

Çocukluk Çağı Böbrek Hastalıklarında Genetik Testler: Kime, Ne Zaman?

Genetic Tests in Childhood Kidney Diseases: To Whom, When?

Eda Didem KURT ŞÜKÜR^a,
Fatih ÖZALTIN^a

^aHacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk Nefrolojisi BD,
Ankara, Türkiye

Yazışma Adresi/Correspondence:
Fatih ÖZALTIN
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk Nefrolojisi BD,
Ankara, Türkiye
fozaltin@hacettepe.edu.tr

ÖZET Çocukluk çağı kalıtsal böbrek hastalıkları geniş bir klinik yelpazede ortaya çıkar ve hastalıkların benzer fenotipik özellikleri nedeniyle ayırıcı tanıda güçlükler yaşanabilir. Genetik testler tanıya giden yolu kısaltır, invazif bir işlem olan böbrek biyopsisi ihtiyacını azaltır. Patogenezin aydınlatılması, kişiselleştirilmiş tıp uygulamaları, hastalık prognozunun öngörülmesi, genetik danışmanlık verilerek aile taraması ve gebelik planlamalarının yapılması, böbrek nakli planında uygun vericinin seçilebilmesi gibi çok önemli faydaları vardır. Sanger dizileme, çoklu paralel dizileme, hedefli gen panelleri, tüm ekzom dizileme çocuk böbrek hastalıkları tanı ve yönetiminde kullanılabilen genetik analiz tekniklerindedir. Hangi testin, kime, ne zaman yapılacağına ilişkin seçilmesi ekonomik koşullar, hekimlerin genetik tetkikler hakkında bilgi düzeyi, sonuçların yorumlanması konusunda yeterlilik gibi faktörlerden etkilenir. Genetik testlerin çocuk nefroloji pratiğindeki rolünü iyileştirmek, hekimler arasında genetik okuryazarlığı artırmak, varyant yorumlama için bilgiye ulaşımı kolaylaştırmak, rehberler oluşturulması, testlerin kâr-maliyet analizlerinin yapılması, klinik genetik uzmanları ile işbirliği, genetik alanında bilgi sahibi olan nefrologların yetiştirilmesi, elektronik platformda konsültasyon yöntemlerinin artırılması ile mümkün olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Çocuk; genetik test; ekzom; böbrek

ABSTRACT Hereditary kidney diseases may present with a wide clinical spectrum and differential diagnosis may not be so easy due to similar phenotypic features. Genetic testing shortens diagnostic odysseys and may reduce the need for kidney biopsy, which is an invasive procedure. It has very important benefits such as explaining the pathogenesis, making personalized medicine possible, predicting the prognosis, family screening and pregnancy planning by genetic counseling, and choosing the appropriate donor for kidney transplantation. Sanger sequencing, multiple parallel sequencing, targeted gene panels, whole exome sequencing are genetic analysis techniques that can be used in the diagnosis and management of pediatric kidney diseases. Choosing the most appropriate test, to whom and when are affected by economic conditions, genetic literacy of the physicians and their proficiency in interpreting results. It is possible to improve the role of genetic tests in nephrology by increasing genetic literacy among physicians, establishing guidelines, making cost-benefit analyzes of tests, cooperating with clinical geneticists, training nephrologists with having genetic knowledge, and providing electronic platforms for consultation.

Keywords: Child; genetic testing; exome; kidney

Kalıtsal böbrek hastalıkları geniş bir yelpazede bulunmakta olup fenotipik benzerlikleri (fenokopya) nedeniyle klinik olarak ayrılmaları her zaman mümkün olmayabilir. Oysa bu ayırım nefroloji pratiğinde çok önemli bir yere sahiptir çünkü hastalıklar fenotipik olarak benzer olsalar bile yönetim ve prognozları tamamen farklı olabilmektedir. Bu bağlamda genetik testler kesin tanıya giden yolu kısaltabilen yol göstericilerdir ve kesin tanı için yıllarca başvurulmuş, aynı zamanda oldukça invazif bir işlem olan böbrek biyopsisi ihtiyacını oldukça azaltmıştır. Bunun yanı sıra genetik bozukluğun tanımlanması, patogenezin anlaşılması ve buna göre bireyselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının uygulanması (kişiselleştirilmiş tıp), prognozun belirlenmesi, ge-

