



Çocuklardaki Genetik Geçişli Renal Hastalıklarda Hedef Spesifik Dizayn Edilmiş Yeni Nesil Sekanslama Yönteminin Klinik Tanıdaki Öneminin Belirlenmesi

Uzm. Dr. Murat ÇETİN - Prof. Dr. H. Kibriya FİDAN - Prof. Dr. Oğuz SÖYLEMEZOĞLU

Genel Bilgiler

- Kalıtsal böbrek hastalıkları, çocuklarda kronik böbrek hastalığının önde gelen nedenlerinden biri olup artmış mortalite riski, kardiyovasküler morbidite ve büyüme bozukluğu ile ilişkilidir
- Yetişkinler ile karşılaştırıldığında, kalıtsal renal hastalıklar, çocukluk renal patolojilerinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır
- En sık gözlenen kalıtsal renal hastalıklar kistik ve glomerüler nefropatilerdir



Table 2. Summary of major genetic causes of inherited kidney diseases

Clinical diagnosis	Genomic regions or genes	Diagnostic yield
Congenital anomalies of kidney and urologic tract	1q12.1, 4p16.1-16.3, 16p11.2, 16p13.11, 17q12, 22q11.2 <i>ACE, AGT, AGTR1, BICC1, BMP4, BMP7, CDC5L, CDKN1C, CHD1L, CHD7, CHRM3, EYA1, FGFR1, FGFR2, GATA3, GDF11, GDNF, GFRA1, GLI3, GPC3, GREM1, HNF1B, HPSE2, JAG1, KAL1, NOTCH2, OFD1, PAX2, PAX8, RET, ROBO2, SALL1, SIX1, SIX5, SOX17, SOX9, UPK3A, WNT4, WT1</i>	8–20%
Cystic kidney disease		36–80%
Autosomal dominant polycystic kidney disease	<i>PKD1, PKD2, GANAB, DNAJB11</i>	
Autosomal recessive polycystic kidney disease	<i>PKHD1, DZIP1L</i>	
Nephronophthisis-related ciliopathies	<i>NPHP1-NPHP6, TMEM67, ANKS6, TTC21B, GLIS2, CEP164, INVS, MAPKB1, NEK8, CEP83, WDR19, ZNF423</i>	
Joubert syndrome	<i>INPP5E, TMEM216, CC2D2A, AHI1, CEP41, RPGRIP1L</i>	
Bardet–Biedl syndrome	<i>BBS1-BBS12, NPHP6, CEP290, MKS1, SDCCAG8, SEPT7</i>	
Senior–Løken syndrome	<i>NPHP1, NPHP4, CEP290, IQCB1, SDCCAG8, WDR19</i>	
Autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease	<i>UMOD, MUC1, REN, HNF1B, SEC61A1</i>	34–45%
Alport syndrome	<i>COL4A3, COL4A4 and COL4A5</i>	~80%
Steroid resistant nephrotic syndrome/Focal segmental glomerulosclerosis		6.3–100%
Non-syndromic	<i>PLCE1, KANK2, KANK4, TRPC6, NPHS1, NPHS2, CD2AP, MYO1E, MAGI2, XPO5, NUP85, NUP93, NUP205, NUP160, PTPRO, MP2, COQ8B, TTC21B, AVIL, INF2, ACTN4, ARHGAP24, ANLN, CRB2, ARHGDI1, FAT1, NXF5, TBC1D8B</i>	
Syndromic	<i>WT1, PAX2, EYA1, LMX1B, SMARCA1, LMNA, WDR73, SCARB2, COL4A3, COL4A4, COL4A5, ITGB4, LAMB2, MYH9, CUBN, SGPL1, PODXL, NUP107, NUP133, MT-TL1, MT-TL2, MT-TY, COQ2, COQ6</i>	

*Murray et al. ve Connaughton et al. çalışmasından modifiye edilerek hazırlanmıştır.

**Genetik
İlişkisi**

**Kompleks
Kalıtım
Paterni**

**Renal
Hastalıklar**

**Multigenik
Etyolojisi**

- ✓ Kalıtsal kronik böbrek hastalıkları riski daha yüksek olanlarda
- ✓ Ailesel ve erken başlangıçlı KBH
- ✓ Olağan dışı hastalık seyri durumlarında
- ✓ Nedeni bilinmeyen renal hastalıkların doğru teşhis edilmesinde

Genetik Tanıda Hangi Yöntemleri Kullanıyoruz?

San

- ✓ Genellikle tüm ekzom ya da tüm genom dizilemesinden daha yüksek bir dizileme kapsamına ve derinliğine sahiptir.
- ✓ Yalnızca önceden seçilmiş bir gen alt kümesini içerecek şekilde tasarlanmıştır.

