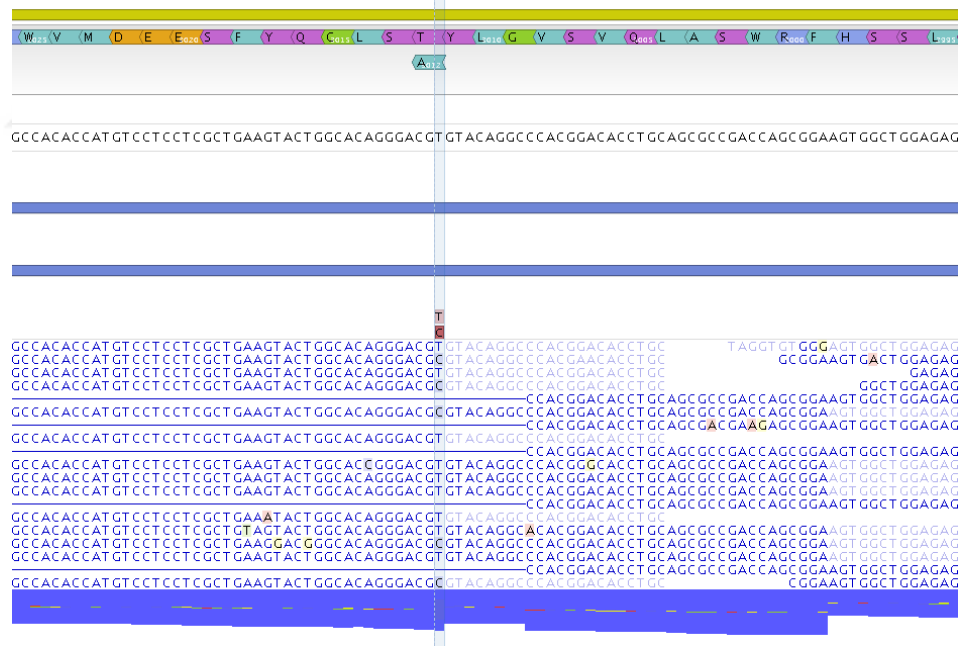
Hasta 1 yenidoğan döneminde hepatit geçiren, karaciğerinde intrahepatik safra yollarında kısmi genişlemeler, böbreklerinde çok sayıda ve milimetrik boyutta hipodens kistler izlenen erkek hastaydı. *PKD1* geninde c.11623G>A, (p.A3875T) varyantı homozigot (Şekil 4.14) olarak saptandı. Varyant CADD tarafından olası zararlı olarak yorumlanmakta olup, GnomAD’de sadece 1 hastada heterozigot bildirilmiştir. Saptanan varyant ACMG kriterlerine göre değerlendirildiğinde VUS olarak sınıflandırıldı.



Şekil 4.14 *PKD1* c.11623G>A, (p.A3875T) homozigot varyantının BAM görüntüsü

4.2.2. Hasta 2

Antenatal hidronefroz bulgusu olan 5 aylık erkek hastanın her iki böbreğinde birkaç adet en büyüğü 1 cm ve 1,5 cm olan kistler mevcuttu. *PKD1* geninde c.9034A>G, (p.T3012A) varyantı heterozigot olarak saptandı (Şekil 4.15). Aile öyküsü olmayan hastanın yapılan anne baba segregasyonu sonucunda aynı varyant daha önce bilinen böbrek hastalığı olmayan annede de mevcuttu. Anneye böbrek USG yapılması planlandı. Varyant *PKD1* geninin 25. ekzonunda olup proteinin korunmuş, otokatalize proteolitik bölünmeye uğrayan GPS (G-protein-coupled receptors proteolytic site) domaini etkilemektedir. Bu domainin G protein sinyalinin PC1 aracılı düzenlenerek böbrek kisti oluşumunun önlenmesinde potansiyel rolü bulunmaktadır(75). İn silico tahmin algoritmalarında CADD, Polyhen ve Mutation taster sırasıyla zararlı, olası hasar verici ve hastalık yapıcı olarak, SIFT ve PROVEAN ise benign destekleyici olarak değerlendirmektedir. Annenin sağlıklı olması varyantı patojeniklik tarafından uzaklaştırmakta olsa da klinik ve fonksiyonel çalışmalar gereklidir. Varyant ACMG kriterlerine göre VUS olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.15 *PKD1* c.9034A>G, (p.T3012A) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

4.2.3. Hasta 3

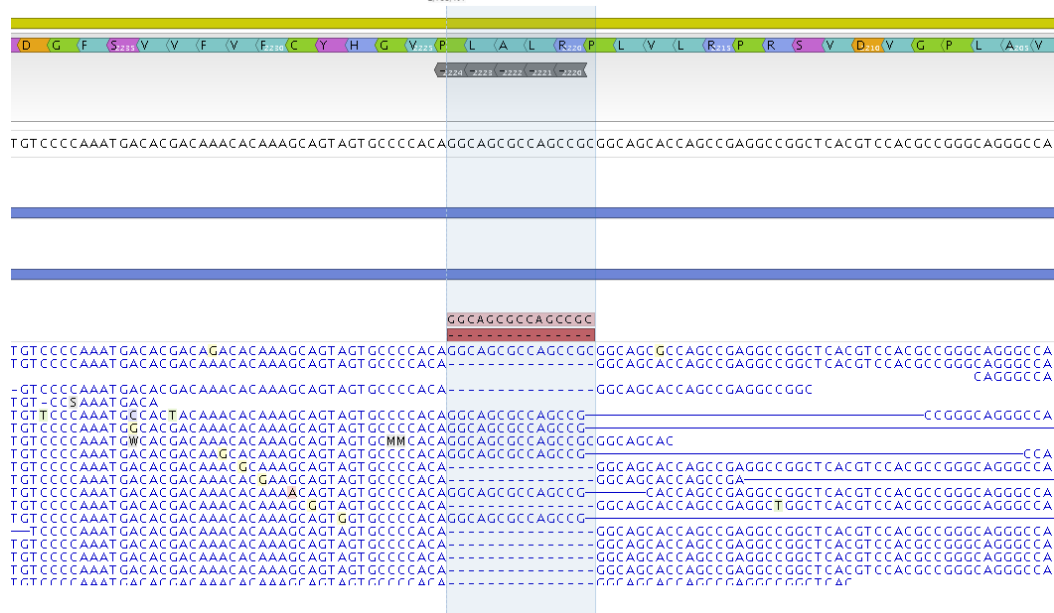
10 yaş 5 aylık kız hastada idrar yolu enfeksiyonları nedeni ile yapılan böbrek USG'sinde sağ böbrekte büyüğü 7 mm, sol böbrekte 8 mm boyutta birkaç adet basit kortikal kist izlenmişti. Babası ve erkek kardeşinde böbrek hastalığı öyküsü mevcuttu. *PKD1* geninin 23. ekzonunda c.8620G>A, (p.V2874M) varyantı heterozigot (Şekil 4.16) saptandı. Sadece anneye segregasyon yapılmış olup aynı varyant sağlıklı olan annede de gözlemlendi. Bu bizi hastalık yapıcı etkisinden uzaklaştırmaktadır. Varyant *In silico* veri tabanlarından CADD, Polyhen, SIFT ve Mutation taster'da hastalık nedeni olarak yorumlanmıştır. PKBH veritabanında MB olarak sınıflandırılmıştır. Bunlara dayanarak 2018'de VUS olarak yapılan sınıflamasını MB olarak değiştirdik.



Şekil 4.16 *PKD1* c.8620G>A, (p.V2874M) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

4.2.4. Hasta 5

8 yaş 4 aylık kız hastaya annesinde böbrek kistleri olması nedeni ile yapılan böbrek USG'sinde her iki böbrekte çoğu sağda olmak üzere, sağda büyüğü 22 mm, solda 10 mm boyutta ölçülen çok sayıda kortikal ve kortikomedüller yerleşimli kist izlenmiş. Yapılan dizi analizi sonucunda *PKD1* geni 15. ekzonunda c.6657_6671delGCGGCTG..., (p.R2220_P2224del) varyantı heterozigot (Şekil 4.17) saptandı. Varyant proteinin REJ modülünde bulunmaktadır. REJ modülü bir fibronektin benzeri katlantı bir de GPCR otoproteoliz indükleyici bölge(GAIN) olarak 2 alt domainden oluşmaktadır(75). Böbrek yapısı ve fonksiyonu için önemli olan PC1'in GPS bölgesinden bölünmesi, tam ve sağlam bir REJ modülü gerektirmektedir(76). CADD ve mutation taster tarafından hastalık nedeni olarak yorumlanmıştır. ACMG sınıflamasına göre muhtemel patojenik olarak değerlendirilmiştir.



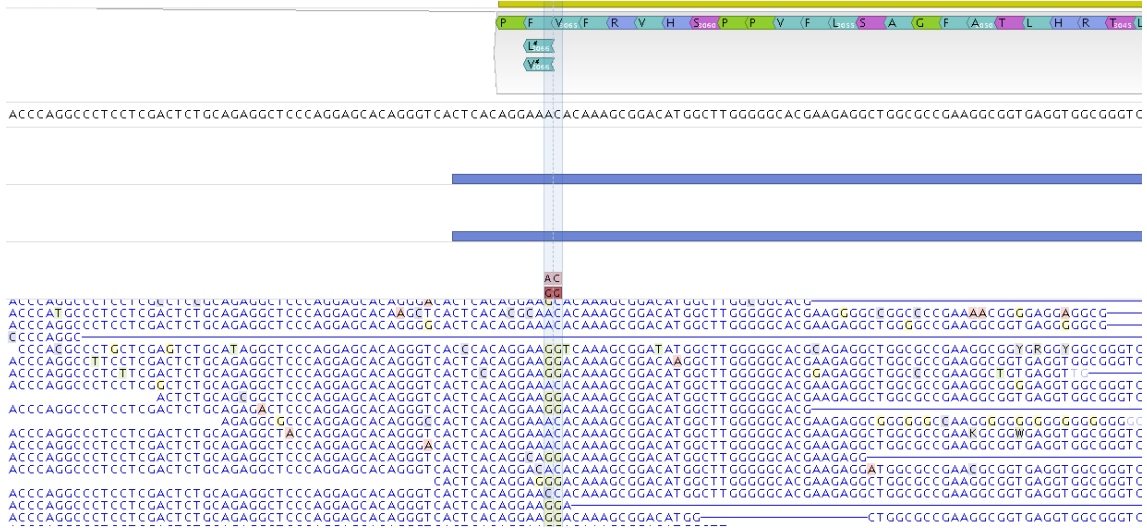
Şekil 4.17 *PKD1* c.6657_6671delGCGGCTG..., (p.R2220_P2224del) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

4.2.5. Hasta 6

3 yaş kız hasta idrar yolu enfeksiyonu nedeni ile araştırılırken sol böbreğinde kist saptanmış, baba ve babaannesinde böbrek kistleri de olması nedeni ile dizi analizi çalışılmıştır. *PKD1* geni 28. ekzonunda c.9710dupC, (p.S3238fs*15) varyantı(Şekil 4.18) saptanmıştır. Varyant daha önce literatürde bildirilmemiş olup yeni bir varyanttır. ACMG kriterlerine göre MP olarak değerlendirilmiştir.

4.2.7. Hasta 8

56 yaşındaki erkek hasta, halsizlik, yorgunluk, kilo kaybı şikayetleri nedeni ile araştırılırken böbrek, karaciğer ve dalak kistleri olduğu görülmüştür. *PKD1* geni 23. ekzonunda c.9195_9196delGTinsCC, (p.F3066L) varyantı heterozigot (Şekil 4.20) saptanmıştır. Qiagen Clinical insight, Varsome ve Franklin araçlarında VUS olarak yorumlanan varyant Clinvar'da 2 defa benign olarak bildirilmiştir. CADD, polyphen ve mutation taster varyantı hastalık yapıcı olmayan yönde yorumlamıştır. Varyant aynı zamanda hasta 3, hasta 17, hasta 19 ve hasta 44'te de gözlenirken 7 kontrol grubu bireyde de tespit edilmiştir. ODPBH veritabanında MB olarak bildirilmiştir. Bunlara dayanarak varyantın sınıflaması VUS'tan MB'e değiştirildi.



Şekil 4.20 *PKD1* c.9195_9196delGTinsCC, (p.F3066L) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

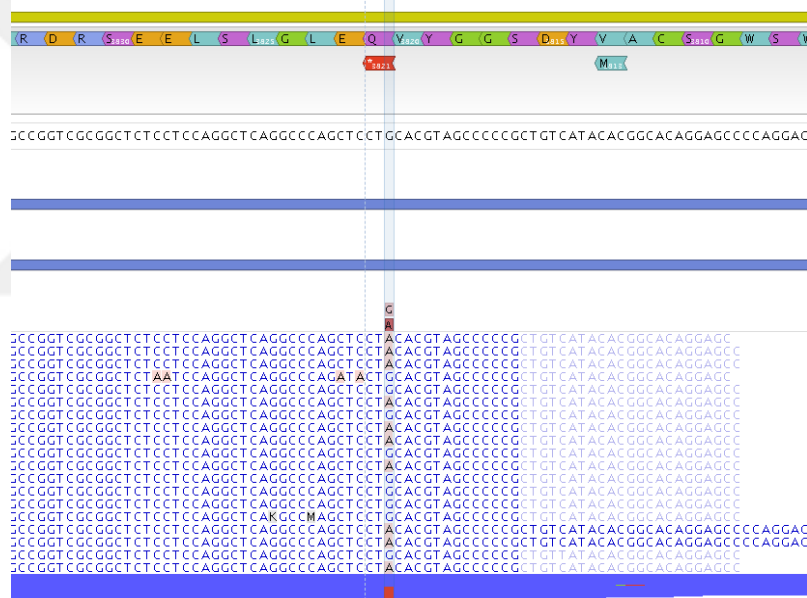
4.2.8. Hasta 9

10 yaş 5 aylık kız hasta hematüri nedeniyle başvurmuş, yapılan renal USG sonucunda sağ ve sol böbrekte kist görülmüştür. Aile öyküsü olmayan hastada *PKD2* c.65G>A, (p.R22H) varyantı heterozigot (Şekil 4.21) saptandı. Aile segregasyonu sonucunda aynı varyant sağlıklı olan babada saptandı. Varyant 2019 yılında ACMG'ye göre yapılan analizde VUS iken 2023'te yeniden yapılan analizde B olarak yorumlanmıştır.

4.2.10. Hasta 11 ve Hasta 25

Hasta 11, 13 yaşındaki erkek hasta olup yan ağrısı nedeni ile başvurmuş, yapılan renal USG’de her iki böbrekte büyüğü solda üst zonda 1,7 cm boyutta kortikomedüller yerleşimli birkaç adet kist izlenmiştir. Babasında, amcasında, 2 kız kardeşinde ve kız kardeşinin oğlunda kistik böbrek hastalığı öyküsü olan hastadan yapılan dizi analizi sonucunda *PKD1* geni 41. ekzonda c.11461C>T, (p.Q3821*) heterozigot varyantı (Şekil 4.23) saptandı. Varyant proteinde erken trunkasyona neden olmakta olup, ACMG kriterlerine göre P olarak yorumlanmıştır.

