

## YÖNTEM

Çalışmada talep edilen gen panelinde bulunan genlerin kodlayıcı bölgeleri (ekzonlar) ve ekzon-intron bağlantıları NGS yöntemi kullanılarak incelenmektedir. Çalışmada tespit edilen genetik değişimlerin sınıflandırmasında ACMG kılavuzu esas alınmaktadır ancak güvenilir veritabanlarının sınıflandırma yapmış olduğu durumlarda ve merkezimizin deneyimi ışığında ACMG sınıflandırmasından bağımsız sınıflandırma yapılabilir.

## ACMG SINIFLANDIRMASI

ACMG topluluğu, *Germline* varyantların patojenik sınıflandırmasında kullanılmak üzere 2015 yılında bir kılavuz yayınlamıştır (PMID: 25741868). Nükleotid dizisindeki kalıcı değişimler için kullanılan mutant ve polimorfizm terimlerinin kullanılmaması onun yerine "varyant" teriminin kullanılması önerilmiştir. Varyantların sınıflandırılması için benin ve patojenik kriterlere göre skorlama sistemi oluşturulmuştur. Skorlama sonucunda tespit edilen varyant 5 sınıftan birine sokularak raporlanmaktadır:

**Patojenik (P):** Pathogenic (P, Class 5). Hastalık yapıcı.

**Muhtemel Patojenik (MP):** Likely Pathogenic (LP, Class 4).

**Klinik Önemi Bilinmeyen (KÖB):** Variant of Uncertain Significance (VUS, Class 3).

**Muhtemel Benin (MB):** Likely Benign (LB, Class 2).

**Benin (B):** Benign (Class 1). Hastalık yapmayan, selim.

**Skorlamada kullanılan kriterler:** Pathogenic criterion is weighted as very strong (PVS1), strong (PS1-4); moderate (PM1-6), or supporting (PP1-5) and each benign criterion is weighted as stand-alone (BA1), strong (BS1-4) or supporting (BP1-6).

Hakkında hiçbir olgu bildirimini olmadığı varyantların, klinikteki etkilerini ön görmek için tahmin yazılımlarının (*In Silico* Predictive Programs) tek başına bir varyantı benin veya patojenik sınıfa sokamayacağı özellikle vurgulanmıştır.

Merkezimizde ticari yazılımlar, ACMG kılavuzu, uluslararası veritabanları (ClinVar, Franklin, Varsome, hastalık spesifik veritabanları) ve merkez içi veritabanımız esas alınarak varyant sınıflandırması yapılmaktadır.

Daha önce sınıflandırılmış bir varyant, güncellenen bilgiler ışığında yeniden değerlendirildiğinde başka bir sınıfta yer alabilir. Bu nedenle test sonuçlarının güncel bilgiler ışığında belli aralıklarla tekrar değerlendirilmesi önerilir. Hastada tespit edilen bir varyant için, hastanın klinik bulguları ve bazen de ailedeki diğer bireylerin de incelenmesi (segregasyon analizi) ile daha doğru sonuçlar elde edilebilir. Hastanın test sonucuna yönelik genetik danışma alması önerilir.

## RAPORLAMA

Raporda tespit edilen varyantlar 3 ana başlık altında sunulmaktadır. **Sonuç** bölümünde patojenik olduğu düşünülen değişimler bildirilmektedir: P, MP. Bu değişimler hastanın başvuru kliniği ile doğrudan ilişkili olup, hasta yönetimini etkileyecek değişimlerdir. **Klinik önemi bilinmeyen** (KÖB; VUS) değişimlerin ise test sonrasında 1 yıl arayla güncel

veritabanlarından sınıflandırılmasında değişim olup olmadığı kontrol edilmelidir. **İkincil (sekonder , insidental)** varyantlar, araştırma sırasında, başvuru bulguları ile doğrudan ilişkili olmayan ancak klinik önemi olabilecek patojenik varyantları ifade eder. Sekonder varyantların raporlanması için imzalı hasta onamına ihtiyaç vardır; aksi durumda, tıbbi genetik uzmanının uygun gördüğü özel durumlar hariç, ikincil bulgular raporlanmaz. Toplumda %5'in üzerinde sıklıkla görülen varyantların benin olduğu kabul edilir ancak toplumda sık görülmesine rağmen klinik önemi olabilecek istisnai varyantların olduğu literatürde bildirmiştir (Table 1).