NGS



Klinisyen



İmm n log

Genetikçi

Nefroloji klinik pratiğinde NGS'in başarısı için asıl kritik olan nefrologların ve klinik genetikçilerin farkındalığıdır. Multidisipliner uzman bir merkezde, genel klinik uygulamada hedef spesifik NGS kullanımı ve işbirlikçi bir yaklaşım tanı koymayı kolaylaştırır.



Çalışmanın Amacı

Amaç

Bu çalışmada etiyolojisi bilinmeyen, genetik heterojeniteye sahip renal hastalıkların tanısının belirlenmesinde ve erken tanı konulmasında Hedef Spesifik NGS'in kullanılabilirliğini ve değerini araştırdık.



Yöntem

Yöntem

- ✓ Çalışmamız retrospektif arşiv çalışması olup, Ocak 2018- Nisan 2022 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Nefroloji Bölümü'ne başvuran NGS laboratuvarında gen analizi yapılmış 225 pediatrik yaş grubu hasta dahil edilmiştir.
- ✓ Hastaların rutin kontrollerde yapılan tıbbi muayene bulguları, laboratuvar ve görüntüleme verileri, akrabalık ilişkileri, göz ve işitme muayene bulguları hasta dosyalarından geriye dönük olarak incelenmiştir.
- ✓ Hastaların ön tanıları ile uyumlu olarak istenen genetik test sonuçlarının klinik ile uyumlu olup olmadığı klinisyen tarafından değerlendirilmiştir.

Sıra No	Adı-Soyadı	GEN	FENOTİP	T.C.	Doğum Tarihi	Test Tarihi	Biyopsi	Kre Artışı / KBH
1				21226352216	6.06.2004	09.01.2018	FSGS	Evet
2		*	*	19472412280	20.07.2016	09.01.2018	FSGS	Evet
3		SLC12A3 c.1924C>T p.R642C	Gitelman syndrome	16009087416	1.01.2003	21.01.2019	Yok	Hayır
4		PKD1 c.8689G>A p.V2897I	Polycystic Kidney Disease	10255005996	6.03.2012	23.01.2019	Yok	Hayır
5		PKD2 c.1837C>T p.Q613*	Polycystic Kidney Disease	10015028142	9.09.2007	23.01.2019	Yok	Hayır

Hematüri	Proteinüri	Met. Asidoz	Met. Alkaloz	Sodyum	Potasyum	Kalsiyum	Magnezyum	Nefrolitiyazis
Hayır	Evet	Hayır	Hayır	Normal	Normal	Normal	Düşük	Hayır
Hayır	Evet	Evet	Hayır	Normal	Normal	Düşük	Normal	Hayır
Hayır	Hayır	Hayır	Evet	Normal	Düşük	Yüksek	Düşük	Hayır
Hayır	Evet	*	*	Normal	Normal	Normal	Normal	Hayır
Hayır	Evet	*	*	Normal	Normal	Normal	Normal	Hayır

Nefrokalsinozis	Renal Kist	Ekojenite Artışı	İşitme Sorunu	Görme Sorunu	Akrabalık	Ailede Böbrek Hastalığı	Ön Tanı 1	Ön Tanı 2
Hayır	Hayır	Evet	Hayır	Hayır	Yok	Hayır	Glomerüler	FSGS
Hayır	Hayır	Evet	Hayır	Hayır			Glomerüler	FSGS
Hayır	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır	Var	Hayır	Tübüler	Gitelman
Hayır	Hayır	Hayır	Evet	Hayır	Yok	Evet	Kistik	Kistik Böbrek Hast.
Hayır	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Yok	Evet	Kistik	Kistik Böbrek Hast.

GEN	KALITIM ŞEKLİ	GENOTİP	FENOTİP	DEĞERLENDİRME
*	*	*	*	*
SLC12A3 c.1924C>T p.R642C	recessive	Homozygous	Gitelman syndrome	Likely Pathogenic
PKD1 c.8689G>A p.V2897I	dominant	Heterozygous	Polycystic Kidney Disease	Uncertain Significance
PKD2 c.1837C>T p.Q613*	dominant	Heterozygous	Polycystic Kidney Disease	Pathogenic