Hasta 25 ise hasta 11 ile akrabalık bağı bulunmayan 10 yaşındaki kız hasta olup babasında, amcasında ve kardeşinde kistik böbrek hastalığı olması ve USG’da böbrek kistleri görülmesi nedeni ile dizi analizi yapılmıştır. Yine *PKD1* geni 41. ekzonda c.11461C>T, (p.Q3821*) heterozigot varyantı saptanmıştır.



Şekil 4.23 *PKD1* c.11461C>T, (p.Q3821*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

4.2.11. Hasta 12

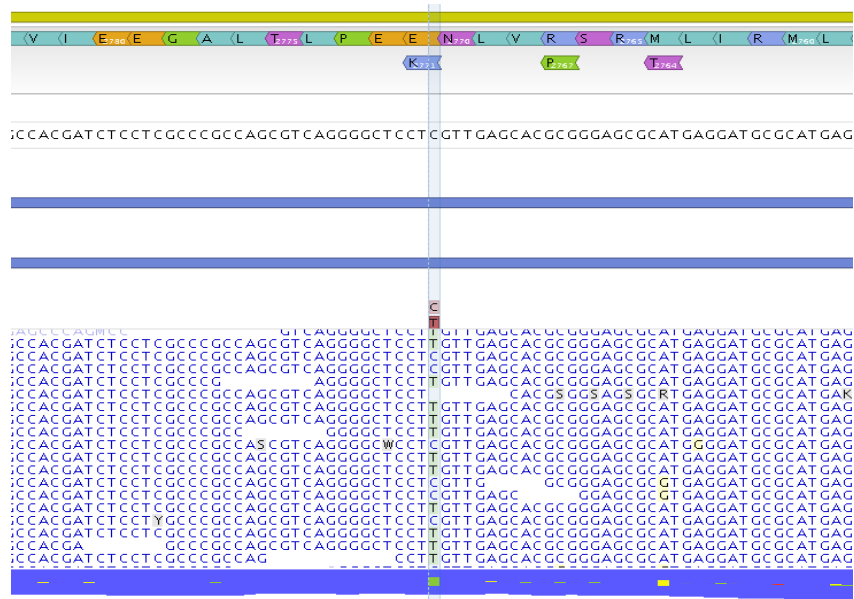
14 yaş 7 aylık erkek hastaya tesadüfen yapılan renal USG’de her iki böbrekte büyüğü solda 1,8 cm boyutta kortikal, kortikomedüller çok sayıda kist izlenmesi üzerine dizi analizi çalışılmış, *PKD1* ekzon 44’te c.12031C>T, (p.Q4011*) heterozigot varyantı (Şekil 4.24) saptanmıştır. Proteinde erken trunkasyona yol açan varyantı, CADD ve mutation taster hastalık yapıcı olarak değerlendirmektedir. ACMG kriterlerine göre varyant P olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.24 *PKD1* c.12031C>T, (p.Q4011*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

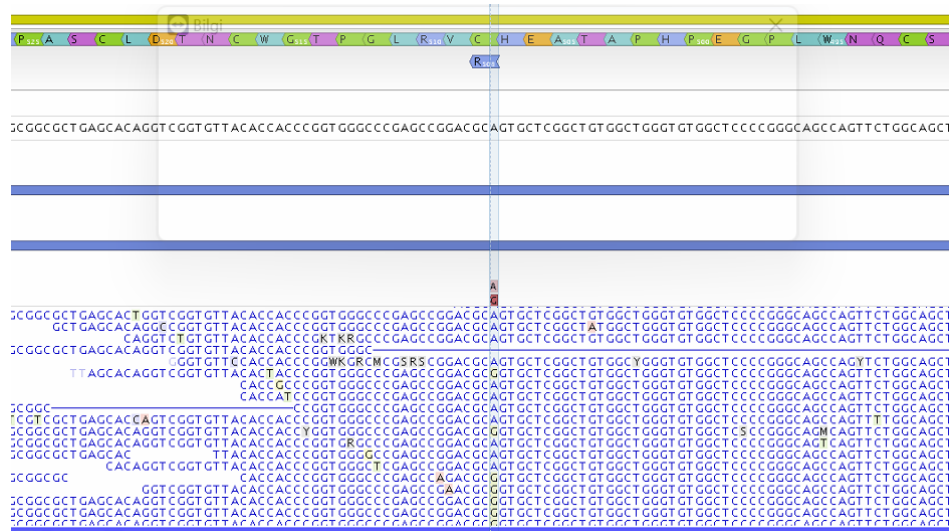
4.2.12. Hasta 14

8 aylık erkek hastaya yapılan renal USG’de her iki böbrekte sağ üst polde 7 mm, sol alt polde 13 mm boyutta birkaç adet kortikal kist izlenmiştir. Takiplerinde yapılan abdomen USG’de karaciğer segment 6’da subkapsüler milimetrik kist izlenmiştir. *PKD1* ekzon 23’te c.8311G>A, (p.E2771K) heterozigot varyantı (Şekil 4.25) saptanmıştır. Varyant proteinin REJ modülünü etkilemektedir. Aile öyküsü olmayan hastanın anne baba segregasyon analizinde varyantın de novo olduğu gösterilmiştir. CADD, polyphen, mutation taster varyantı hastalık yapıcı olarak yorumlamaktadır. ACMG sınıflamasına göre MP olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.25 *PKD1* c.8311G>A, (p.E2771K) heterozigot varyantı BAM görüntüsü

Hastada aynı zamanda *PKD1* ekzon 7’de c.1522T>C, (p.C508R) varyantı heterozigot (Şekil 4.26) saptanmıştır. Proteinin C-tipi lektin domaininde bulunan bu varyant Qiagen Clinical Insight, Franklin ve Varsome araçlarında ve ADPKD varyant veritabanında MP olarak görülmektedir. Çalışmada bu varyant aynı zamanda 19 numaralı hastada ve 7 kontrol grubu bireyde saptanmıştır. ACMG kriterlerine göre VUS olarak yorumlanmıştır. Varyantın sanger ve aile segregasyon çalışmasının yapılması planlanmıştır.

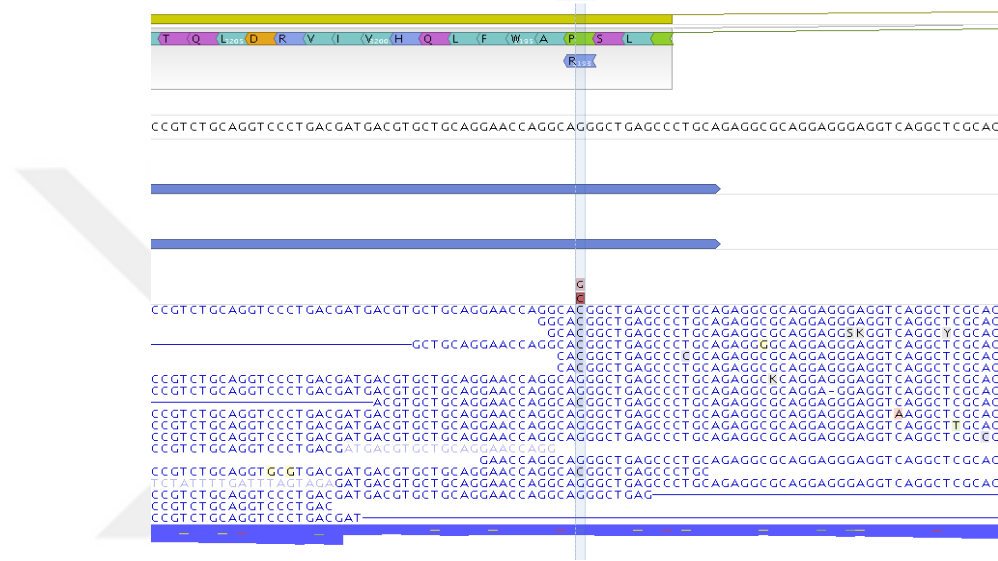


Şekil 4.26 *PKD1* c.1522T>C, (p.C508R) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

4.2.13. Hasta 15

11 yaşında erkek hastanın babasında ve babasının kardeşlerinde PBH olması nedeni ile yapılan renal USG’de sağ böbrekte büyüğü alt zonda 11 mm çapında 3-4 adet

kortikal kist, sol böbrek orta zonda parapelvik yerleşimli 14 mm çapında kist ve milimetrik boyutta birkaç adet kortikal kist izlenmiştir. Dizi analizinde *PKD1* 28. ekzonda c.9578C>G, (p.P3193R) heterozigot varyantı (Şekil 4.27) saptanmıştır. PC1'in zar proteinleriyle etkileşimine aracılık etmede önemli olan PLAT(PC1 lipoksijenaz alfa toksin) domaininde(77) bulunan varyant yenidir. Segregasyon analizinde babada da heterozigot saptanmıştır. CADD, SIFT, polyphen, provean ve mutation taster tahmin araçlarında hastalık yapıcı olarak değerlendirilmektedir. ACMG kriterlerine göre MP olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.27 *PKD1* c.9578C>G, (p.P3193R) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

4.2.14. Hasta 16, Hasta 26, Hasta 35, Hasta 38 ve Hasta 47

9 yaşındaki erkek hasta (Hasta 16) İYE ve babasında PBH öyküsü olması nedeni ile araştırılırken yapılan renal USG'de bilateral böbrek kistleri saptanmıştır. *PKD2* 6. ekzonunda c.1390C>T, (p.R464*) heterozigot varyantı (Şekil 4.28) saptanmıştır. Proteinde erken trunkasyona neden olan varyantı CADD ve mutation taster hastalık yapıcı olarak değerlendirmektedir. ACMG kriterlerine göre P olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.28 *PKD2* c.1390C>T, (p.R464*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

Hasta 26, 27 yaşındaki erkek hasta olup hematüri ve İYE nedeni ile yapılan renal USG’de bilateral böbrek kistleri saptanmıştır. Babası da PBH ile takipli olan hastanın dizi analizi sonucunda *PKD2* 6. ekzonunda c.1390C>T, (p.R464*) heterozigot varyantı saptanmıştır.

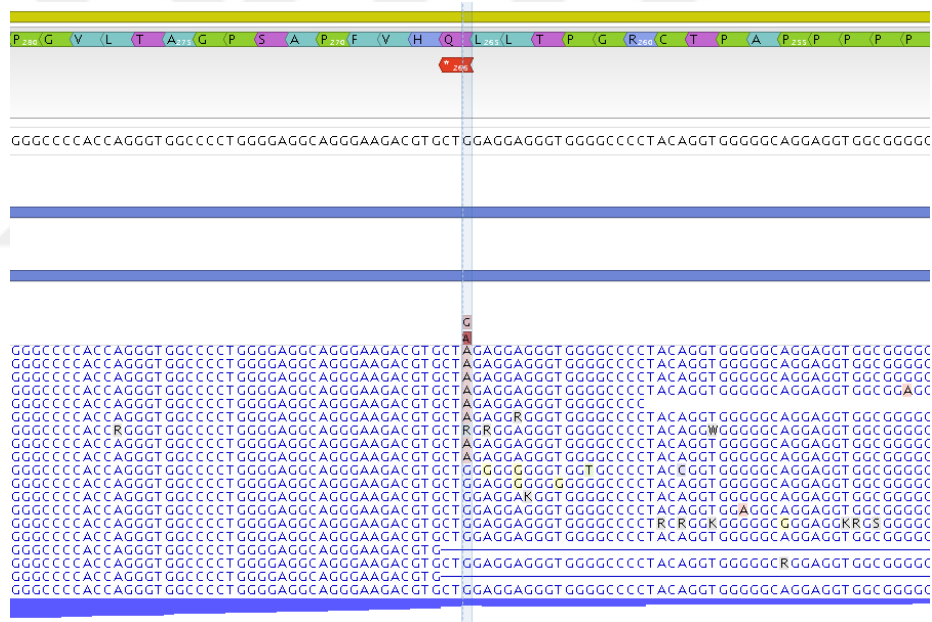
Hasta 35’e, 56 yaşında iken poliüri, İYE, yan ağrısı olması ve annesinde, abisinde ve çocuklarında PBH olması nedeni ile yapılan abdomen MRG’de sol böbrek hipoplazik, en büyüğü 2.5 cm multiple sayı ve çapta kist, sağ böbrek normalden büyük, en büyüğü 6 cm multiple peripelvik kistler ve karaciğerde multipl kistler görülmüştür. Hasta 65 yaşında iken genetik polikliniğine başvurmuş ve *PKD1*, *PKD2* dizi analizi çalışılmıştır. *PKD2* 6. ekzonunda c.1390C>T, (p.R464*) heterozigot varyantı saptanmıştır. Hastada aynı zamanda *PKD1* 44. ekzonda c.12037T>C, (p.S4013P) heterozigot varyantı saptanmıştır. Bu varyant CADD skoruna göre olası zararlı, mutation taster’a göre hastalık yapıcı olarak SIFT’te benign, provean’da ise belirsiz şeklinde gruplandırılmıştır. Kontrol grubu bireylerde saptanmamıştır. ACMG kriterlerine göre VUS olarak sınıflandırılmış, aile segregasyonu planlanmıştır.

Hasta 38, 2,5 yaşında kız hasta hematüri nedeniyle başvurmuş, babasında ve babaannesinde PBH öyküsü bulunmaktaydı. Renal USG’de sağ böbrek alt polde 1,1 cm kistik görünüm, sol böbrekte 1,7 cm kistik görünüm saptanmıştır. Genetik analiz sonucunda *PKD2* 6. ekzonunda c.1390C>T, (p.R464*) heterozigot varyantı saptanmıştır.

Hasta 47, 38 yaşında kadın hasta 20 yaşındayken karın ağrısı nedeniyle araştırılmış ve ODPBH tanısı almıştır. Babasında ve 3 çocuğunda ODPBH mevcuttur. Hastada *PKD2* 6. ekzonunda c.1390C>T, (p.R464*) heterozigot varyantı saptanmıştır.

4.2.15. Hasta 17

Hasta 17, 8 yaşındayken yan ağrısı nedeni ile araştırılırken böbrek kistleri saptanmış, 15 yaşındayken genetik polikliniğine başvurmuştur. Genetik test sonucunda *PKD1* ekzon 5'te c.796C>T, (p.Q266*) varyantı heterozigot (Şekil 4.29) saptanmıştır. Hastanın aile öyküsü bulunmamaktadır. Varyant kalsiyum bağımlı karbonhidrat bağlanması ile ilişkili olan WSC(cell wall integrity and stress component) domaininde(78) erken trunkasyona neden olmaktadır. CADD ve mutation taster tarafından hastalık yapıcı olarak değerlendirilmiştir. ACMG sınıflamasına göre P olarak yorumlanmıştır.