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:

Kurt Şükür ED, Özaltın F. Çocukluk çağı böbrek hastalıklarında genetik testler: Kime, ne zaman? Noyan ZA, editör. Çocuklarda Kalıtsal Böbrek Hastalıkları. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2023. p.1-9.

netik danışmanlık sağlanması, aile taraması yapılarak henüz semptom göstermeyen bireylerin erken dönemde tanı alması ve böbrek koruyucu yaklaşımlarla hastalığın ilerlemesinin yavaşlatılması, böbrek nakli planında uygun vericilerin belirlenmesi dahil birçok fayda sağlamaktadır.

Genetik incelemelerin önünde bir kısım engeller bulunmaktadır. Bunlar arasında hekimler arasında genetik okur yazarlığın kısıtlı oluşu, hekimlerin genetik ile ilgili tereddütleri, hangi genetik testin seçilmesi gerektiğinin bilinmeyişi, ekonomik koşullar, sonuçların yorumlanması konusundaki bilgi ve tecrübe eksiklikleri sayılabilir. Bu zorlukların aşılması ve genetik bilginin nefroloji pratiğinde kullanılabilir hale gelmesi çok önemlidir. Bu yazıda çocukluk çağı böbrek hastalıklarında kullanılabilecek genetik incelemeler için zamanlama ve seçenekler, gerekli klinik bilgi ve testten beklenebilecek klinik fayda konuları irdelenecektir.

GENETİK İNCELEME TEKNİKLERİ

Günümüzde birçok laboratuvar farklı genetik analiz teknikleri kullanmakta ve bu tekniklerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Dizileme teknolojisinde keşif sıralarına göre üç nesil altında toplanan bu tekniklerin ortak özelliği, bir genom bölgesi için çok sayıda gözlem yapıp bu gözlemleri birarada inceleyerek dizi yapısını ortaya çıkarmasıdır.

BİRİNCİ NESİL DİZİLEME:

Sanger dizileme teknolojisi, ilk kez 1977’de Frederick Sanger tarafınca tanımlanmıştır. Bu yöntem, bir genom bölgesinin polimeraz zincir tepkimesi (polymerase chain reaction-PCR) ile seçilmesi ardından kontrollü çoğaltılması esasına dayanır. Nükleotitlerin uzayan DNA zincirine eklenmesi için gerekli bazı kimyasal özelliklerinin değiştirilmesiyle çalışır. Floresan moleküller ile işaretlenmiş ve 3’ hidroksil grubu bulunmayan bu nükleotitler, DNA zincirine eklendikten sonra yeni bir nükleotitin eklenmesini durdurmakta ve her bir DNA parçası sentezin durduğu nükleotitin renginde ışımaya vermektedir. Aynı DNA kalıbından elde edilmiş farklı uzunluklardaki DNA parçaları daha sonra elektroforez ile sıralanır ve renklere göre nükleotitler okunarak DNA dizisi elde edilir. Bu yöntemle bir seferde en fazla 1500 nükleotide yakın uzunlukta bir dizi ortaya çıkarılabilir. Bu az bir miktar gibi görünse de elde edilen bilgi oldukça güvenilirdir. Bir çok ekzomun aynı anda dizilenmesine imkan veren çoklu paralel dizileme teknolojilerinin kullanıma girmesiyle Sanger yöntemi kullanımını azalmıştır. Günümüzde daha çok tek geni ilgilendiren, minimal lokus heterojenitesi (farklı loküslerdeki mutasyonlardan meydana gelen benzer fenotipler) gösteren has-

talıklarda tercih edilmektedir. Ayrıca diğer yöntemlerle saptanan varyantların teyidi için de altın standarttır. Görece maliyetli ve daha fazla zaman alıcıdır.