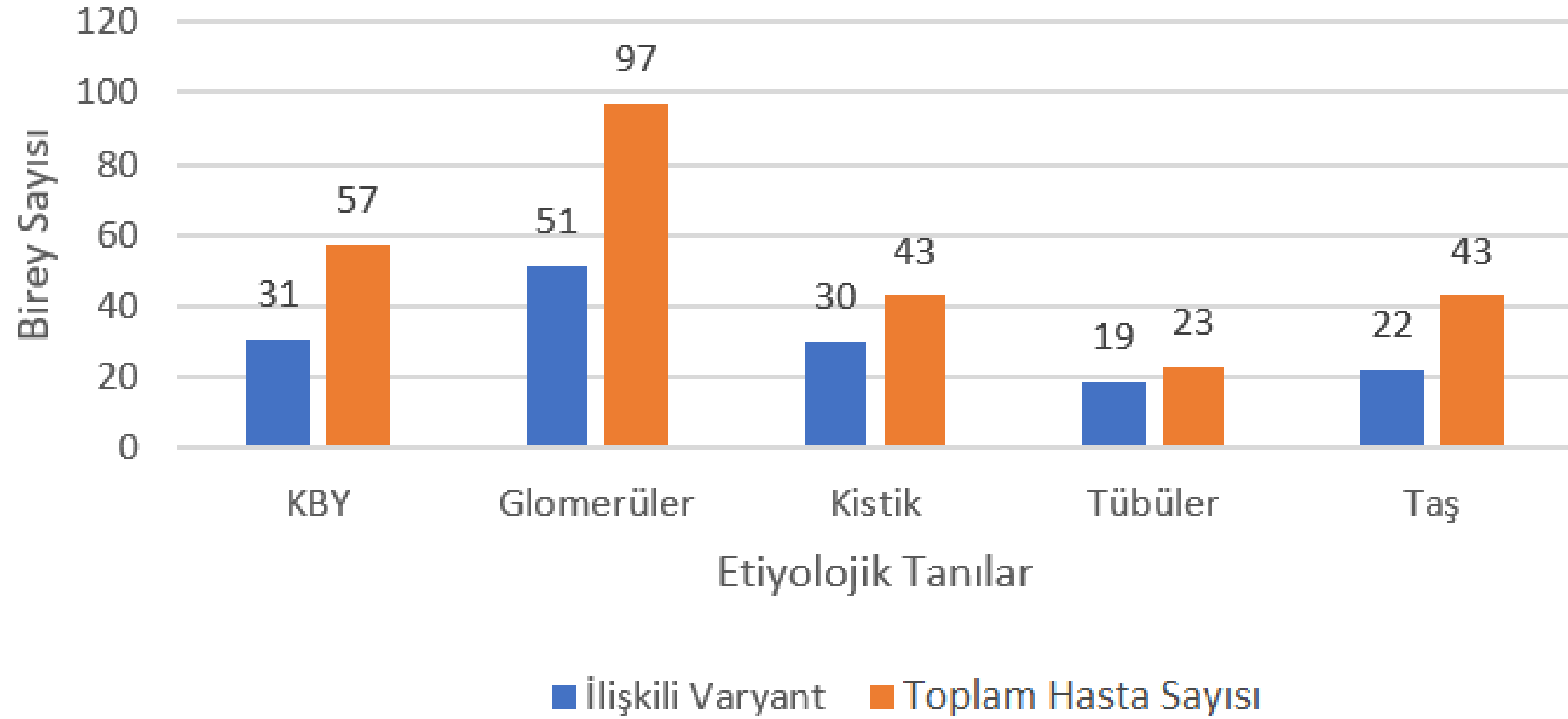
Bulgular

✓ Ocak 2018- Ekim 2022

✓ 113 kız (%50), 112 erkek (%50) olmak