Şekil 4.29 *PKD1* c.796C>T, (p.Q266*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

4.2.16. Hasta 18

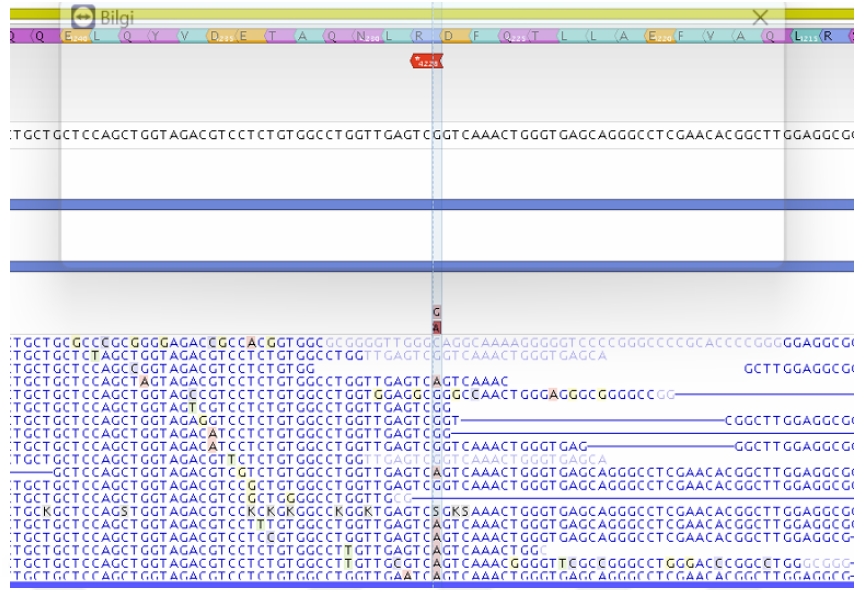
Babasında ve amcasında PBH olan 9 günlük erkek bebekte yapılan renal USG'de böbrek kistleri saptanmıştır. DNA dizi analizi sonucunda *PKD1*'de c.2527T>C, (p.S843P) heterozigot varyantı (Şekil 4.30) saptanmıştır. 2019'da ACMG kriterlerine göre yapılan değerlendirmede VUS olan varyant, 2023'te MB olarak değişmiştir. CADD ve polyphen varyantı zararlı olarak değerlendirirken, mutation taster, SIFT, PROVEAN B olarak değerlendirmektedir.



Şekil 4.30 *PKD1* c.2527T>C, (p.S843P) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

4.2.17. Hasta 22

13 yaş 9 aylık erkek hasta hematüri nedeni ile araştırılırken renal USG’de bilateral böbrek kistleri görülmüştür. Babasında, babaannesinde ve amcasında PBH öyküsü mevcuttur. *PKD1* dizi analizi sonucunda 46. ekzonda c.12682C>T, (p.R4228*) trunkasyona neden olan heterozigot varyant (Şekil 4.31) tespit edilmiştir. ACMG kriterlerine göre P olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.31 *PKD1* c.12682C>T, (p.R4228*) heterozigot varyantı BAM görüntüsü

4.2.18. Hasta 23

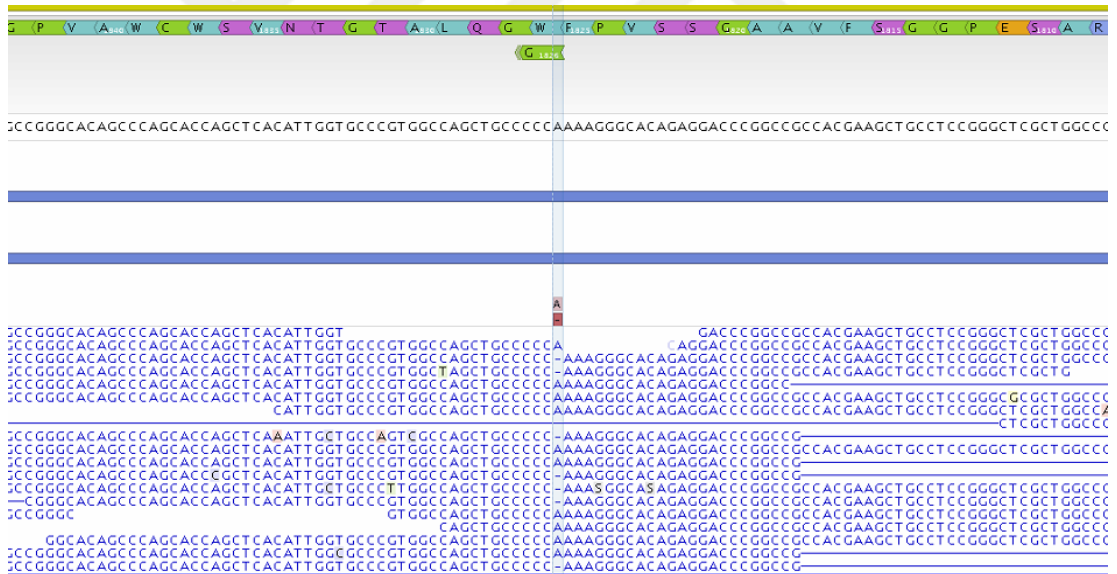
20 yaşındaki erkek hastada böbrek kistleri saptanmış olup, 38 yaşında genetik polikliniğine başvurmuştur. Babasında da böbrek kistleri bulunan hastaya *PKD1* ve *PKD2* dizi analizi çalışılmış, *PKD1* geninin 15. ekzonunda c.6727_6728delCA, (p.Q2243fs*18) varyantı heterozigot (Şekil 4.32) saptanmıştır. Varyant REJ domaininde olup CADD ve mutation taster tarafından hastalık nedeni olarak yorumlanmıştır. ACMG kriterlerine göre P olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.32 *PKD1* c.6727_6728delCA, (p.Q2243fs*18) heterozigot varyantı BAM görüntüsü

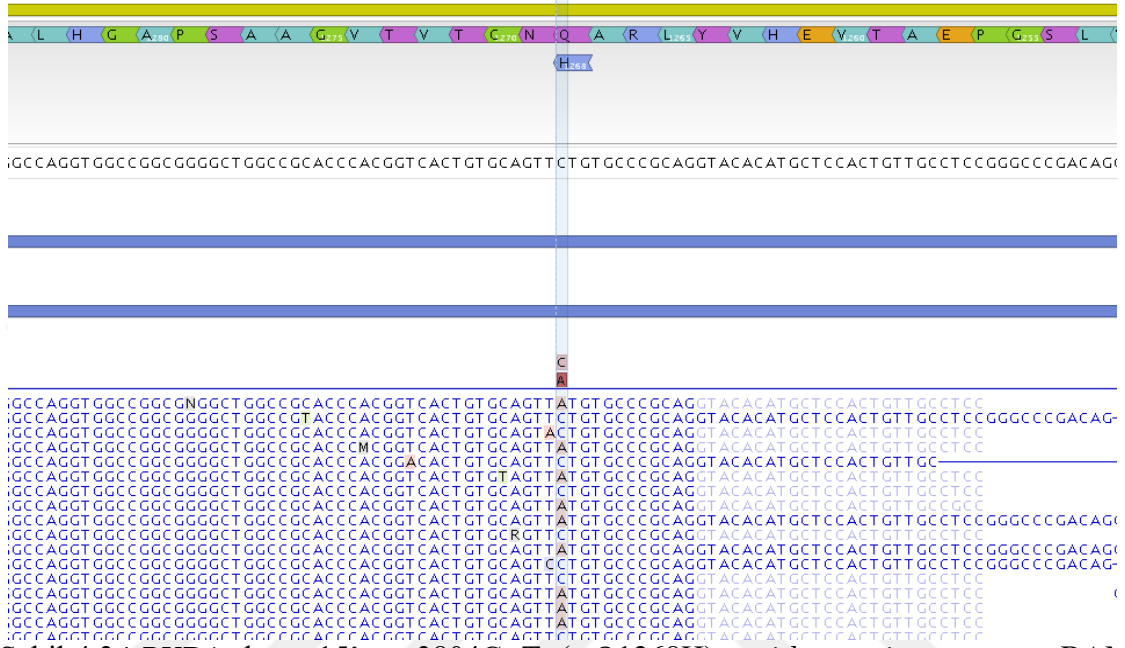
4.2.19. Hasta 24

2 aylıkken İYE ile araştırılan ve renal USG’de sağ böbrekte büyüğü alt zonda 6 mm, sol böbrekte büyüğü üst zonda 6 mm çok sayıda kortikal ve medüller yerleşimli bazıları lobüle konturlu septalı kistler saptanan hasta, 3 yaşında genetik polikliniğine başvurdu. Aile öyküsü yoktu. Yapılan *PKD1* ve *PKD2* dizi analizi sonucunda *PKD1* ekzon 15’te c.5476delT, (p.W1826fs*10) yeni varyantı heterozigot (Şekil 4.33) saptandı. Varyant PKD14 domaininde yer almaktadır. PKD14 domaini yapısı Ig katlantılarına benzeyen 16 adet PKD tekrar domaininden biridir. PKD tekrarlarındaki missense mutasyonlar ile yapılarının mekanik gücünün değişmesi bunların mekanosensör olarak rol oynadığını düşündürmektedir. Ayrıca birbirleri ile etkileşim kurabilen bu PKD tekrarları hücreler arası iletişimi düzenlemektedir(75). Buradaki varyant çerçeve kayması sonucunda protein trunkasyonuna yol açmaktadır. Daha önce literatürde bildirilmemiş yeni bir varyanttır. Anne baba segregasyonu sonucunda varyantın de novo olduğu tespit edilmiştir. ACMG kriterlerine göre MP olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.33 *PKD1* c.5476delT, (p.W1826fs*10) heterozigot yeni varyantının BAM görüntüsü

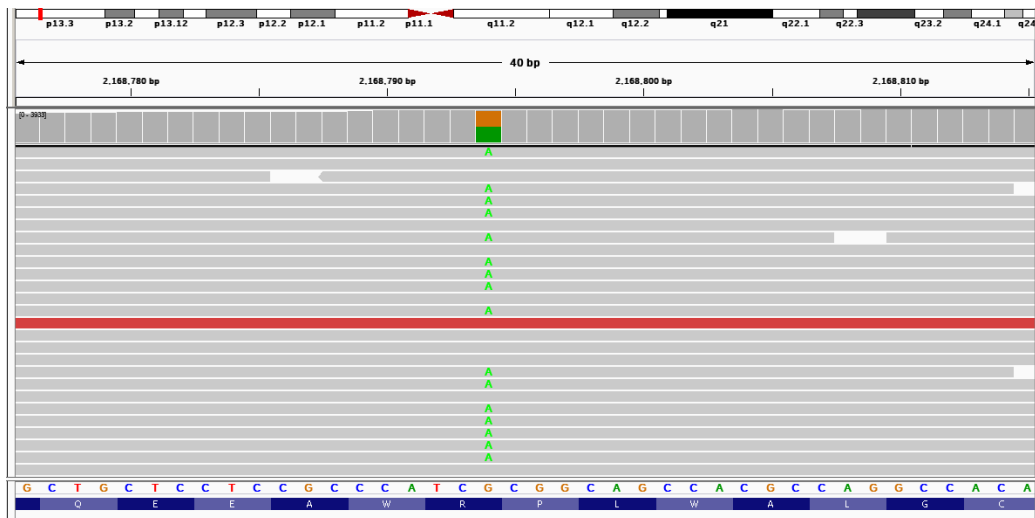
Aynı hastada *PKD1* ekzon 15'te c.3804G>T, (p.Q1268H) yeni varyantı heterozigot (Şekil 4.34) saptandı. PKD7 domaininde bulunmaktadır, CADD ve polyphen tarafında olası zararlı olarak, mutation taster, SIFT ve provean tarafından benign olarak değerlendirilmiştir. Anne baba segregasyonu sonucu varyantın babada heterozigot olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.34 *PKD1* ekzon 15'te c.3804G>T, (p.Q1268H) yeni heterozigot varyantı BAM görüntüsü

4.2.20. Hasta 30

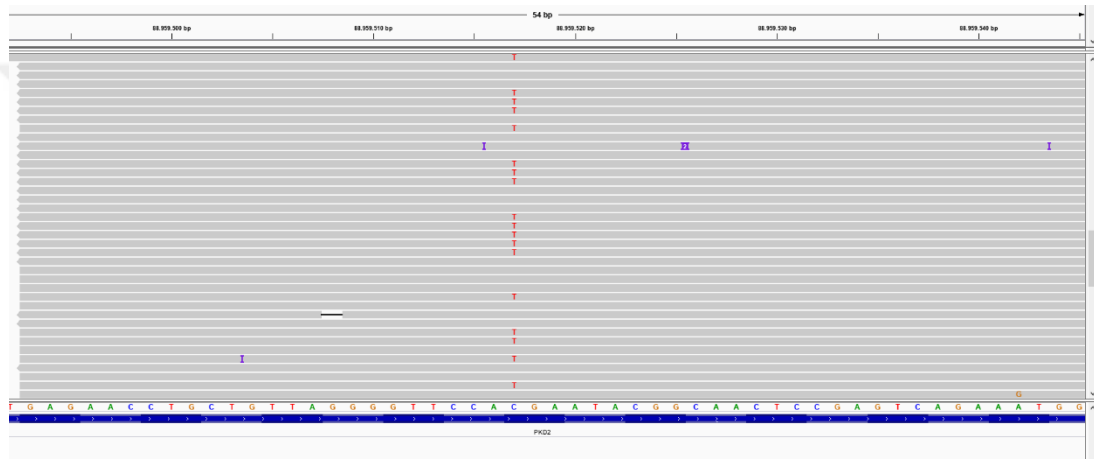
Karaciğer ve böbrek kistleri bulunan 42 yaşındaki kadın hastada *PKD2* ekzon 4'te c.958C>T, (p.R320*) varyantı heterozigot (Şekil 4.35) saptanmıştır. Varyant ACMG kriterlerine göre P olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.35 *PKD2* c.958C>T, (p.R320*) heterozigot varyantının BAM görüntüsü