İKİNCİ NESİL DİZİLEME

Bu teknoloji “yeni nesil dizileme” ve “çoklu paralel dizileme” olarak da adlandırılmaktadır. Çok sayıda kısa DNA parçasının dizilenmesinin eş zamanlı olarak tek seferde yapılması esasına dayanır. Aynı anda milyonlara ulaşan sayıda dizilemeye imkan verir. Bu dizi verileri birleştirildiğinde hedef gen ile ilgili bilgi edinilir. Dizilenecek içerik belirlenirken farklı yöntemler seçilebilir. Örneğin sadece protein ve bazen de RNA dizilerini kodlayan, ekzom adı verilen bölgeler seçilirse bu dizileme yöntemine “tüm ekzom dizileme (whole exome sequencing-WES)” adı verilir. Sadece belli genetik bölgeleri içeren dizilerin seçilmesi “hedeflenmiş dizileme”, önceden bilinen, seçilmiş genleri içeren dizileme “panel dizileme” olarak adlandırılır. Intron, ekzom dahil tüm genomun dizilenmesine ise “tüm genom dizileme (whole genome sequencing-WGS)” denilmektedir. Eskiye oranla daha az olmakla beraber bu yöntemin maliyeti halen oldukça yüksektir. WES ile saptanamayan delesyon ve kopya sayısı değişiklikleri bu yöntemle yakalanabilir.

Güçlü ve zayıf özellikleri ile 1. ve 2. nesil dizileme yöntemleri Tablo 1’de karşılaştırılmıştır.

ÜÇÜNCÜ NESİL DİZİLEME

Halen geliştirilmekte olan ve çok uzun okumalar elde edilebilen yöntemlerdir. Duyarlılık ve özgüllük açısından diğer yöntemlerin gerisindedir ve bu nedenle henüz yaygın kullanılmamaktadır.

GENETİK İNCELEME ENDİKASYONLARI

Laboratuvarlar hekimlere çok farklı genetik analiz imkanları sunmaktadır. Hangi hastada, hangi endikasyonlar ile hangi testin seçileceği bilgisi önemlidir. Sanger dizileme günümüzde daha az tercih edilmekte ve genellikle tek gen hastalıklarında kullanılmaktadır. Belirli bir klinik fenotip için bilinen genleri kullanacak panellerde hedeflenmiş dizileme veya ekzom dizileme küçük varyantların (tek nükleotid değişiklikleri, insersiyon-delesyonlar-INDEL) saptanmasında faydalı olabilmektedir.

Hedeflenmiş dizileme, lokus heterojenitesi olan, fenotipleri birbirine benzeyen hastalıklarda yol göstericidir. Günümüzde birçok laboratuvar ekzom bazlı fenotip ilişkili gen panellerini tercih etmektedir, bunun nedeni gen paneli içeriğinin dinamik olabilmesi ve küçük değişikliklerle güncelleme imkanı sunmasıdır. Hastalık nedeni olabilecek yeni

TABLO 1: Birinci ve ikinci nesil dizileme yöntemlerinin karşılaştırılması.

	Birinci nesil	İkinci nesil
Küçük varyantlarda doğruluk	Yüksek	Yüksek
Okuma uzunluğu	≤1500 baz çifti	≤500 baz çifti
Bir koşumda elde edilen bilgi	Az	Çok
Kopya sayısı değişikliği saptanması	Zor	Özel yöntemlerle yapılabilir
Veri analizi	Kolay	Zor

genler saptandıkça, eldeki verinin yeniden analiz edilmesi yeterli olabilecektir. Açıklanamayan böbrek yetmezliği durumlarında hedeflenmiş dizileme yine ilk tercihtir. İkinci nesil dizileme yöntemlerinin kullanıma girişiyle birlikte yeni genlerin tanımlanma hızı artmıştır. Günlük pratikte altta yatan genetik bozuklukları bilinen steroid rezistan nefrotik sendrom (SRNS), Alport sendromu gibi hastalıklarda ilgili genleri içeren panel dizileme kullanılırken, altta yatan genetik bozukluğun bilinmediği ve mutasyonları o fenotipe neden olan yeni genlerin tanımlanmasında ise WES tercih edilmelidir.