üzere toplam 225 hasta

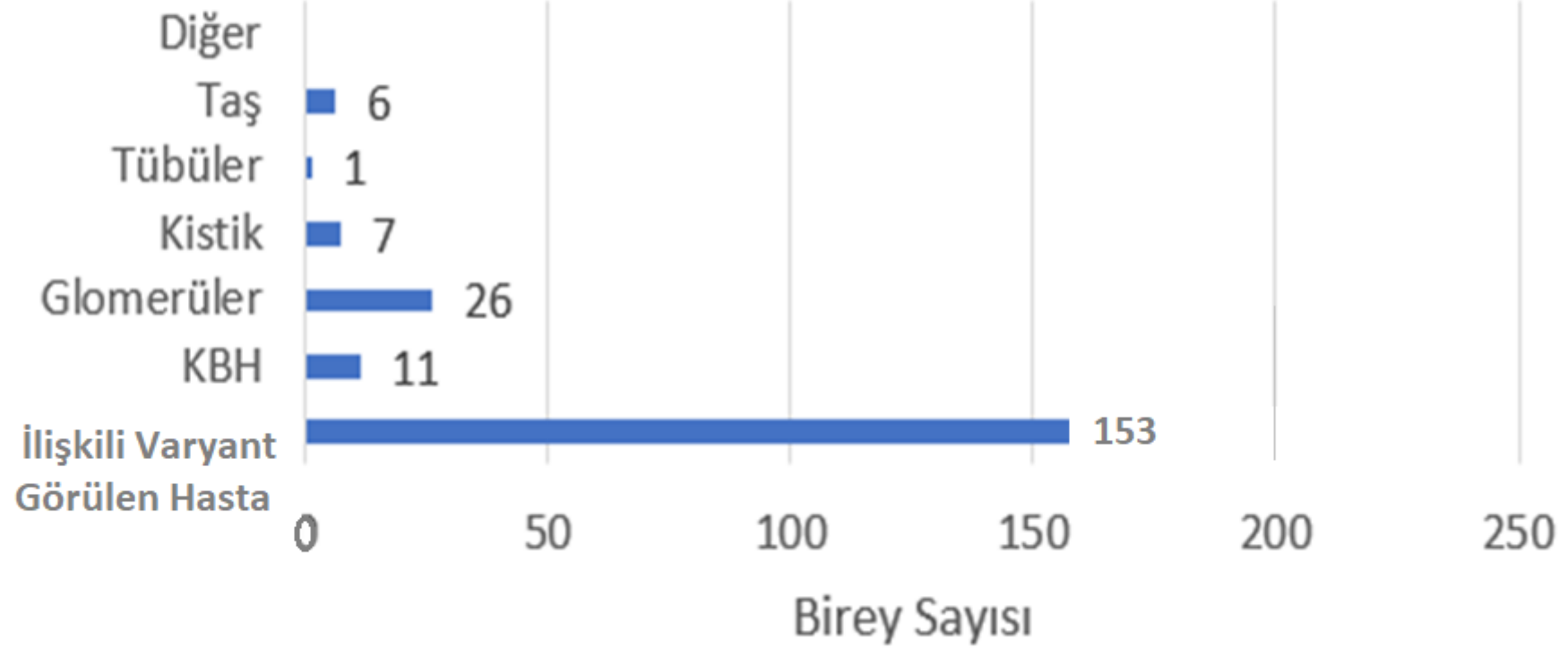
✓ Yaş ortalaması $8,63 \pm 5,55$ yıl (17 gün- 18 yıl)