4.2.21. Hasta 31

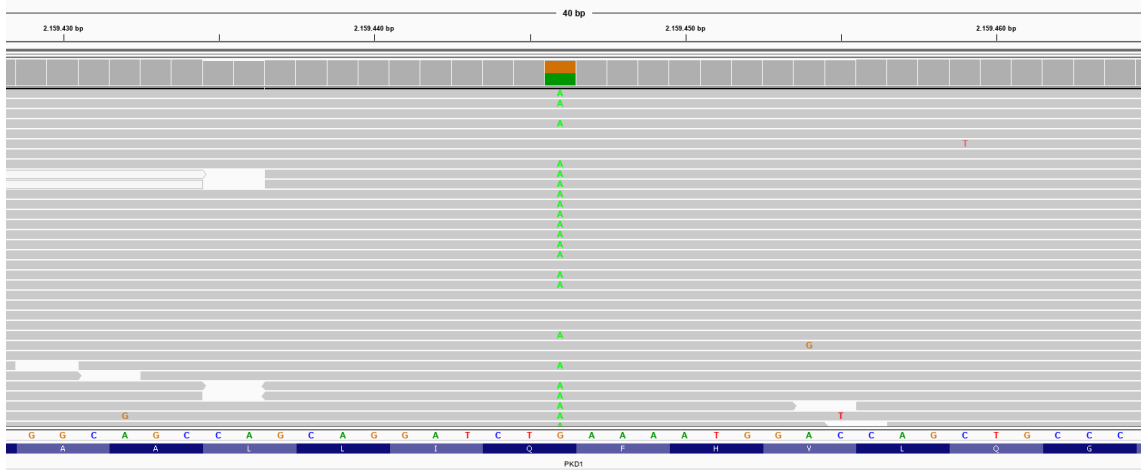
16 yaşındaki kız hasta, 10 yaşındayken karın ağrısı ve hematüri ile başvurmuş, renal USG’de sol böbrek üst polde en büyüğü 7,5 cm, çok sayıda saptasyonlu kistler, sağ böbrekte en büyüğü 1,5 cm çok sayıda kortikal ve kortikomedüller kistler görülmüştür. Annesinde PBH mevcuttur. Takiplerinde karaciğer kistleri saptanmıştır. 16 yaşında genetik polikliniğine başvurmuş ve dizi analizi sonucunda *PKD1* 4. ekzonda c.412C>T, (p.R138*) varyantı (Şekil 4.36) saptanmıştır. Varyant proteinin hücre dışı kısmında bulunan ve PC1’in hücre adezyonundaki rolünde yer alan LRRCT domaininde(75) bulunmaktadır., CADD ve mutation taster tarafından hastalık yapıcı olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.36 *PKD1* c.412C>T, (p.R138*) heterozigot varyantı IGV görüntüsü

4.2.22. Hasta 33

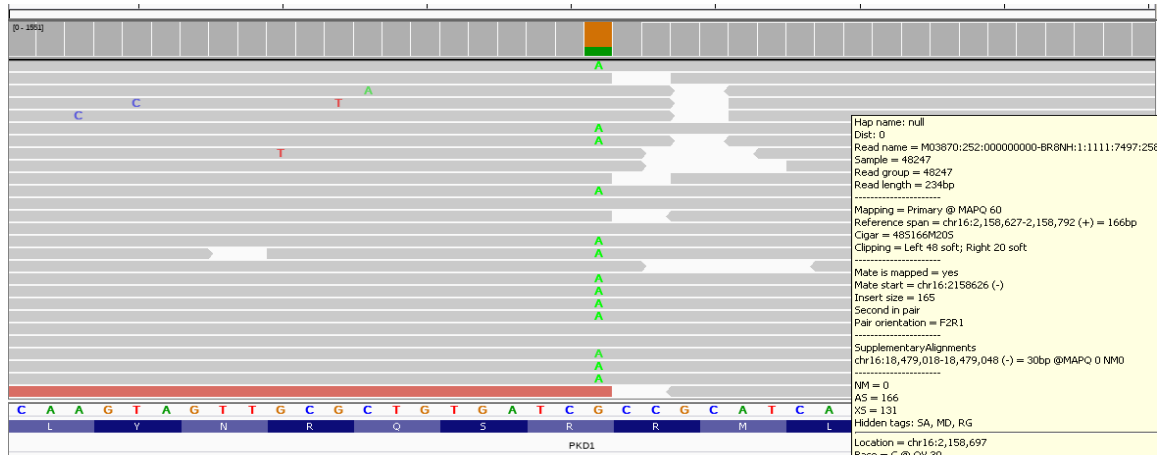
34 yaşındaki erkek hasta yan ağrısı ve hematüri şikayetleri ile PBH tanısı almış, 49 yaşında SDBY ile renal transplant yapılmıştır. Ayrıca peribiliyer kist ve safra yollarında dilatasyon da gelişmiştir. Genetik polikliniğine 49 yaşında başvurmuştur. Babasında da kistik böbrek hastalığı mevcuttur. *PKD1* ekzon 15’te c.5722C>T, (p.Q1908*) varyantı heterozigot (Şekil 4.37) saptanmıştır. Proteinin PKD15 domaini içerisinde yer almakta ve erken trunkasyona neden olmaktadır. ACMG kriterlerine göre P olarak sınıflandırılmıştır



Şekil 4.37 *PKD1* c.5722C>T, (p.Q1908*) heterozigot varyantı IGV görüntüsü

4.2.23. Hasta 37

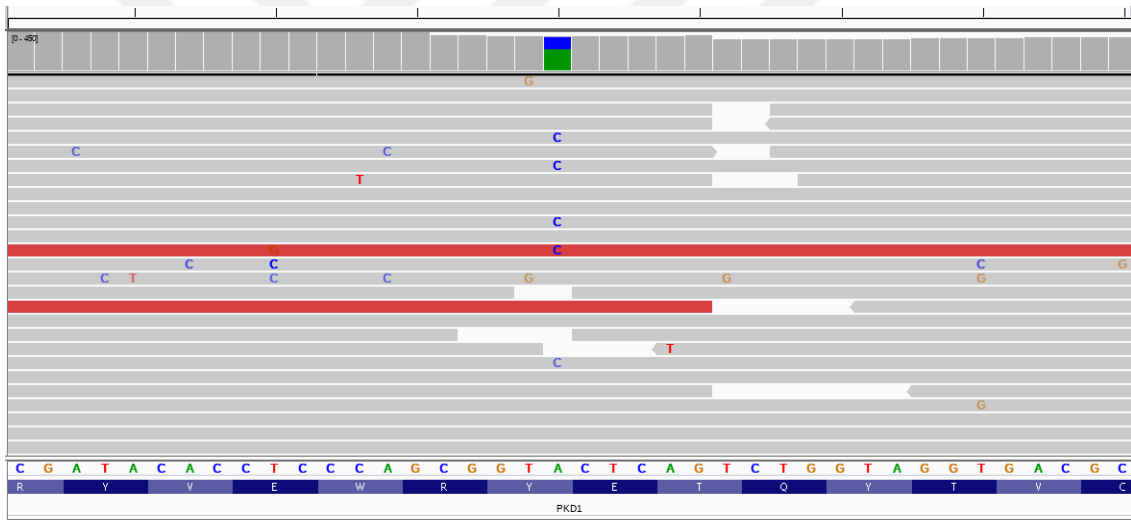
Antenatal hidronefroz saptanan erkek hastaya 1 yaşında yapılan renal USG'de sol böbrek alt polde 7x6 mm boyutta basit kortikal kist saptanmıştır. Babasında, babasının babası ve amcasında kistik böbrek hastalığı öyküsü olan hastanın sonucunda *PKD1* ekzon 15'te c.6487C>T, (p.R2163*) heterozigot varyantı (Şekil 4.38) saptanmıştır. Proteinin REJ modülünde yer almakta olan varyant, erken trunkasyona yol açmaktadır. ACMG kriterlerine göre P olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.38 *PKD1* c.6487C>T, (p.R2163*) heterozigot varyantı IGV görüntüsü

4.2.24. Hasta 39

12,5 yaşındaki erkek hasta karın ağrısı, babada ve ablada PBH olması sebebi ile genetik polikliniğine yönlendirildi. Renal USG’de sağ böbrekte milimetrik kortikal yerleşimli birkaç kist, sol böbrekte büyüğü alt polde 25 mm çapında birkaç adet kist saptandı. Dizi analizi sonucunda *PKD1* ekzon 15’te c.6553T>G, (p.Y2185D) varyantı heterozigot (Şekil 4.39) saptandı. Aynı varyant hasta ablasında da saptandı. Proteinin REJ modülünü etkilemektedir. Mayo Clinic PKD veritabanına göre, REJ modülünde 80 yanlış anlamlı mutasyon dahil olmak üzere yaklaşık 230 mutasyon vardır ve bunlardan yaklaşık 65 yanlış anlamlı mutasyonun hastalığa neden olduğu tahmin edilmektedir, bu da bu bölgenin PC1 işlevi için önemini vurgulamaktadır(76). CADD, mutation taster ve provean tarafından hastalık yapıcı olarak değerlendirilmektedir. ACMG kriterlerine göre MP olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.39 *PKD1* c.6553T>G, (p.Y2185D) heterozigot varyantı IGV görüntüsü

4.2.25. Hasta 40

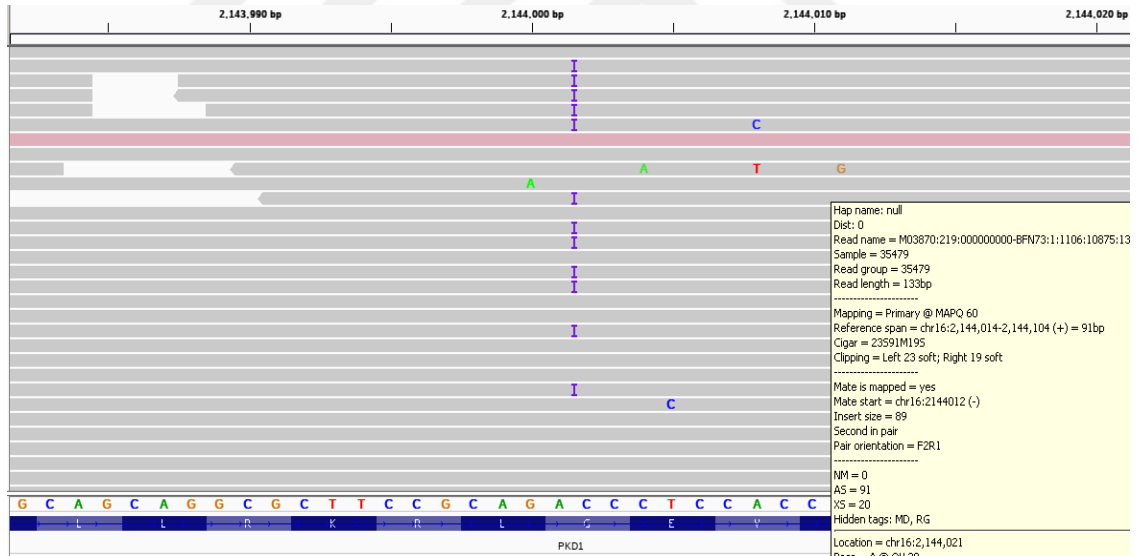
5,5 yaşında kız hasta İYE nedeni ile başvurmuş, renal USG’de sağ böbrekte en büyüğü 11x9 mm ebatlı, ve sol böbrekte en büyüğü 20x15 mm ebatlı multiple sayı ve çapta anekoik ekojen kortikal parapelvik kistler saptanmıştır. *PKD2* ekzon 8’de c.1837C>T, (p.Q613*) varyantı heterozigot saptanmıştır. Varyant erken trunkasyona neden olmakta olup, CADD ve mutation taster tarafından hastalık yapıcı olarak değerlendirilmektedir. ACMG sınıflamasına göre patojenik olarak değerlendirilmiştir.

4.2.26. Hasta 41

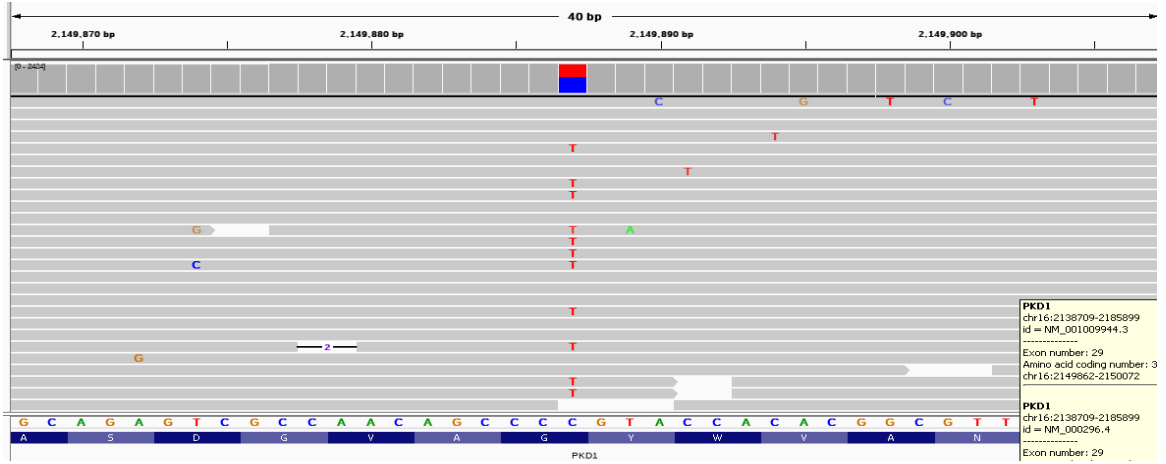
6 yaşında İYE ile şikayetleri başlayan kız hasta 12 yaşında genetik polikliniğine başvurmuştur. Renal USG’de sağ böbrek alt polde büyüğü 40x30 mm ince septalı kist, sağ böbrek üst polde büyüğü 14x12 mm boyutta kist, sol böbrekte parapelvik yerleşimli 27x21 mm kist, her iki böbrekte ekstradan milimetrik birkaç adet kist saptanmıştır. *PKD1* ekzon 36’da c.10631dupG, (p.L3545Sfs*82) varyantı heterozigot (Şekil 4.40) ve ekzon 29’da c.9898G>A, (p.G3300R) varyantı heterozigot (Şekil 4.41) saptanmıştır.

PKD1 c.10631dupG, (p.L3545Sfs*82) varyantı daha önce literatürde bildirilmemiş yeni bir varyanttır. ACMG sınıflamasına göre MP olarak değerlendirilmiştir.

PKD1 c.9898G>A, (p.G3300R) varyantını CADD olası zararlı, mutation taster ve provean hastalık yapıcı olarak değerlendirmektedir. ACMG kriterlerine göre VUS olarak sınıflandırılmıştır. Biallelik *PKD1* varyantları erken başlangıçlı PBH ile ilişkilendirildiğinden aile segregasyon çalışması ve fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.