Genomda protein kodlamayan intronik bölgeyi ilgilendiren genetik bozukluklarda veya kopya sayısı değişiklikleri için tüm genom dizilemeye ihtiyaç duyulabilmektedir. Büyük kopya sayısı değişiklikleri ikinci nesil dizileme yöntemleri ile kolay tespit edilemez; örneğin *PKDI* genindeki patojenik varyantlar ilgili gen bölgesinin karmaşıklığı nedeniyle ikinci nesil dizileme panelleriyle saptanamayabilir.^{1,2} Bu amaçla mikroçip temelli teknikler olan komparatif genomik hibridizasyon, tek nükleotit polimorfizm çipleri kullanılmaktadır. Tüm genom dizileme kodlanan ve kodlanmayan bölgelerde tek nükleotit varyasyonlarını ve INDEL'leri, *PKDI* geni gibi karmaşık gen bölgelerinde kopya sayısı değişikliklerini ve patojenik varyantları saptayabilir.³

Ancak yüksek maliyet, harcanan zaman, özellikle intronik ve diğer kodlanmayan bölgelerdeki varyantları yorumlamanın zorluğu göz önüne alındığında tüm genom dizileme günlük pratikte nadiren kullanılmaktadır (Tablo 2).

İdeal olan hem hasta çocuk hem de ebeveynlerin (trio) örneklerini çalışmaktır. Elde edilen bilgilerin değerlendirilmesi, hangi varyantların patojen, hangilerinin anlamsız olduğunun anlaşılabilmesi için de iyi bir biyoinformatik analiz gereklidir.⁵

KLİNİK BİLGİNİN ÖNEMİ

Bir genetik test sonucu değerlendirilirken tıbbi öykü çok önemlidir. Renal semptomların başlangıç zamanı, yaşı, hastalık seyri hakkında bilgi alınmalıdır. Fizik muayenede böbrek dışı bulgular not edilmelidir. Laboratuvar incelemelerde böbrek fonksiyon testleri, görüntülemeler, patoloji sonuçları önemlidir. Tüm genetik analizlerde olduğu gibi aile hikayesi, en az üç jenerasyon içerecek detaylı bir soyağacı çizimi kalıtım şekli hakkında yol gösterici olacaktır. Hastalık fenotipini İnsan Fenotip Ontolojisi (Human Phenotype Ontology- HPO) terminolojisi ile tanımlamak testleri yorumlamak ve literatüre katkıda bulunmak konularında büyük önem taşır (hpo.jax.org).⁶ Bu konuda klinik notları otomatik olarak HPO terminolojisine çevirebilecek platformlar da oluşturulmuştur.⁷

GENETİK TESTLERİN KLİNİK YANSIMALARI

Genetik analizlerin klinik yönetime katkıları arasında maliyet etkin bir şekilde kesin tanı konulması, böbrek biyopsisi gibi invazif işlemleri azaltması, var olan bir histolojik tanının gözden geçirilmesi veya hastanın tanısının değiştiği durumlar sayılabilir (biyopsi ile fokal segmental glomeruloskleroz (FSGS) tanısı bulunan ancak altta yatan nedenin aslında Alport sendromu olduğu durumlar gibi).⁸ Bir genetik tanı konulduğunda hastalığa ait olası böbrek