Etiyolojik Tanılarıyla İlişkili Hasta Sayıları

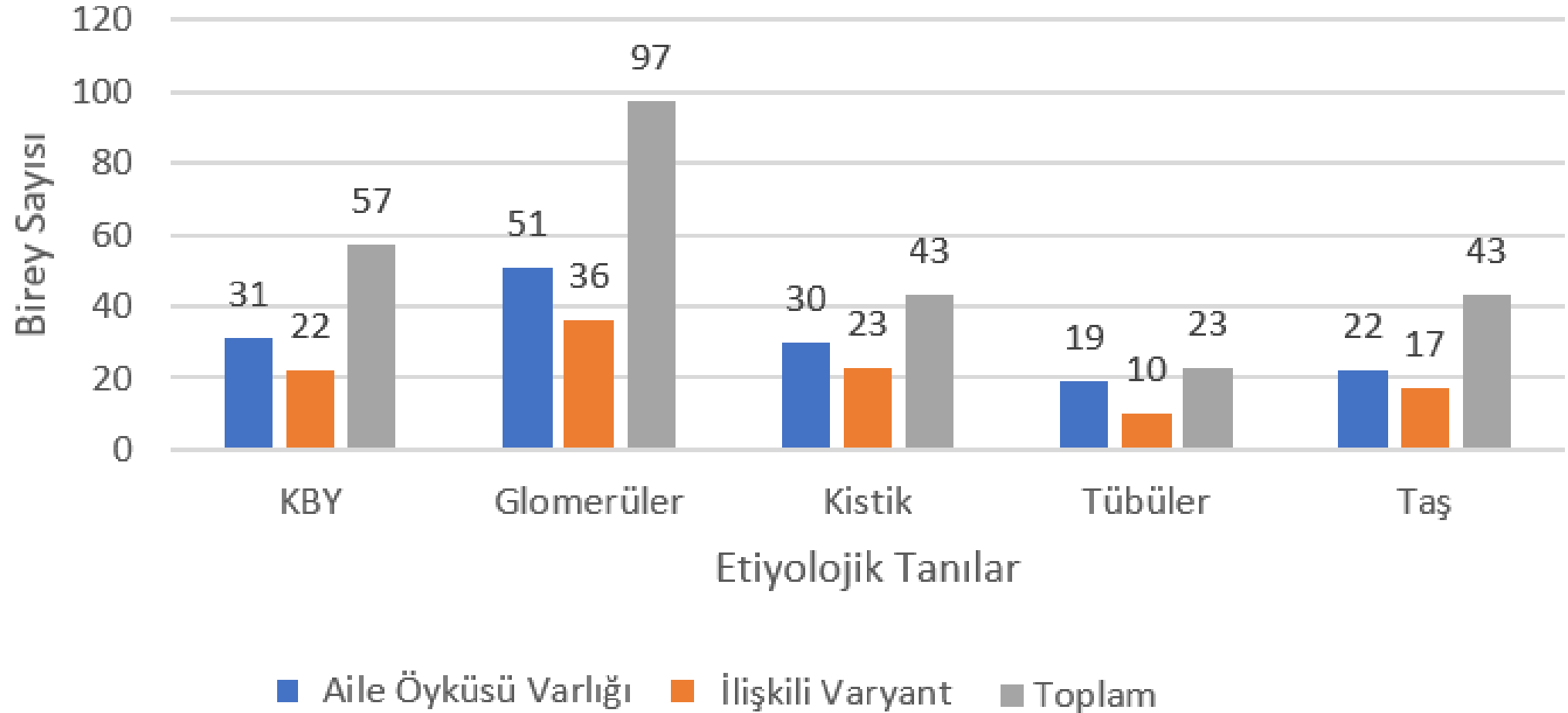


Varyant Görülmeyen Hastaların Etiyolojik Tanılara Dağılımı

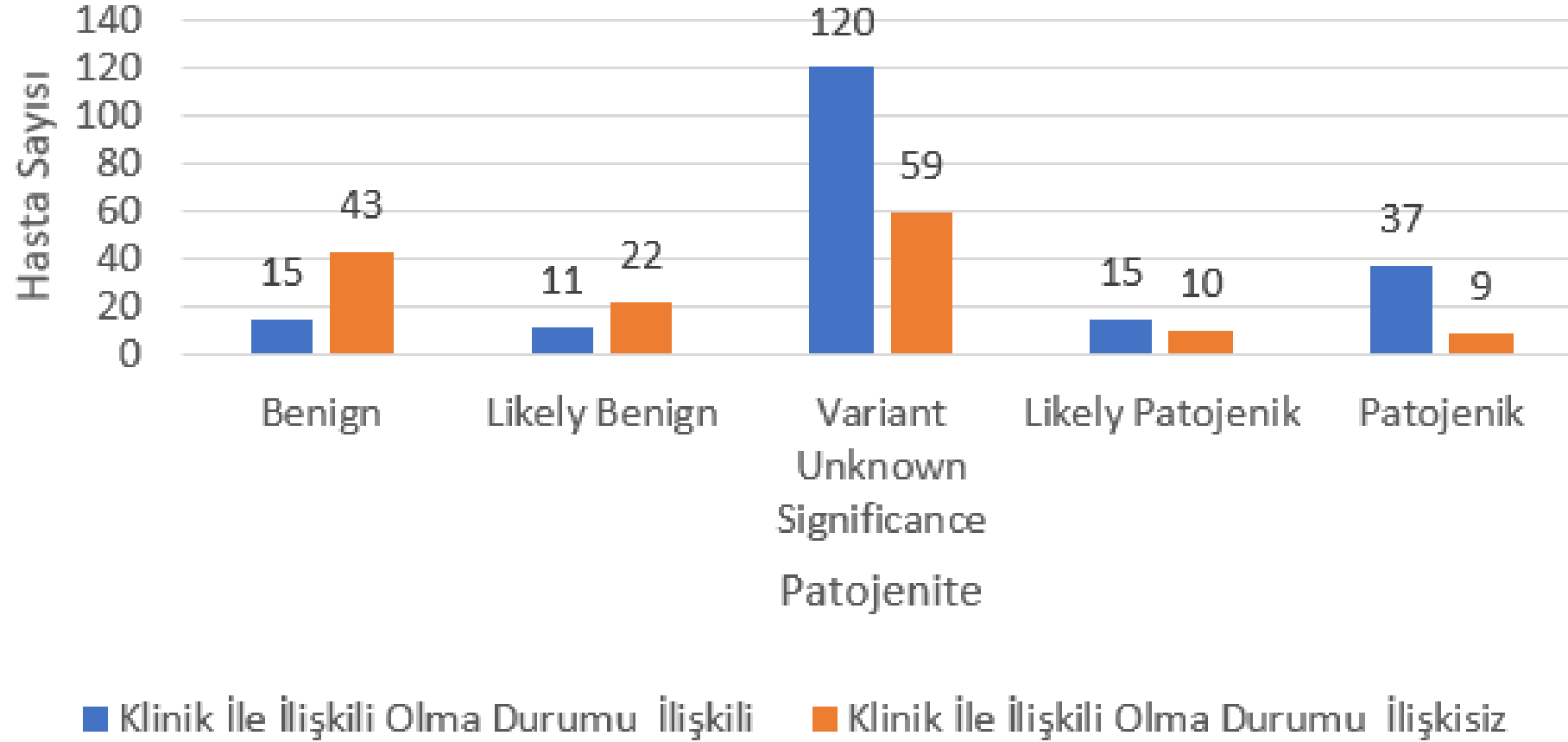
Etiyolojik Tanılar

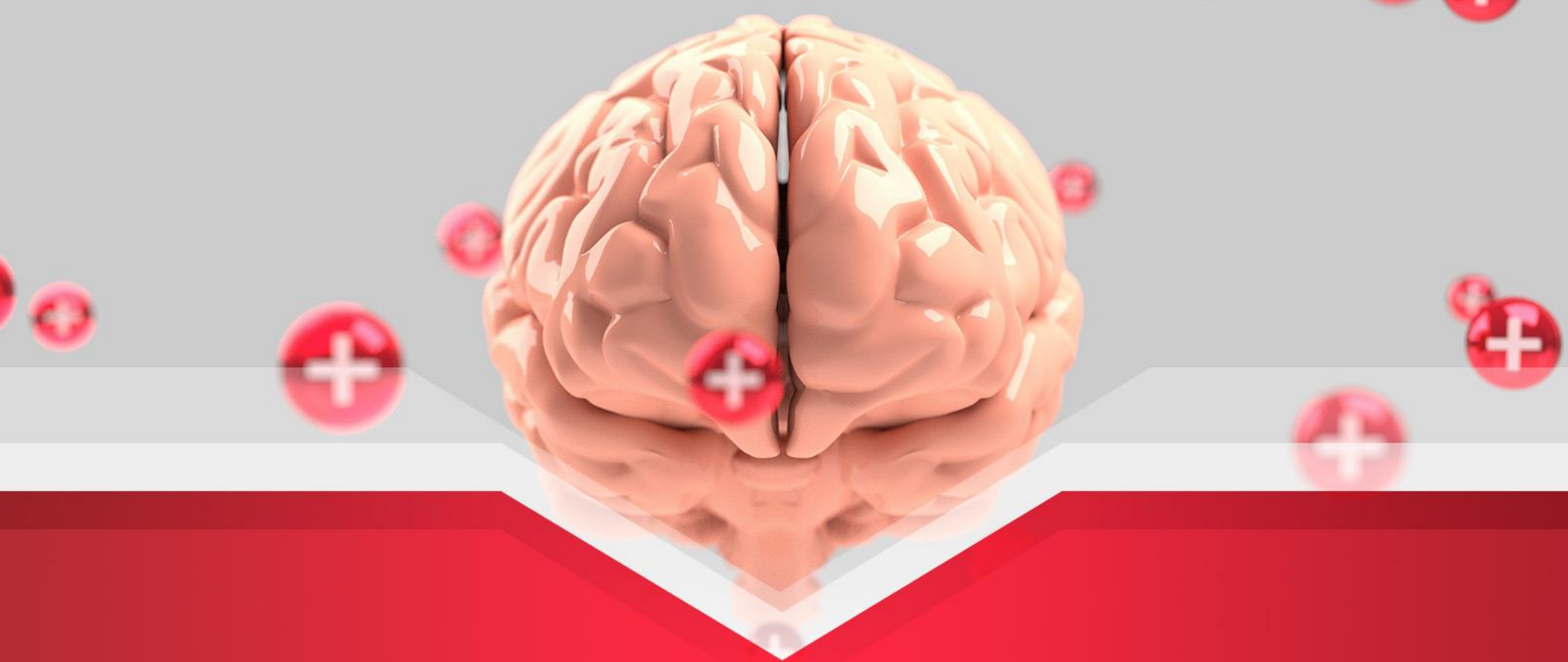


Aile Öyküsü Olan Hastalarda İlişkili Varyant Tespiti



Fenotiple İlişkili Varyantların Patojenitesi





Tartışma Ve Sonuç

KBH Çalışma Grubunda;

- ✓ 57 hastanın, 31 (%54,4)'inde klinik ilişkili mutasyon saptandı.



- ✓ Ailede renal hastalık öyküsü bulunan 31 KBH hastası baz alındığında ise, bu oran %70,9'a (n=22) kadar çıkmaktadır.