**Table 1.**

Gene	Variant	Classification	ACMG/AMP Criteria applied (not including BA1 or BS1)	ClinVar ID	ClinGen Allele Registry ID	Chr	Position	Ref	Alt	ExAC Source Pop	ExAC Source Pop MAF	ClinVar disease entry
ACAD9	NM_014049.4: c.-44_-41dupTAAAG	VUS	PS3_Supporting; BS2	1018	CA114709	3	128,398,490	C	CTAAG	AFR	0.1261	Deficiency of Acyl-CoA dehydrogenase family, member 9
GJB2	NM_004004.3: c.109G>A (p.Val37Ile)	Pathogenic	PS4; PP1_Strong; PM3_VeryStrong; PS3_Moderate	17023	CA172210	13	20,763,612	C	T	EAS	0.07242	Deafness, autosomal recessive
HFE	NM_000410.3: c.187C>G (p.His63Asp)	Pathogenic*	PS4	10	CA113797	6	26,091,179	C	G	NFE	0.1368	Hereditary hemochromatosis
HFE	NM_000410.3: c.845G>A (p.Cys282Tyr)	Pathogenic*	PS4; PP3	9	CA113795	6	26,093,141	G	A	NFE	0.05135	Hereditary hemochromatosis
MEFV	NM_000243.2: c.1105C>T (p.Pro369Ser)	VUS	PM3; PM5	2551	CA280114	16	3,299,586	G	A	EAS	0.07156	Familial Mediterranean fever
MEFV	NM_000243.2: c.1223G>A (p.Arg408Gln)	VUS	PM3; PM5	2552	CA280116	16	3,299,468	C	T	EAS	0.05407	Familial Mediterranean fever
FIBF1	NM_005346.2: c.1214G>A (p.Arg409Gln)	VUS	PM3; BS2	217689	CA210261	13	73,409,487	G	A	AMR	0.08838	Joubert syndrome
ACAD5	NM_000017.3: c.511C>T (p.Arg171Trp)	VUS	PS3_Moderate; PM3; PP3	3830	CA312214	12	121,173,678	C	T	FIN #	0.06589	Deficiency of butyryl-CoA dehydrogenase
BTD	NM_000060.4: c.1330G>C (p.Asp444His)	Pathogenic	PS3; PM3_Strong; PP3; PP4	1900	CA090886	3	15,686,693	G	C	FIN #	0.02398	Biotinidase deficiency

\*ACMG/AMP criteria selected does not match the classification as these variants are common low-penetrant variants and the ACMG/AMP guidelines are not designed for this variant type

# Detected at >5% MAF only in Finnish population (see text).

Genomic coordinates on build GRCh37

AFR: African/African American, EAS: East Asian, NFE: Non-Finnish European, AMR: Latino, FIN=Finnish

## LİMİTASYONLAR

Dizi analizi (sekans) yöntemi ile yapılan çalışmalar tekrar sayısı hastalıkları, kromozom bozuklukları, metilasyon ve *imprinting* durumu, UPD, düşük oranlı mozaik değişimler, kopya sayısı değişiklikleri (CNV) için tanı değeri taşımaz. Özel durumlarda tarama amaçlı kullanılabilir.

## KAYNAKLAR

- <https://seq.genomize.com.tr/>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
- <https://varsome.com/>
- <https://franklin.genoox.com/clinical-db/home>
- Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. 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 May;17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30. Epub 2015 Mar 5. PMID: 25741868; PMCID: PMC4544753.
6. Miller DT, Lee K, Chung WK, Gordon AS, Herman GE, Klein TE, Stewart DR, Amendola LM, Adelman K, Bale SJ, Gollob MH, Harrison SM, Hershberger RE, McKelvey K, Richards CS, Vlangos CN, Watson MS, Martin CL; ACMG Secondary Findings Working Group. ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med. 2021 Aug;23(8):1381-1390. doi: 10.1038/s41436-021-01172-3. Epub 2021 May 20. Erratum in: Genet Med. 2021 Aug 3;: PMID: 34012068.
  7. Miller DT, Lee K, Chung WK, Gordon AS, Herman GE, Klein TE, Stewart DR, Amendola LM, Adelman K, Bale SJ, Gollob MH, Harrison SM, Hershberger RE, McKelvey K, Richards CS, Vlangos CN, Watson MS, Martin CL; ACMG Secondary Findings Working Group. Correction to: ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med. 2021 Aug;23(8):1582-1584. doi: 10.1038/s41436-021-01278-8. Erratum for: Genet Med. 2021 Aug;23(8):1381-1390. PMID: 34345026.
  8. [https://clinicalgenome.org/site/assets/files/3460/ba1\\_exception\\_list\\_07\\_30\\_2018.pdf](https://clinicalgenome.org/site/assets/files/3460/ba1_exception_list_07_30_2018.pdf)