Şekil 4.40 *PKD1* c.10631dupG, (p.L3545Sfs*82) yeni varyantının IGV görüntüsü



Şekil 4.41 *PKD1* c.9898G>A, (p.G3300R) heterozigot varyantı IGV görüntüsü

4.2.27. Kontrollerde saptanan Yeni varyantların görüntüsü



Şekil 4.42 *PKD1*, c.3081G>C, (p.V1027V) heterozigot yeni varyantının BAM görüntüsü

5.TARTIŞMA

ODPBH, 1:1000-1:2500 tahmini prevalansı olan en sık görülen kalıtsal böbrek hastalığıdır. Sıklıkla erişkin yaşta böbreklerde kistlerin oluşumu ve büyümesi ile ortaya çıkıp ilerleyici böbrek hasarına neden olarak SDBY'ye götürmektedir. Karaciğer, pankreas, dalak gibi ekstrarenal organ kistlerinin, kardiyovasküler anomalilerin, bağ dokusu bozukluklarının da eşlik ettiği multisistemik bir hastalıktır(2). Sıklıkla erişkin yaşta ortaya çıksa da hastalık şiddeti son derece değişkendir ve çocukluk yaş grubunda hatta intrauterin dönemde bile tanı alan hastalar mevcuttur. Klinik ve genetik olarak oldukça heterojen olup sıklıkla sırasıyla PC-1 ve PC-2'yi kodlayan *PKD1* (%78) ve *PKD2* (%15) genlerindeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır(79). Tanı USG ile konulabilir ancak kistik böbrek hastalıkları çok çeşitli olduğundan kesin tanı, prognoz tahmini ve genetik danışma için moleküler testler gereklidir. Hastalığın hangi genden kaynaklı olduğu ve gendeki varyantın tipi prognozu belirlemede önemli rol oynar(6). Genetik analiz sonuçlarının yorumlanması, yüksek allellik heterojeniteden dolayı zordur. Varyantların çoğu sınıflandırılmamış ve klinik önemi bilinmeyen varyantlar olarak adlandırılmıştır. Bu nedenle daha fazla sayıda etkilenmiş aile soy ağacının ve genetik sonuçlarının araştırılması gerekmektedir(4, 5).

Bunlardan yola çıkarak bu çalışmada, bölümümüzde ODPBH ön tanısı ile genetik test çalışılan 48 hastanın demografik özellikleri, klinik bilgileri, genetik analiz sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. Aynı genetik testin farklı nedenlerle çalışıldığı bireylerden 48 kontrol seçilerek *PKD1* ve *PKD2* dizi varyantları hasta grubu ile karşılaştırılmıştır.

Bu tez çalışması, Türkiye'de çocuk ve erişkin yaş grubunu içeren *PKD1* ve *PKD2* varyantlarının kontroller ile birlikte değerlendirildiği ilk çalışmadır. Çalışmamızda hasta ve kontrol grubunda hangi varyantların saptandığı ve ilişkisi, varyantların tiplerinin ve sınıflamasının nasıl olduğu, daha önce literatürde bildirilmemiş varyantların olup olmadığı, tespit edilen varyantların gen üzerindeki dağılımının nasıl olduğu, *PKD1* ve *PKD2*'de hot spot bir bölge bulunup bulunmadığı sorularına cevap aradık. Bu cevapların hastalık patofizyolojisinin altında yatan genetik çeşitliliği ortaya koymaya ve hasta yönetimini geliştirmeye fayda sağlayacağını düşündük.

Çalışmamızda yer alan hastaların Tıbbi Genetik polikliniğine başvurularındaki ortalama yaşları $15,07 \pm 15,51$ (medyan 11.71) olup, hastalık başlangıç (ilk semptom) yaşı ortalaması ise $11,49 \pm 13$ 'tür (medyan:9) (Tablo 4.2). Hastaların 26'sı erkek (%54), 22'si

kız (%46) cinsiyetten oluşmaktadır. Kız/erkek oranı 0,84 saptanmıştır. Literatüre bakıldığında tanı yaşı ortalaması seçilen hasta popülasyonuna göre değişmekte, kız/erkek oranları ise 1'e yakın olup genelde çok değişmemektedir. 140 hastanın seçildiği bir çalışmada ortalama yaş 57 iken, kız/erkek oranı 0,77 şeklinde raporlanmıştır(16). 700 hasta ile yapılan başka bir çalışmada kız/erkek oranı 1,18'dir(80). 440 İtalyan hasta ve 203 akrabasının dahil edildiği çalışmada hastaların yaş ortalaması 42 ± 20 , kız/erkek oranı 0,94 saptanmıştır(34). Bir başka çalışmada 212 hasta dahil edilmiş, başvuru yaşı medyan değeri 50 iken, hastalık başlangıç yaşı medyan değeri 25'tir. Kız/erkek oranı ise 1,14'tür(81). Raj ve ark.'nın 84 Hintli hastayı dahil ettiği çalışmada ise kız/erkek oranı 0,95'tir(3). ODPBH tanılı 41 çocuğun dahil edildiği Türkiye'den bir çalışmada kız/erkek oranı 1,2, tanı yaşı ortalaması 7.2 ± 5.1 (0.6–16.9)'dir(65). 524 Koreli hastanın dahil edildiği çalışmada yaş ortalaması 46.4 ± 13.3 , kız/erkek oranı 1,07 saptanmıştır(36). İrlanda'dan yapılan bir çalışmada 18 yaş altı bireyler çalışmaya dahil edilmemiş, ortalama tanı yaşı 36 (medyan:35) saptanmış, kız/erkek oranı ise 1 olarak bildirilmiştir(32). Bizim çalışmamızda yaş ortalamasının düşük olmasının nedeni polikliniğimize refere edilen hastaların çoğunu (37/46) 18 yaş altı çocukların oluşturmasıdır.

Çalışmamızda en sık başvuru şikayetleri İYE (%23) ve karın ağrısıyken (%23), insidental saptanan hastalar (%18) da azımsanmayacak düzeydedir. %12 hasta aile öyküsü ile bunları izlemektedir. Literatüre baktığımızda benzer şekilde bir çalışmada en sık şikayetler karın ağrısı, hematüri, İYE olarak görülmüştür. Ayrıca en yüksek oranda (%35) insidental olarak saptanan hastalar bulunmaktadır(82). Başka bir çalışmada hastalar yüksek oranda (%46,2) karın ağrısı ile başvurmuştur(83).

Karaciğer kistleri ODPBH'de görülen en sık ekstrarenal bulgu olarak karşımıza çıkar ve hastaların %83'ünde görülmektedir. Prevalansı yaşla birlikte artmaktadır. Literatüre bakıldığında Hindistan'dan bir çalışmada hastaların %38.4'ünde hepatik kist saptanmıştır(82). Brezilya'da %39,1(84), Almanya'da 324 erişkin hastanın olduğu bir çalışmada %47(33), Avrupa'dan bir kohortta %55,8(85), Çin'den bir kohortta ise %72,1(86) bildirilmiştir. Çocuk yaş gruplarında ise hepatik kist %0-4 arasında olup, ciddi bir karaciğer hastalığına neden olmamaktadır(87). Türkiye'den 41 çocuğun katıldığı bir çalışmada bir çocukta (%2,43) hepatik kist(65) saptanmıştır. Çalışmamızda tüm hastaların %16,6'sinde hepatik kist görüldü. Toplam 11 erişkin hastanın 6'sında (%54,5), 37 çocuk hastanın 2'sinde (%5,4) mevcuttu. Çalışmalarda hepatik kist saptama oranları yaşa bağlı değişmekte olup, çalışmamızda erişkin yaştaki hastalarda literatüre uyumlu

oranda hepatik kist saptanmıştır. Çocuk yaştaki hastalarda hafif oranda bir yükseklik mevcuttur. Bunun da hasta sayımızın azlığından kaynaklı olabileceğini düşündük.

Aile öyküsünde PBH olması ya da böbrek yetmezliği olan bireylerin olması tanıyı düşündürmekte kilit bir roldedir. Çalışmamızda %65,2 hastada aile öyküsü pozitifdir. Aile öyküsü pozitif olanlarda tanı oranı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır (%70 - %25, p değeri:0,035). 140 hastalık bir çalışmada aile öyküsü olanların oranı %64,29'dur(16). 700 hastanın alındığı çalışmada aile öyküsü pozitif olanlar hastaların %75'ini oluştururken, aile öyküsü pozitif olanlarda tanı oranı %90, negatif olanlarda ise %87 saptanmıştır (80). Mantovani ve ark.'nın çalışmasında 212 hastanın %76,7'sinde aile öyküsü pozitifdir. Aile öyküsü olmayanlarda tanı oranı %68,9'dur(81). 440 akraba olmayan İtalyan hastanın dahil edildiği bir çalışmada olguların %72'si aileseldir ve ailesel olgularda %83, sporadik olgularda %72 oranında moleküler tanı konmuştur(34). Başka bir çalışmada aile öyküsü olanlara %85, olmayanlara %75 oranında tanı konmuştur(32). Aile öyküsü %61,6 olan başka bir çalışmada yine aile öyküsü olanlarda tanı konma oranı daha yüksek (%89,5- %77) saptanmıştır(82). Bir çalışmada ise bizimkine benzer şekilde aile öyküsü olanlara tanı konma oranı, olmayanlara göre anlamlı bir şekilde yüksek saptanmıştır (p:0,033)(82). Çalışmamızda literatür ile uyumlu şekilde aile öyküsü olanlarda tanı oranı daha yüksek görülmektedir. Ancak aile öyküsü olan ve olmayan grupta tanı oranlarımızın literatüre göre daha düşük olması, hasta grubumuzun çoğunun 18 yaş altı çocuklardan oluşması ve çocuklarda görüntüleme ile net tanının belirlenmesinin zor olması ile açıklanabilir. Yine literatürdeki çalışmalara bakıldığında ODPBH'da de novo hastalık oranı %23-39 arasında gözükmektedir. Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak %35 hasta de novo gözükmektedir.

PKD1 ve *PKD2* moleküler analizinin incelendiği, genlerin genetik heterojenitesinin ortaya konduğu bir çok çalışma mevcuttur. Bizim çalışmamızda *PKD1* ve *PKD2* dizi analizinde 27 hastada P ve MP varyant saptanarak tanısıl değer %56,25 hesaplanmıştır. 8 hastadaki (%16,6) VUS varyant da eklendiğinde ise %72,9 tanısıl değeri saptanmıştır. 35 hastanın 26 (%74,2)'sında *PKD1*'de, 9 (%25,7)'unda *PKD2*'de mutasyon görülmüştür. Literatürde yapılan büyük çalışmalarda tanısıl değerler %89,9 (629/700) (%83,8 *PKD1*, %16,2 *PKD2*)(80), CRISP çalışmasında %89,1 (180/202) (%85 *PKD1*, %15 *PKD2*)(88), TGESP çalışmasında %84,5 (%69,7 *PKD1*, %30,3 *PKD2*)(44), HALT-PKD çalışmasında %92,4 (%84,4 *PKD1*, %15,6 *PKD2*) (47), 230 hastalık çalışmada %63 olarak hesaplanmıştır(27). Başka bir çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde tanı oranı %61,3, VUS varyantlar da eklendiğinde tanısıl değer 73,8 saptanmıştır.

Tanı alan hastaların %85,5'inde *PKD1*, %14,5'inde *PKD2* varyantı saptanmıştır (81). Raj ve ark. %66,6 hastada patojenik mutasyon saptamış, pozitif hastalar içinde %71,5'inde *PKD1*, %12,5'inde *PKD2* ve %16'sında hem *PKD1* hem *PKD2* varyantları saptanmıştır(3). Türkiye'den bir çalışmada 41 çocuğun 29'una genetik analiz yapılmış, tanısal değer %89,6 saptanmıştır(65). Koreli 524 hastanın çalışmasında %78,1 mutasyon tespit oranı bildirilmiştir. Bunların %82'si *PKD1*'de %18'i ise *PKD2*'de saptanmıştır(36). İtalyan 440 ailede tanı oranı ise %80'dir (%85,5 *PKD1*, %14,5 *PKD2*)(34). Başka bir çalışmada %79,2 tanı oranı bulunmuş, *PKD1* %83, *PKD2* %17 oranında saptanmıştır (89). 2016'da Japonya'dan yapılan bir yayında 101 hastada %89.1 tanı oranı elde edilmiş, varyantlar %87.2 *PKD1*'de, %12.8 *PKD2*'de saptanmıştır(90). İrlanda'dan yapılan çalışmada ise ACMG'ye göre sınıflama yapıldığında %68 tanı oranı bildirilmiş, *PKD1* varyantları %80'inde, *PKD2* varyantları %20'sinde saptanmıştır(32). Hintli 125 hastanın katıldığı çalışmada %84 tanı oranı, %94,3 *PKD1*, %6,7 *PKD2* varyantları raporlanmıştır(82). Çinli hastalarda %91,5 (128/140) (%87,5 *PKD1*, %12,5 *PKD2*) (16), Japonya'dan bir yayında %86,5 (96/111) tanı oranı bildirilmiştir(89). Yine Çin'den bir yayında %51.3 (76/148) tanı oranı bildirilmiştir.

Çalışmamızda, diğer çalışmalar ile uyumlu olarak *PKD1* oranı *PKD2*'den yüksektir ancak *PKD2* diğer çalışmalara göre hafif daha yüksek saptanmıştır. Bunun nedeni çalışmamızda *PKD1*'in psödomolog bölgelerinden kaynaklı NGS yönteminde düşük okunan bölgelerinin bulunması ve bu bölgelerin Sanger ile dizilenememesi olabilir. Bir nedeni de çalışmamızda insidental olarak saptanan hafif klinik gösteren hastaların fazla olması, *PKD2*'nin de daha hafif klinik ile prezente olması olabilir. Çalışmamızda 13 hastada (%27) mutasyon saptanamamış, tanısal değerimiz bazı literatür çalışmalarına göre düşük kalmıştır((34, 44, 47, 65, 80, 88, 90). Bunun nedeninin özellikle 30 yaş altı genç bireylerde görüntüleme ile kesin ve net tanının zor olması ve bizim hastalarımızın daha çok genç bireyler olması, renal görüntülemesi kesin tanı kriterlerine uymayan atipik hastaların da çalışmaya dahil edilmesi dolayısıyla çalışma kohortumuzun fenotipik heterojenitesi, YND yöntemi ile kaçırılan mutasyonlar ve ayrıca olası ek genetik heterojenite olabileceğini düşündük. Bu durumda PKBH ile seyreden başka sendromlar (orofasiyel displazi, nefronofitizis, otozomal dominant medüller kistik böbrek hastalığı, kazanılmış kistik böbrek hastalığı, Von Hippel-Lindau hastalığı, Tüberoskleroz) tanıda düşünülebilir. Varyant saptayamadığımız hastalarda YND ile saptanamayan büyük delesyon ya da duplikasyonlar, derin intronik veya düzenleyici bölgelerde bulunan varyantlar ya da somatik mozaikizm olabilir. Ayrıca literatürdeki çalışmalarda seçilen

grupların özelliklerinden (yaş, aile öyküsü, çalışmaya alınma kriterleri, USG bulguları...) ve seçilen test yönteminden kaynaklı olarak tanı oranları geniş bir spektrum göstermekte olabilir. Aynı zamanda varyant sınıflamasında farklı kriterler kullanan yayınlarda daha yüksek tanı oranları görülmüştür(34, 47, 80).