Mallett et al., 2017 yılında yaptığı çalışmada ailede renal hastalık öyküsü pozitif olan KBH hastalarında uygulanan NGS ile diyagnoz başarısı %46 olarak saptanmıştır

Glomerül Çalışma Grubunda;

- ✓ 97 hastanın 51 (%52,6) 'inde klinik ile ilişkili gen mutasyonu saptandı



- ✓ Ailesinde renal hastalık öyküsü bulunan 36 glomerül hastasının 23 (%63,8)'ünde ilişkili mutasyon saptandı

G. Bullich et al., 2018 yılında 98 glomerül hastası ile yaptığı çalışmada 61 (%62) hastada ilişkili gen mutasyonu saptadı

Renal Kist Çalışma Grubunda;

- ✓ 43 renal kist hastasının 30 (%69,8)'unda ilişkili gen mutasyonu saptanmıştır.
- ✓ Aile öyküsü bulunan 23 hastanın 17 (%73,9)'sinde ilişkili mutasyon saptanmıştır.



23 hastanın 17'sinde ailede kist (+)



17 hastanın tamamında NGS ile ilişkili mutasyon saptandı
(PKD1, PKD2, PAX2, PKHD1)

Tübüil Çalışma Grubunda;

- ✓ 23 tübüler hasta grubumuzun 19 (%82,6)'unda da ilişkili gen bulunmuştur. (1 hastada mutasyon yok)



Aile öyküsü bulunan 10 hastanın 8 (%80)'inde ilişkili mutasyon (SLCA12A3, ATP6V0A4, AVPR2, UMOD)

Ashton, Emma J. ve arkadaşlarının
2018 yılında 384 renal tübülopati
hastasının 245 (%64)'inde genetik
tanı koyulmuştur

Renal Taş Çalışma Grubunda;

- ✓ 43 renal taş hastasının 22 (%51,2)'sinde klinik ilişkili mutasyon saptandı. (6 hastada mutasyon yok)



Aile öyküsü bulunan 17 hastanın 8 (%47)'inde ilişkili mutasyon (AGXT, GRHPR, XDH, SLC7A9)

Halbritter et al., 2015; Braun et al., 2016 çalışmalarında pediatrik yaş grubu taş hastalarının %16,8-20,8'inde NGS ile ilişkili mutasyon saptanmıştır

Taş hastalarının başlangıç yaşı ne kadar erken olursa, ailesel olma ve konjenital özellik gösterme oranı o kadar yüksek olmaktadır

*(Daga et al., 2018)

Renal Biyopsi Yapılan Hastalar;

KBH Çalışma Grubunda

57 KBH hastasının 22 (%38,5)'sine renal biyopsi yapılmıştı. Renal biyopsi yapılan KBH hastalarının 4 (%18,1)'ü histopatolojik olarak normal raporlansa da, bu hastaların 3'ünde genetik olarak KBH durumunu açıklayan bir hastalık teşhisi konulmuştu.

(INF2, COL4A3, TRPC6)

Renal Biyopsi Yapılan Hastalar; Glomerül Çalışma Grubunda

- ✓ 97 glomerül hastasının 27 (%27,8)'sine renal biyopsi yapıldı.



27 hastanın, 12 (%44,4)'sinde histopatolojik olarak normal



12 hastanın 7 (%58,3)'sinde anlamlı genetik mutasyon
(COL4A4, COQ2, PLCE1, CLCN5, LAMB2, WT1, COQ8B, COL4A3)

Renal Biyopsi Yapılan Hastalar;

- ✓ Patolojisinde FSGS saptanan 1 KBH hastası ile, proteinüri ile takip edilip tanı koyulamayan 1 glomerül hastası, NGS sonucunda DNASE1 mutasyonu saptanarak Lupus Nefriti tanısı koyulmuştur.

Yao ve arkadaşlarının 2012'de yaptığı çalışmada bahsedildiği gibi, özellikle klinik prezantasyonu ve renal biyopsilerini birbirinden ayırmanın güç olduğu Alport Sendromu, MPGN ve FSGS gibi hastalıkların tanısı daha kolay ve hızlı bir şekilde NGS ile koyulabilmektedir.

Renal Transplantasyon Hastaları;