Çalışmamızda hasta grubunda toplam 97 varyant (85 *PKD1*, 12 *PKD2*) saptandı. Çoğunluğu missense 36/97 (%37,1) ve sinonimdir 37/97 (%38,1), 63(%64,9)'ü benign ve muhtemel benign varyantlardır. Kalan 34 varyant ACMG kriterlerine göre 11'i(%32,3) patojenik, 11'i MP (%32,3) ve 12'si VUS (%35,3) olarak (30 *PKD1* (%88,2), 4 *PKD2* (%11,8)) sınıflanmıştır. VUS varyantlar başka patojenik varyant saptanmayan hastalarda hastalığın primer nedeni olabilir ya da patojenik bir varyanta eşlik eden hastalarda modifiye edici etki gösterebilir. 34 mutasyonun 30'u *PKD1*'dedir (%88,3). 34 mutasyon içinde en sık görülen türler: 13 (%38,2) *PKD1*-missense, 9 (%26,4) *PKD1*-nonsense, 6 (%17,6) *PKD1*-frameshifttir. *PKD2* mutasyonları %11,7'sini oluşturmaktadır. Kontrol grubunda 72 varyant (66 *PKD1*, 6 *PKD2*) saptanmıştır. Bu varyantlar 9 VUS, 29 MB, 34 B'dir. Bir çalışmada *PKD1*'de saptanan sadece patojenik ve muhtemel patojenik mutasyonların oranına bakıldığında en sık frameshift mutasyonlar (%37,9), sonra nonsense (%25,3) ve missense (%17) görülmüştür(80). CRISP çalışmasında ise frameshift %36, nonsense %27.9 ve missense %30.1 saptanmıştır(88). Çin'den bir çalışmada bizimkine benzer şekilde *PKD2*'de %12, *PKD1*'de %88 mutasyon saptanmış, *PKD1*'de missense (%26), frameshift (%24) ve nonsense (%21) en sık saptanmıştır. Mutasyonların %28.12'si patojenik, %48.44'ü muhtemel patojenik ve %23.44'ü VUS'tur(16). Başka bir çalışmada varyantlar %60 patojenik, %15 MP, %24 VUS olarak sınıflandırılmıştır. Varyant türlerine baktığımızda bizim çalışmamıza benzer oranlarda bir sıralama görülmüş, *PKD*-missense (%31,6), *PKD1*-nonsense (%25,9) ve *PKD1*-frameshift (%20,2) en sık saptanmıştır(81). Bizim çalışmamızda VUS varyantlarının oranının daha yüksek olmasının nedeni missense varyantların oranının yüksek olması olabilir.

Varyantların dağılımına bakıldığında *PKD1*'de ve *PKD2*'de gen boyunca yerleşmişlerdir. *PKD1*'de en çok varyant %25 oranında ekzon 15'te saptanmıştır. Varyantlar herhangi bir hot spot noktada yoğunlaşmamış, ekzon 15'te dağılmıştır. Bu da ekzon 15'in 3000 baz çiftinden büyük bir ekzon olması ile açıklanabilir. Literatürde bir çalışmada ekzon 15'te %22 oranında varyant raporlanmıştır, PKBH veritabanında yine %25.8 ile en sık varyant ekzon 15'tedir(82). Başka bir çalışmada yine mutasyonlar genler boyunca dağılmış, herhangi bir hot spot nokta saptanmamıştır. Bu çalışmada ekzon 15'in

sonlarından ekzon 19'a kadar (PKD tekrarları ve REJ modülü birleşim noktası) trunk edici mutasyonların yoğunlaştığı görülmüştür(88). Yine bir çalışmada proteinin kritik domaini olan REJ/GPS modülü ve C-tipi lektin domaininde mutasyonların yoğun olduğu bildirilmiştir(91).

2 ya da daha fazla bireyde aynı mutasyonun saptanmasının altında yatan 2 neden olabilir. Biri bu mutasyonun birbirinden bağımsız, tekrarlayan şekilde oluşuyor olması, diğeri de kurucu bir mutasyon olup tekrar etmesidir. Tek nükleotit değişimlerinde CpG adacıkları bir mutasyonel hotspot olup, non-CpG mutasyonlarına göre tekrarlayan mutasyon oluşturmaya yatkındır. CpG mutasyonları C>T (karşı dizide G>A) dönüşümü olarak karşımıza çıkmaktadır. Homolog rekombinasyon mekanizması da sıklıkla tekrarlayan mutasyonlarla sonuçlanır(80). Çalışmamızda 26 patojenik ve muhtemel patojenik varyanttan 1 *PKD2* varyantı (c.1390C>T, (p.R464*)) 5 akrabalık olmayan probandda, 1 *PKD1* varyantı (c.11461C>T, (p.Q3821*)) 2 akraba olmayan probandda tekrar etmiştir. *PKD1* varyantı aynı köyde yaşayan probandlarda saptanmış olup ortak uzak bir atadan gelme olasılığı yüksektir ancak bunu konfirmе etmek için haplotip analizi ve daha çok örneğin çalışılmasına ihtiyaç vardır. *PKD2* varyantı ise herhangi bir spesifik bölgeden ya da etnik gruptan gelmemektedir. Bu varyant ODPBH veritabanında 12 akrabalık olmayan ailede raporlanmıştır. Bir CpG mutasyonudur. Farklı popülasyonlarda görüldüğü ve bir CpG mutasyonu olduğu için bu mutasyonun bağımsız tekrarlayan mutasyon olarak ortaya çıktığını düşündük.

Bilallelik hipomorfik *PKD1*, *PKD2* varyantları çok erken başlangıçlı polikistik böbrek hastalarında bildirilmiştir(92-94). Bu varyantlar heterozigot durumda herhangi bir fenotipe neden olmadığı için genel popülasyonda beklenenden fazla frekansta görülebilmektedir. En sık hipomorfik varyant p.(Arg3277Cys), gnomAD'de 44 allelde görülmüştür(93). Bizim çalışmamızda da 4 hastamızda birden fazla *PKD1* varyantı gözlemlendi. İlki çok erken başlangıçlı (antenatal veya 18 ayın altında) bir bebek hastada homozigot saptanan *PKD1*, c.11623G>A, (p.A3875T) VUS varyantıydı. Yenidoğan döneminde sarılık ile başvuran hastanın USG bulguları ORPBH'na benzemekteydi. Ailesinde bilinen PKBH öyküsü yoktu, anne babası 3. dereceden akraba idi. Hastamızda PKHD1 geninde herhangi bir varyant saptanmazken *PKD1*'de homozigot VUS varyant saptandı. Varyant GnomAD veritabanında sadece 1 defa heterozigot olarak gözlenmiştir (allel frekansı: 0.000009522). Herhangi bir yayında bildirilmemiştir. Farklı hipomorfik varyantların bildirildiği bir çalışmada trans pozisyonda 2'şer hipomorfik *PKD1* varyantlarının saptandığı 2 hastada, karaciğerin tutulmadığı, tipik ORPBH kliniği vardır

ancak PKHD1'de varyant saptanmamıştır(92). Başka bir çalışmada bizim hastamıza benzer şekilde ciddi renal tutulum ile birlikte duktal plate anomalilerin olduğu hastada bir hipomorfik bir patojenik varyant trans pozisyonunda saptanmıştır(94). Bir yayında 5 hastada 2'ser muhtemel hipomorfik varyant trans durumda saptanmıştır. 2'sinin anne babası arasında akrabalık olup varyantları homozigottur. Anne-babaların birinde 3 unilateral böbrek kisti bulunurken, kalan 9'unda renal USG normaldir. *PKD1*, p.(Arg3277Cys) varyantı, genetik olarak tasarlanmış bir fare mutantında azalmış fonksiyonu kanıtlanan tek hipomorfik varyanttır. Hücresel çalışmalar bu varyantın PC-1'in yanlış katlanmasına neden olarak ER'de retansiyonunun artmasına ve birkaç farklı *PKD1* varyantında gösterildiği gibi yüzey ekspresyonunun azalmasına neden olduğunu göstermiştir(93). Bizim çalışmamızda saptanan varyantın hipomorfik etkisi net olmamakla birlikte saptanan bu varyant için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir.

İkinci çok erken başlangıçlı hastamızda *PKD1* c.5476delT, (p.W1826fs*10) patojenik varyantı ve *PKD1* c.3804G>T, (p.Q1268H) VUS varyantı saptanmıştır. İki varyant da yenidir. PKBH kliniğini kesin patojenik olan ilk varyant açıklasa da, hastamızda 2 aylıkken başlayan İYE nedeniyle araştırılırken böbrek kistleri saptanmıştır. Bu çok erken başlangıçlı atipik kliniği açıklamamaktadır. Ailesinde PKBH öyküsü mevcut değildir. Patojenik varyanta ek olarak bulunabilecek hipomorfik bir varyantın çok erken başlangıçlı ODPBH yapabileceği bilinmektedir(92-94). Patojenik varyant anne-babada saptanmamıştır. 2. Varyant sağlıklı babada gözlenmiştir. Bunun hipomorfik bir varyant olabileceği göz önünde bulundurularak fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Üçüncü hastamızda *PKD2*, c.1390C>T, (p.R464*) patojenik varyantı ve *PKD1* c.12037T>C, (p.S4013P) VUS varyantı birlikte saptanmıştır. Hastamız 56 yaşında karın ağrısı, İYE, poliüri, kronik böbrek yetmezliği ile başvurmuştur ve sol böbreği hipoplazik, sağ böbreği normalden büyük ve bilateral çok sayıda kistler, karaciğerde çok sayıda kistler izlenmiştir. Aile öyküsünde annesinde, çocuklarında, abisinde PKBH öyküsü vardır. İlk patojenik varyant kliniği açıklasa da ikinci varyantın benign ya da patojenik olduğuna dair bir kanıt olmadığı için raporlanmıştır. Aile segregasyon analizi ve fonksiyonel çalışmalarla varyantın klinik önemi daha net anlaşılabilir.

Dördüncü hastamızda *PKD1* c.10631dupG, (p.L3545Sfs*82) ve *PKD1* c.9898G>A, (p.G3300R) varyantları beraber saptandı. İkinci varyant PKBH veritabanında VUS olarak sınıflandırılmıştır. CADD, mutation taster PROVEAN sırası ile olası zararlı, hasar verici ve patojenik destekleyici olarak sınıflandırmıştır. 2013'te ve

2018’de yapılan çalışmalarda muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmıştır(21, 46). Başka bir çalışmada erişkin ODPBH kohortunda saptanmıştır(94). Bir yayında ise 47 yaşındaki karaciğer, pankreas ve dalak kistlerinin eşlik ettiği bir hastada *PKD1* c.4631T>G, (p.Val1544Gly) VUS varyantı ile birlikte bildirilmiştir(91). ExAC ve GnomAD allel frekansı %0,02’dir. Clinvar’da 3 defa VUS, 1 defa MB (etkilenmemiş aile bireyinde segregasyon olması nedeniyle) olarak sınıflandırılmıştır. Varyantın sınıflandırılmasında bu kadar farklı görüşün olması, daha önce bir VUS varyant ile bildirilmiş olması hipomorfik bir varyant olabileceğini düşündürmektedir. Aile segregasyon çalışmaları ve fonksiyonel çalışmalar ile protein fonksiyonu üzerine etkisinin araştırılması gerekmektedir.

PKD1, C508R mutasyonu Qiagen varyant yorumlama platformunda, ODPBH veritabanında, Varsome ve Franklin online sistemlerinde muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmaktadır. CADD, SIFT, Polyphen, Provean ve Mutation Taster hastalık yapıcı olarak sınıflandırmaktadır. Clinvar’da bir patojenik, bir MP, bir VUS bildiri mevcuttur. Birden fazla yayında hastalarda bildirilmiştir (27, 88, 95-97). Bu varyant çalışmamızda 2 akraba olmayan hastamızda ve 7 akraba olmayan kontrolde saptandı. Bu kadar fazla kontrolde saptandığı için varyantı VUS olarak değerlendirdik. Ancak bunun nedeninin altta yatan teknik bir problem ya da örnek karışması olabileceğini düşündük. Örnek karışmasını örneklerin farklı zamanlarda çalışılması ile eleayabildik. Teknik bir problem ihtimalini dışlamak için varyantın saptandığı hastalara ve kontrollere sanger dizileme yapılması ve varyantın gerçekten bulunduğu bireylerin klinik takibi planlandı.

PKD1, P3066L varyantı 2018’de VUS olarak raporlandı. Qiagen platformu, Varsome ve Franklin 2023’te hala VUS şeklinde sonuç vermektedir. Ancak Clinvar’da 2 defa B bildirilmiştir. Bu varyant 5 hasta 7 kontrolde saptandı. PKBH veritabanında muhtemel nötral olarak, bazı yayınlarda yine MB olarak bildirilmiştir (98-100). Bizim de kontrol grubunda hasta grubundan fazla saptanması varyantın B olmasını destekler niteliktedir. Bunlara dayanarak biz de VUS’tan MB sınıflamasına geçirdik.

PKD1, c.9034A>G, (p.T3012A) VUS varyantı literatürde herhangi bir yayında geçmemektedir. GnomAD’de 4 allelde heterozigot rastlanmıştır (frekans: 0.00003274). Aynı kodonu etkileyen p.T3012M varyantı PKBH veritabanında VUS olarak geçmektedir. p.T3012P varyantı Koreli 524 ailenin olduğu bir çalışmada 2 probandda tespit edilmiştir(36). p.T3012 bölgesi memelilerde korunmuş bir bölgedir. Ancak varyantın patojenitesi için yeterince kanıt yoktur. Fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

ODPBH ön tanısı ile yönlendirilen, böbreklerinde multipl kistleri olan bir hastamızda *PKD1*, *PKD2* ya da *PKHD1* genlerinden herhangi birinde mutasyona rastlanmazken *COL4A3* geninde c.442-2A>T, heterozigot, MP mutasyonu saptandı. Hastanın aile öyküsünde babasında böbrek kistleri, babaannesinde böbrek yetmezliği, 2 kardeşinde ise konjenital işitme azlığı mevcuttu. Aileye ulaşamadığı için segregasyon yapılamadı. Bu kolajen geni Alport sendromuna neden olan 3 genden biri olup, hematüri, ilerleyici böbrek yetmezliği ve işitme kaybı ile ilişkilidir. İşitme kaybı bireyler arasında değişkenlik göstermektedir. Bir ODPBH kohortunda 2 hastada *PKD1* varyantına ek olarak *COL4A4*, c.22164+2T>G varyantı bildirilmiştir. Bu ailelerde işitme kaybı öyküsü bulunmamaktadır(32). Daha önceki bir yayında da *PKD1* geni c.4888C>T; p.Gln1630* mutasyonu ve *COL4A5* c.2605G>A; p.Glu869Arg mutasyonu bir hastada beraber bildirilmiştir. Hastada 17 yaşında böbrek yetmezliğinden dolayı nefrektomi yapılmış, PBH'ya ek olarak işitme kaybı ve ektopik böbreği mevcuttur. *PKD1* ve diğer kistik genleri (*PKD2*, *PKHD1*, *HNF1B*...) içeren poligenik kalıtımın PBH fenotipini değiştirdiği bilinmektedir. Kolajen geni varyantları da PBH fenotipi üzerinde modifiye edici bir etkiye sahip olabilir(101).

Bazı polimorfizmlerin hastalar ve kontroller arasında ilişkisine baktığımızda *PKD1*, c.2216G>A (rs40433) polimorfizminde allel frekansları hastalarda kontrollere göre anlamlı olarak yüksek **saptanmıştır (p-değeri=0,01738)**. Bu polimorfizm clinvar veritabanında benign olarak bildirilmiştir. İn silico tahmin araçlarından CADD, Polyphen, SIFT, Mutation taster, Provean'da sırası ile zararlı değil, benign, polimorfizm, benign olarak değerlendirilmiştir. 25 hastanın *PKD1* ve *PKD2* dizi analizinin incelendiği bir çalışmada klinik önemi kararsız olarak bildirilmiştir(102). 643 İtalyan hastanın araştırıldığı bir çalışmada 50 hastada saptanmış, olası etkisiz olarak değerlendirilmiştir(34). Bu polimorfizm ile ilgili fonksiyonel bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda 14 hastada, 8 kontrolde saptanmıştır. Hastalarda allel frekansının kontrollere göre yüksek olması hastalarda modifiye edici etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Daha büyük hasta gruplarında istatistiksel anlamlılığın değerlendirilmesi ve fonksiyonel çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Kısıtlılıklar: Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları vardı. Bunlardan ilki hasta sayımızın az, tek bir merkezden, etnik olarak homojen olması ve genellenememesidir. İkinci olarak YND yanında doğrulayıcı Sanger sekanslama ve negatif hastalarda MLPA yapılamaması ve segregasyon için aile üyelerine ulaşılammış olması, YND doğası gereği derin intronik ve düzenleyici bölge mutasyonlarının kaçırılması, mozaik hastaların farklı doku örnekleri

alışılamadığından kaçırılmasıdır. Üçüncü olarak 48 hastadan 5'inde sadece *PKD1* dizi analizi çalışılmış olup, bu 5 hastanın 4'ünde *PKD1*'de patojenik ya da muhtemel patojenik varyantlar saptanarak tanı konmuştur. 1 hastaya *PKD2* dizi analizi çalışılması planlanmıştır. Dördüncü olarak YND'den moleküler tanı almamış hastalarda düşük kapsam olan bölgelerin Sanger dizilimi gerekiyordu. Bu bölgelerin düşük kapsama alanı nedeniyle veya *PKD1*'e sözde gen homolojisi nedeniyle bazı hastaların saptanmamış ek, klinik olarak anlamlı varyantlar taşıması mümkündür.



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

1.Çalışmamızdaki 48 hastanın YND verileri retrospektif olarak incelendiğinde; 97 varyant saptanmış, 63'ü benign ve MB olarak sınıflandırılmış, 11 (%32,3) patojenik, 11 (%32,3) MP, 12(%35,3) VUS varyant saptanmıştır. P+MP varyantlar ile tanı oranı literatürden düşük olarak %56,25 saptanmış, ancak VUS varyantlar da eklendiğinde literatürdeki tanı oranlarına (%61-90) benzer olarak %72,9 saptanmıştır. Çalışmamızda VUS varyantların oranı literatüre göre yüksek görülmüştür. Fonksiyonel çalışmalar ile saptanan VUS varyantların klinik öneminin belirlenmesi ve klinik önemleri literatür bilgisi ile de değişebileceğinden düzenli aralıklarla takibi önerilmektedir.

2. Tanı alan hastaların %74,2'sinde *PKD1*, %25,7'sinde *PKD2* gen mutasyonu saptanmıştır. Çalışmamızda *PKD2* mutasyonu ile tanı alan hasta sayısı literatürdeki çoğu çalışmaya göre hafif yüksektir ancak bizimkine benzer saptanan çalışmalar da mevcuttur.

3. Aile öyküsü olan hastalarda tanı alma oranı aile öyküsü olmayanlara göre anlamlı bir şekilde yüksek saptanmıştır (%70-%25; p değeri:0,035). Bu bulgu literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumludur.

4. 34 P+MP+VUS varyantın 30'u (%88,3) *PKD1*'de, 4'ü (%11,7) *PKD2*'dedir. 34 mutasyon içinde sırasıyla en sık *PKD1*-missense (%38,2), *PKD1*-nonsense (%26,4) ve *PKD1*-frameshift (%17,6) mutasyonlar görülmektedir. Çalışmamızda missense mutasyonlar literatürdeki çalışmalardan hafif daha yüksektir.

5. 97 varyantın 11 tanesi yenidir. 9'u hasta, 2'si kontrol grubunda *PKD1*'de görülmüştür. 11 yeni varyantın 6'sı MP, 2'si VUS, 3'ü MB olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmamızda yeni mutasyon oranı literatüre göre düşük saptanmıştır.

6. *PKD1* geni üzerinde varyantların dağılımına baktığımızda en çok 15. ekzonda yoğunlaştığı görülmüştür. Literatürdeki çalışmalarda ve PKBH veritabanında da varyantların en çok ekzon 15'te görüldüğü bilgisi ile uyumludur.

7. Çalışmamızda 4 hastada 2'şer mutasyon saptanmıştır, 1 çok erken başlangıçlı olguda homozigot *PKD1*, c.11623G>A, (p.A3875T) VUS varyantı, bir çok erken başlangıçlı olguda *PKD1* c.5476delT, (p.W1826fs*10) patojenik varyantı ve *PKD1* c.3804G>T, (p.Q1268H) VUS varyantı, 3. Erken başlangıçlı olgumuzda, *PKD1* c.10631dupG, (p.L3545Sfs*82) patojenik ve *PKD1* c.9898G>A, (p.G3300R) VUS varyantları gözlenmiştir, 4. olguda *PKD2*, c.1390C>T, (p.R464*) patojenik varyantı ve *PKD1* c.12037T>C, (p.S4013P) VUS varyantı 56 yaşında SDBY'ye gitmesine neden olmuştur. Varyantların birleşik heterozigosite tayini yapılamamıştır, ancak biallelik

PKD1 ve/veya *PKD2* mutasyonlarının çok erken başlangıçlı, ciddi PBH ile ilişkilendirildiği literatür bilgileri ile bulgularımız uyumaktadır. Çalışmamızda bu VUS varyantların klinik önemi için fonksiyonel çalışmalar yapılması önerilmektedir.

8. Bazı polimorfizmlerin hastalar ve kontroller arasında ilişkisine baktığımızda *PKD1*, c.2216G>A (rs40433) polimorfizminde allel frekansları hastalarda kontrollere göre anlamlı olarak yüksek **saptanmıştır (p-değeri=0,01738)**. Bu polimorfizmin hastalarda modifiye edici etkisi olabileceğinden fonksiyonel çalışmalar yapılmasını önermekteyiz.

9. YND, yüksek hassasiyet, ekonomik avantaj, aynı anda diğer kistik hastalık ve modifikasyon genlerini tarayabilme özellikleri ile ODPBH taramak için en uygun yöntemdir. Ancak bu tez çalışması ODPBH’da moleküler testlerin tanısal değerini artırmak için mutasyon taramada YND’ye ek Sanger sekanslama, MLPA gibi yöntemlerin ve kesin olmayan patojenik mutasyonların fonksiyonel doğrulamasının gerekliliğini göstermektedir.

10. Çalışmamızda, literatürde olduğu gibi ODPBH’nin genetik heterojenitesi oldukça yüksektir. Çalışmamızın sonuçlarının Türk popülasyonunda ODPBH varyant spektrumunun belirlenmesinde oldukça değerli olduğunu ve Türkiye’de gelecek çalışmalarda varyant sınıflandırmasına katkısı olacağını düşünmekteyiz.

11. Bu tez çalışması Türkiye’den, ODPBH’de *PKD1* ve *PKD2* genlerindeki varyantların detaylı olarak raporlandığı ilk çalışmadır. Genetik olarak oldukça heterojen olan ODPBH’de *PKD1* ve *PKD2* genlerinin moleküler taraması kesin tanı için gereklidir. Kesin tanı hastaların prognozu hakkında klinisyeni bilgilendirir. Hastaların ek komplikasyonlar için tarama programına girmesini, tolvaptan gibi ODPBH tedavisinde onaylanan ilaçları almasını, kişileştirilmiş tedavi seçenekleri için aday olmasını, donör olmaya aday akrabaların taranmasını sağlar. Hastalara prenatal ve preimplantasyon genetik tanı seçeneğini sunar. Negatif hastaların ODPBH fenokopileri açısından ayrıntılı araştırılarak doğru tanı ve tedavi alması sağlanabilir.

KAYNAKLAR

1. Senum SR, Li YSM, Benson KA, Joli G, Olinger E, Lavu S, et al. Monoallelic IFT140 pathogenic variants are an important cause of the autosomal dominant polycystic kidney-spectrum phenotype. *Am J Hum Genet.* 2022;109(1):136-56.
2. Reiterová J, Tesař V. Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: From Pathophysiology of Cystogenesis to Advances in the Treatment. *Int J Mol Sci.* 2022;23(6).
3. Raj S, Singh RG, Das P. Mutational screening of PKD1 and PKD2 in Indian ADPKD patients identified 95 genetic variants. *Mutat Res.* 2020;821:111718.
4. Xu D, Ma Y, Gu X, Bian R, Lu Y, Xing X, et al. Novel Mutations in the PKD1 and PKD2 Genes of Chinese Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Kidney and Blood Pressure Research.* 2018;43(2):297-309.
5. Xie S, Leng X, Tao D, Zhang Y, Wang Z, Zhang X, et al. Identification of novel single-nucleotide variants altering RNA splicing of PKD1 and PKD2. *J Hum Genet.* 2022;67(1):27-34.
6. Izzi C, Dordoni C, Delbarba E, Mazza C, Savoldi G, Econimo L, et al. Lessons From the Clinic: ADPKD Genetic Test Unraveling Severe Phenotype, Intrafamilial Variability, and New, Rare Causing Genotype. *Kidney Int Rep.* 2022;7(4):895-8.
7. Cornec-Le Gall E, Alam A, Perrone RD. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *Lancet.* 2019;393(10174):919-35.
8. Torres VE, Harris PC, Pirson Y. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *Lancet.* 2007;369(9569):1287-301.
9. Stayner C, Brooke DG, Bates M, Eccles MR. Targeted Therapies for Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Curr Med Chem.* 2019;26(17):3081-102.
10. Wu G, Somlo S. Molecular genetics and mechanism of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Mol Genet Metab.* 2000;69(1):1-15.
11. Roediger R, Dieterich D, Chanumolu P, Deshpande P. Polycystic Kidney/Liver Disease. *Clin Liver Dis.* 2022;26(2):229-43.
12. van Gulick JJ, Gevers TJ, van Keimpema L, Drenth JP. Hepatic and renal manifestations in autosomal dominant polycystic kidney disease: a dichotomy of two ends of a spectrum. *Neth J Med.* 2011;69(9):367-71.
13. Pirson Y. Extrarenal manifestations of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2010;17(2):173-80.
14. Alpers DH, Lewis JH, Hunt CM, Freston JW, Torres VE, Li H, et al. Clinical Pattern of Tolvaptan-Associated Liver Injury in Trial Participants With Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD): An Analysis of Pivotal Clinical Trials. *Am J Kidney Dis.* 2022.
15. Noël N, Rieu P. [Pathophysiology, epidemiology, clinical presentation, diagnosis and treatment options for autosomal dominant polycystic kidney disease]. *Nephrol Ther.* 2015;11(4):213-25.
16. Yan Z, Wang Y, Deng W, Zhou Y, Hu Y, Qi K, et al. A single-center analysis of genotype-phenotype characteristics of Chinese patients with autosomal dominant polycystic kidney disease by targeted exome sequencing. *Front Genet.* 2022;13:934463.
17. Harris PC, Torres VE. Polycystic Kidney Disease, Autosomal Dominant. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, et al., editors. *GeneReviews(®)*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle

Copyright © 1993-2022, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.

18. Shaw C, Simms RJ, Pitcher D, Sandford R. Epidemiology of patients in England and Wales with autosomal dominant polycystic kidney disease and end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(10):1910-8.
19. Neumann HP, Jilg C, Bacher J, Nabulsi Z, Malinoc A, Hummel B, et al. Epidemiology of autosomal-dominant polycystic kidney disease: an in-depth clinical study for south-western Germany. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(6):1472-87.
20. Willey CJ, Blais JD, Hall AK, Krasa HB, Makin AJ, Czerwiec FS. Prevalence of autosomal dominant polycystic kidney disease in the European Union. *Nephrol Dial Transplant*. 2017;32(8):1356-63.
21. Lanktree MB, Haghighi A, Guiard E, Iliuta IA, Song X, Harris PC, et al. Prevalence Estimates of Polycystic Kidney and Liver Disease by Population Sequencing. *J Am Soc Nephrol*. 2018;29(10):2593-600.
22. Suwabe T, Shukoor S, Chamberlain AM, Killian JM, King BF, Edwards M, et al. Epidemiology of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease in Olmsted County. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2020;15(1):69-79.
23. Ma M. Cilia and polycystic kidney disease. *Semin Cell Dev Biol*. 2021;110:139-48.
24. Koptides M, Deltas CC. Autosomal dominant polycystic kidney disease: molecular genetics and molecular pathogenesis. *Hum Genet*. 2000;107(2):115-26.
25. Jin M, Xie Y, Chen Z, Liao Y, Li Z, Hu P, et al. System analysis of gene mutations and clinical phenotype in Chinese patients with autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Sci Rep*. 2016;6:35945.
26. Bergmann C, Guay-Woodford LM, Harris PC, Horie S, Peters DJM, Torres VE. Polycystic kidney disease. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018;4(1):50.
27. Rossetti S, Hopp K, Sikkink RA, Sundsbak JL, Lee YK, Kubly V, et al. Identification of gene mutations in autosomal dominant polycystic kidney disease through targeted resequencing. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(5):915-33.
28. Kim DY, Park JH. Genetic Mechanisms of ADPKD. *Adv Exp Med Biol*. 2016;933:13-22.
29. Kurbegovic A, Kim H, Xu H, Yu S, Cruanès J, Maser RL, et al. Novel functional complexity of polycystin-1 by GPS cleavage in vivo: role in polycystic kidney disease. *Mol Cell Biol*. 2014;34(17):3341-53.
30. Low SH, Vasanth S, Larson CH, Mukherjee S, Sharma N, Kinter MT, et al. Polycystin-1, STAT6, and P100 function in a pathway that transduces ciliary mechanosensation and is activated in polycystic kidney disease. *Dev Cell*. 2006;10(1):57-69.
31. Sutters M, Germino GG. Autosomal dominant polycystic kidney disease: molecular genetics and pathophysiology. *J Lab Clin Med*. 2003;141(2):91-101.
32. Benson KA, Murray SL, Senum SR, Elhassan E, Conlon ET, Kennedy C, et al. The genetic landscape of polycystic kidney disease in Ireland. *Eur J Hum Genet*. 2021;29(5):827-38.
33. Neumann HP, Bacher J, Nabulsi Z, Ortiz Brüchle N, Hoffmann MM, Schaeffner E, et al. Adult patients with sporadic polycystic kidney disease: the importance of screening for mutations in the PKD1 and PKD2 genes. *Int Urol Nephrol*. 2012;44(6):1753-62.
34. Carrera P, Calzavara S, Magistroni R, den Dunnen JT, Rigo F, Stenirri S, et al. Deciphering Variability of PKD1 and PKD2 in an Italian Cohort of 643 Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD). *Sci Rep*. 2016;6:30850.