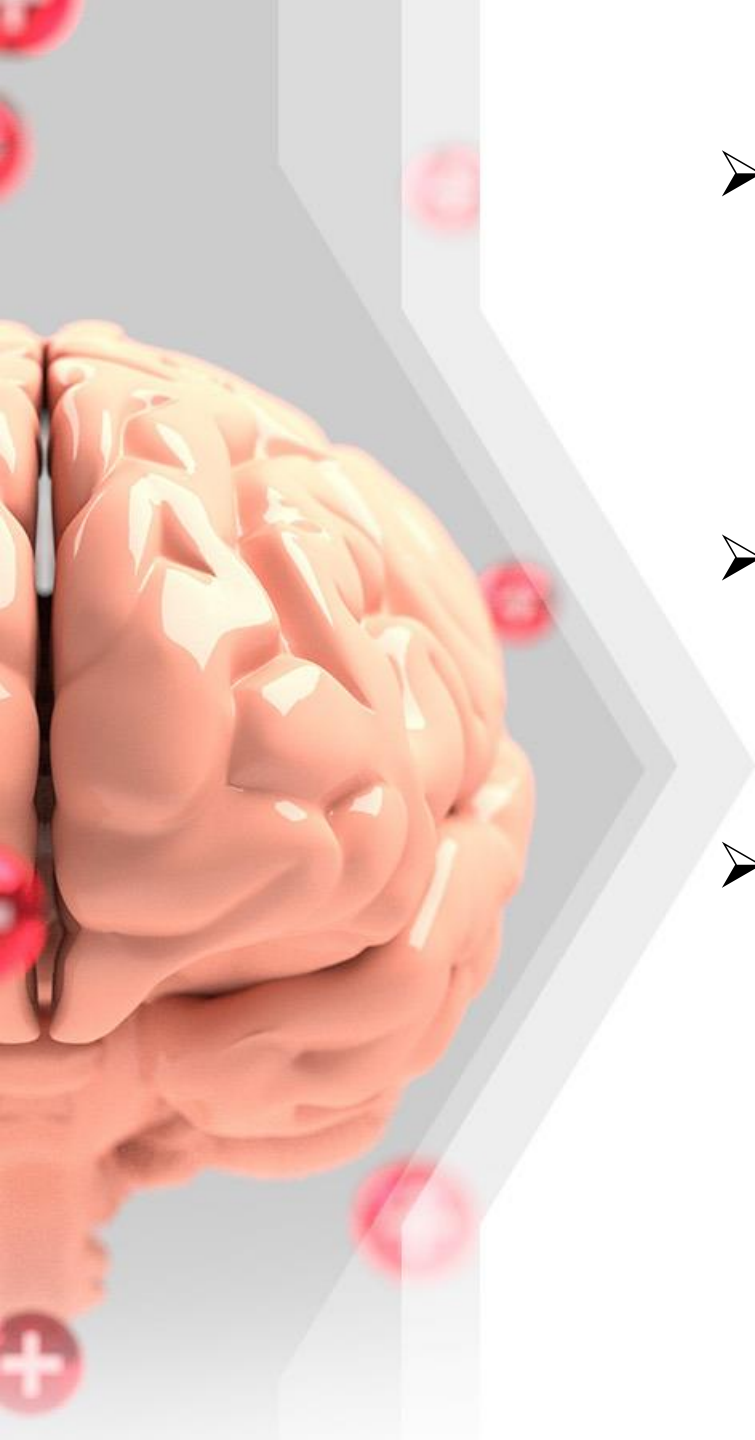
- ✓ Renal transplant yapılan 5 hastanın tamamında da NGS sonucunda ilişkili gen saptandı. (2 hasta SRNS, 2 hasta Joubert Sendromu ve 1 hasta Alport Sendromu)

Mann et al., 2019 çalışmasında 104 renal transplant yapılmış pediatrik hastanın 34'ünde (%32,7) NGS ile ilişkili mutasyon saptanmıştır

- ✓ 1 hastamızda renal transplantasyon öncesi uygun hasta - donör seçimi için NGS kullanılarak amcası donör olarak seçildi. (Anne, baba ve kardeşlerde de aynı mutasyon saptandı(COL4A5))

RESULTS





- Renal hastalığı bulunan hastaların yaklaşık %25'inde ailede renal hastalık öyküsünün pozitif olması, renal hastalıkların genetik ilişkisinin önemini açıkça vurgulamaktadır.
- Literatüre bakıldığında, 600'den fazla böbrek ile ilişkili genetik bozukluk saptanmıştır.
- Genetik test teknolojilerindeki ilerleme sayesinde hastalığın evresinden bağımsız bir şekilde moleküler tanıları koyulabilmektedir. Böylelikle genetik bu çalışmaların klinik tanı ve araştırmalarda kullanımı gittikçe artmaktadır.

*(McClellan WM et al., 2009; Rasouly HM et al.,2019)

Hedef Spesifik NGS



- Sonuçların yorumlanmasını basitleştirir.
- Yanlış negatiflikleri minimize eder.
- Daha kısa sürede, daha yüksek kapsam ve derinlikte sekanslama yapılabilir.
- İnsidental bulguların ortaya çıkmasını azaltır.
- Diğer NGS yöntemlerine göre daha ucuzdur.

Kısıtlılıklar

- Tek merkezli çalışma
- Hasta sayılarının arttırılabilir olması
- Panelde çalışılamayan genlerin oluşu
- Genetik olarak çözülmemiş tam ekzon dizinlemesinin olması





100

TÜRKİYE CUMHURİYETİ'NİN YÜZÜNCÜ YILI

Teşekkürler...