35. Obeidova L, Elisakova V, Stekrova J, Reiterova J, Merta M, Tesar V, et al. Novel mutations of PKD genes in the Czech population with autosomal dominant polycystic kidney disease. *BMC Med Genet.* 2014;15:41.
36. Kim H, Park HC, Ryu H, Kim H, Lee HS, Heo J, et al. Genetic Characteristics of Korean Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease by Targeted Exome Sequencing. *Sci Rep.* 2019;9(1):16952.
37. Chapin HC, Caplan MJ. The cell biology of polycystic kidney disease. *J Cell Biol.* 2010;191(4):701-10.
38. Pei Y, Watnick T, He N, Wang K, Liang Y, Parfrey P, et al. Somatic PKD2 mutations in individual kidney and liver cysts support a "two-hit" model of cystogenesis in type 2 autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 1999;10(7):1524-9.
39. Zhang Z, Bai H, Blumenfeld J, Ramnauth AB, Barash I, Prince M, et al. Detection of PKD1 and PKD2 Somatic Variants in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Cyst Epithelial Cells by Whole-Genome Sequencing. *J Am Soc Nephrol.* 2021;32(12):3114-29.
40. Koptides M, Hadjimichael C, Koupepidou P, Pierides A, Constantinou Deltas C. Germinal and somatic mutations in the PKD2 gene of renal cysts in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet.* 1999;8(3):509-13.
41. Koptides M, Mean R, Demetriou K, Pierides A, Deltas CC. Genetic evidence for a trans-heterozygous model for cystogenesis in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet.* 2000;9(3):447-52.
42. Harris PC, Bae KT, Rossetti S, Torres VE, Grantham JJ, Chapman AB, et al. Cyst number but not the rate of cystic growth is associated with the mutated gene in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(11):3013-9.
43. Rossetti S, Harris PC. Genotype-phenotype correlations in autosomal dominant and autosomal recessive polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(5):1374-80.
44. Hwang YH, Conklin J, Chan W, Roslin NM, Liu J, He N, et al. Refining Genotype-Phenotype Correlation in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(6):1861-8.
45. Fencel F, Janda J, Bláhová K, Hříbal Z, Stekrová J, Puchmajerová A, et al. Genotype-phenotype correlation in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2009;24(5):983-9.
46. Cornec-Le Gall E, Audrézet MP, Chen JM, Hourmant M, Morin MP, Perrichot R, et al. Type of PKD1 mutation influences renal outcome in ADPKD. *J Am Soc Nephrol.* 2013;24(6):1006-13.
47. Heyer CM, Sundsbak JL, Abebe KZ, Chapman AB, Torres VE, Grantham JJ, et al. Predicted Mutation Strength of Nontruncating PKD1 Mutations Aids Genotype-Phenotype Correlations in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(9):2872-84.
48. Cornec-Le Gall E, Audrézet MP, Renaudineau E, Hourmant M, Charasse C, Michez E, et al. PKD2-Related Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: Prevalence, Clinical Presentation, Mutation Spectrum, and Prognosis. *Am J Kidney Dis.* 2017;70(4):476-85.
49. Harris PC, Rossetti S. Molecular diagnostics for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2010;6(4):197-206.
50. Saternos HC, AbouAlaiwi WA. Implications of Dysfunction of Mechanosensory Cilia in Polycystic Kidney Disease. In: Li X, editor. *Polycystic Kidney Disease.* Brisbane (AU): Codon Publications

Copyright: The Authors.; 2015.

51. Villalobos E, Criollo A, Schiattarella GG, Altamirano F, French KM, May HI, et al. Fibroblast Primary Cilia Are Required for Cardiac Fibrosis. *Circulation*. 2019;139(20):2342-57.
52. Shillingford JM, Murcia NS, Larson CH, Low SH, Hedgepeth R, Brown N, et al. The mTOR pathway is regulated by polycystin-1, and its inhibition reverses renal cystogenesis in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(14):5466-71.
53. Fedeles SV, Tian X, Gallagher AR, Mitobe M, Nishio S, Lee SH, et al. A genetic interaction network of five genes for human polycystic kidney and liver diseases defines polycystin-1 as the central determinant of cyst formation. *Nat Genet*. 2011;43(7):639-47.
54. Neves JB, Rodrigues FB, Lopes JA. Autosomal dominant polycystic kidney disease and coronary artery dissection or aneurysm: a systematic review. *Ren Fail*. 2016;38(4):493-502.
55. Pfeferman MB, Rocha DRD, Rodrigues FG, Pfeferman E, Heilberg IP. Echocardiographic Abnormalities in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD) Patients. *J Clin Med*. 2022;11(20).
56. Qian Q, Hunter LW, Li M, Marin-Padilla M, Prakash YS, Somlo S, et al. Pkd2 haploinsufficiency alters intracellular calcium regulation in vascular smooth muscle cells. *Hum Mol Genet*. 2003;12(15):1875-80.
57. Chedid M, Hanna C, Zaatari G, Mkhaimar Y, Reddy P, Rangel L, et al. Congenital Heart Disease in Adults with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Am J Nephrol*. 2022;53(4):316-24.
58. Aihara S, Yamada S, Matsusaka H, Tashiro R, Oka H, Kamimura T, et al. A case of congenital left ventricular diverticulum in a patient with autosomal dominant polycystic kidney disease: possible mechanistic link between polycystin and ventricular diverticulum. *CEN Case Rep*. 2018;7(2):237-42.
59. Cordido A, Besada-Cerecedo L, García-González MA. The Genetic and Cellular Basis of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease-A Primer for Clinicians. *Front Pediatr*. 2017;5:279.
60. Patel A, Honoré E. Polycystins and renovascular mechanosensory transduction. *Nat Rev Nephrol*. 2010;6(9):530-8.
61. Ecder T, Schrier RW. Cardiovascular abnormalities in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2009;5(4):221-8.
62. Eroglu E, Kocyigit I, Cetin M, Zararsiz G, Imamoglu H, Bayramov R, et al. Multiple urinary tract infections are associated with genotype and phenotype in adult polycystic kidney disease. *Clin Exp Nephrol*. 2019;23(10):1188-95.
63. McNicholas BA, Kotaro Y, Martin W, Sharma A, Kamath PS, Edwards ME, et al. Pancreatic Cysts and Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Pancreas*. 2019;48(5):698-705.
64. Liu D, Wang CJ, Judge DP, Halushka MK, Ni J, Habashi JP, et al. A Pkd1-Fbn1 genetic interaction implicates TGF- β signaling in the pathogenesis of vascular complications in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(1):81-91.
65. Kasap Demir B, Mutlubaş F, Soyaltın E, Alparslan C, Arya M, Alaygut D, et al. Demographic and clinical characteristics of children with autosomal dominant polycystic kidney disease: a single center experience. *Turk J Med Sci*. 2021;51(2):772-7.
66. Lavu S, Vaughan LE, Senum SR, Kline TL, Chapman AB, Perrone RD, et al. The value of genotypic and imaging information to predict functional and structural outcomes in ADPKD. *JCI Insight*. 2020;5(15).

67. Chapman AB, Devuyst O, Eckardt KU, Gansevoort RT, Harris T, Horie S, et al. Autosomal-dominant polycystic kidney disease (ADPKD): executive summary from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int.* 2015;88(1):17-27.
68. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74(12):5463-7.
69. van Dijk EL, Auger H, Jaszczyszyn Y, Thermes C. Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends Genet.* 2014;30(9):418-26.
70. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet.* 2016;17(6):333-51.
71. Renkema KY, Stokman MF, Giles RH, Knoers NV. Next-generation sequencing for research and diagnostics in kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10(8):433-44.
72. Holm IA, Yu TW, Joffe S. From Sequence Data to Returnable Results: Ethical Issues in Variant Calling and Interpretation. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2017;21(3):178-83.
73. Samorodnitsky E, Jewell BM, Hagopian R, Miya J, Wing MR, Lyon E, et al. Evaluation of Hybridization Capture Versus Amplicon-Based Methods for Whole-Exome Sequencing. *Hum Mutat.* 2015;36(9):903-14.
74. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-24.
75. Maser RL, Calvet JP, Parnell SC. The GPCR properties of polycystin-1- A new paradigm. *Front Mol Biosci.* 2022;9:1035507.
76. Xu M, Ma L, Bujalowski PJ, Qian F, Sutton RB, Oberhauser AF. Analysis of the REJ Module of Polycystin-1 Using Molecular Modeling and Force-Spectroscopy Techniques. *J Biophys.* 2013;2013:525231.
77. Bateman A, Sandford R. The PLAT domain: a new piece in the PKD1 puzzle. *Curr Biol.* 1999;9(16):R588-90.
78. Weston BS, Malhas AN, Price RG. Structure-function relationships of the extracellular domain of the autosomal dominant polycystic kidney disease-associated protein, polycystin-1. *FEBS Lett.* 2003;538(1-3):8-13.
79. Cornec-Le Gall E, Torres VE, Harris PC. Genetic Complexity of Autosomal Dominant Polycystic Kidney and Liver Diseases. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29(1):13-23.
80. Audrézet MP, Cornec-Le Gall E, Chen JM, Redon S, Quéré I, Creff J, et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: comprehensive mutation analysis of PKD1 and PKD2 in 700 unrelated patients. *Hum Mutat.* 2012;33(8):1239-50.
81. Mantovani V, Bin S, Graziano C, Capelli I, Minardi R, Aiello V, et al. Gene Panel Analysis in a Large Cohort of Patients With Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Allows the Identification of 80 Potentially Causative Novel Variants and the Characterization of a Complex Genetic Architecture in a Subset of Families. *Front Genet.* 2020;11:464.
82. Pandita S, Ramachandran V, Balakrishnan P, Rolfs A, Brandau O, Eichler S, et al. Identification of PKD1 and PKD2 gene variants in a cohort of 125 Asian Indian patients of ADPKD. *J Hum Genet.* 2019;64(5):409-19.
83. Vikrant S, Parashar A. Autosomal dominant polycystic kidney disease: Study of clinical characteristics in an Indian population. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2017;28(1):115-24.

84. Romão EA, Moysés Neto M, Teixeira SR, Muglia VF, Vieira-Neto OM, Dantas M. Renal and extrarenal manifestations of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Braz J Med Biol Res.* 2006;39(4):533-8.
85. Thong KM, Ong AC. The natural history of autosomal dominant polycystic kidney disease: 30-year experience from a single centre. *Qjm.* 2013;106(7):639-46.
86. Chen D, Ma Y, Wang X, Yu S, Li L, Dai B, et al. Clinical characteristics and disease predictors of a large Chinese cohort of patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *PLoS One.* 2014;9(3):e92232.
87. Gimpel C, Bergmann C, Mekahli D. The wind of change in the management of autosomal dominant polycystic kidney disease in childhood. *Pediatr Nephrol.* 2022;37(3):473-87.
88. Rossetti S, Consugar MB, Chapman AB, Torres VE, Guay-Woodford LM, Grantham JJ, et al. Comprehensive molecular diagnostics in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(7):2143-60.
89. Mochizuki T, Teraoka A, Akagawa H, Makabe S, Akihisa T, Sato M, et al. Mutation analyses by next-generation sequencing and multiplex ligation-dependent probe amplification in Japanese autosomal dominant polycystic kidney disease patients. *Clin Exp Nephrol.* 2019;23(8):1022-30.
90. Kinoshita M, Higashihara E, Kawano H, Higashiyama R, Koga D, Fukui T, et al. Technical Evaluation: Identification of Pathogenic Mutations in PKD1 and PKD2 in Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease by Next-Generation Sequencing and Use of a Comprehensive New Classification System. *PLoS One.* 2016;11(11):e0166288.
91. Schönauer R, Baatz S, Nemitz-Kliemchen M, Frank V, Petzold F, Sewerin S, et al. Matching clinical and genetic diagnoses in autosomal dominant polycystic kidney disease reveals novel phenocopies and potential candidate genes. *Genet Med.* 2020;22(8):1374-83.
92. Vujic M, Heyer CM, Ars E, Hopp K, Markoff A, Orndal C, et al. Incompletely penetrant PKD1 alleles mimic the renal manifestations of ARPKD. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(7):1097-102.
93. Durkie M, Chong J, Valluru MK, Harris PC, Ong ACM. Biallelic inheritance of hypomorphic PKD1 variants is highly prevalent in very early onset polycystic kidney disease. *Genet Med.* 2021;23(4):689-97.
94. Audrézet MP, Corbiere C, Lebbah S, Morinière V, Broux F, Louillet F, et al. Comprehensive PKD1 and PKD2 Mutation Analysis in Prenatal Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(3):722-9.
95. Bullich G, Domingo-Gallego A, Vargas I, Ruiz P, Lorente-Grandoso L, Furlano M, et al. A kidney-disease gene panel allows a comprehensive genetic diagnosis of cystic and glomerular inherited kidney diseases. *Kidney Int.* 2018;94(2):363-71.
96. Irazabal MV, Huston J, 3rd, Kubly V, Rossetti S, Sundsbak JL, Hogan MC, et al. Extended follow-up of unruptured intracranial aneurysms detected by presymptomatic screening in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(6):1274-85.
97. Abdelwahed M, Hilbert P, Ahmed A, Mahfoudh H, Bouomrani S, Dey M, et al. Mutational analysis in patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD): Identification of five mutations in the PKD1 gene. *Gene.* 2018;671:28-35.
98. Zhang Z, Blumenfeld J, Ramnauth A, Barash I, Zhou P, Levine D, et al. A common intronic single nucleotide variant modifies PKD1 expression level. *Clin Genet.* 2022;102(6):483-93.

99. Ali H, Al-Mulla F, Hussain N, Naim M, Asbeutah AM, AlSahow A, et al. PKD1 Duplicated regions limit clinical Utility of Whole Exome Sequencing for Genetic Diagnosis of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Sci Rep.* 2019;9(1):4141.
100. Borràs DM, Vossen R, Liem M, Buermans HPJ, Dauwerse H, van Heusden D, et al. Detecting PKD1 variants in polycystic kidney disease patients by single-molecule long-read sequencing. *Hum Mutat.* 2017;38(7):870-9.
101. Phelan PJ, Fletcher E, Carroll N, Metcalfe W, Turner AN. Simultaneous adult polycystic kidney disease and Alport syndrome. *Nephrology (Carlton).* 2016;21(8):722-3.
102. Tan YC, Blumenfeld JD, Anghel R, Donahue S, Belenkaya R, Balina M, et al. Novel method for genomic analysis of PKD1 and PKD2 mutations in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hum Mutat.* 2009;30(2):264-73.



EKLER

EK-1. Etik Kurul Kararı