TABLO 2: Genetik incelemelerde kullanılan genetik analiz teknikleri.*

Sanger dizileme	Kopya sayısı değişikliği analizleri	Çoklu paralel dizileme
<ul style="list-style-type: none"> ■ PCR reaksiyonu sırasında işaretlenmiş zincir durdurucu dideoksinükleotit kullanımı ■ Elde edilen DNA dizilerinin elektroforetik ayrımı ■ İşaretlerden gelen sinyallere göre analiz 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Komparatif genomik hibridizasyon (CGH), tek nükleotit polimorfizm (SNP) çipleri ■ Büyük kopya sayısı değişikliklerini tespit eder ■ Multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu (MLPA) ■ Hem büyük hem küçük kopya sayısı değişikliklerini tespit eder ■ PCR temelli hedefli dizileme 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Hedefli dizileme ■ Hedefli gen paneli dizileme • Bir hastalık fenotipiyle ilişkilendirilmiş seçilmiş genler ■ Ekzom dizileme • Genomun kodlayıcı kısmının hedefli dizilenmesi ■ Genom dizileme • Kodlayıcı olmayan DNA bölgelerini de içerecek şekilde tüm genomun dizilenmesi

*4 numaralı kaynaktan Türkçeye çevrilerek uyarlanmıştır.

dışı bulguların araştırılması da sağlanmış olur (*HNF1B* mutasyonu gösterilmiş olgularda diabetes mellitus veya karaciğer hastalıklarının araştırılması gereği gibi).⁹ Genetik tanı ayrıca prognoz ve tedavi kararında da yol göstericidir; genetik bir nedeni saptanmış FSGS tanılı hastalarda nakil sonrası birincil hastalığın nakil böbrekte tekrarını öngörmek ya da genetik kökeni gösterilmiş SRNS hastalarında gereksiz immunosupresyondan kaçınılmasını bunlara verilebilecek örneklerdir.

Genetik tanı genetik danışmanlık hizmetlerinde de önemlidir. Bunlar arasında, aynı hastalık açısından risk altında olan aile bireylerine asemptomatik dönemde tanı imkanı, üreme ile ilgili danışmanlık hizmeti, akrabadan yapılacak böbrek nakli durumlarında (Alport sendromlu hastaların aile bireyleri gibi) verici için ileri dönemlerde gelişebilecek hastalık ihtimalinin ön görülmesi sayılabilir.

Bazı durumlarda genetik analiz sonuçlarının negatif olması da değerlidir. Buna atipik hemolitik üremik sendrom (aHÜS) hastalarında mutasyonları aHÜS'e neden olduğu bilinen genlerde mutasyon saptanmaması durumunda anti-C5 tedavinin kesilmesi örnek olarak verilebilir. Bunun yanı sıra kompleman genlerinde bir mutasyon saptanmış hastada anti-C5 tedavinin kesilmesi durumunda hastalık tekrarının olabileceği bilgisi de genetik çalışmalar sonucunda elde edilebilecek önemli bir veridir.¹⁰

GENETİK DANIŞMANLIK

Hasta çocuğa ve ebeveynlere/ vasilerine, genetik testlerin hem istenmesi hem de sonuç değerlendirilmesi aşamalarında danışmanlık verilmelidir. Testleri istemeden önce seçenekler, pozitif ve negatif yanları, beklenebilecek sonuçlar konusunda hastalar ve aileleri aydınlatılmalı ve onam alınmalıdır. Her genetik analizin sonucunda belirsiz öneme sahip bir varyant (variant of unknown significance- VUS) saptanabileceği, bu varyantı anlamlandırabilmek için ek bilgiye veya testlere gerek olabileceği, başka merkezlerle veri paylaşımı gerekebileceği ve hatta zaman içinde şu anda VUS olan bilginin anlam kazanabileceği konuları detaylı tartışılmalıdır.

Çalışılan hastalıkla ilgisi olmayan ancak başka hastalıklarla ilgili tesadüfen saptanabilecek sonuçlara da ulaşılabileceği ve bu bilginin paylaşılıp paylaşılmaması gereği etik olarak tartışılmaktadır. Hali hazırda Amerikan klinik genetik rehberleri klinik ekzom dizileme yaparken hayatı tehdit edebilecek hastalıklarla ilgili olduğu gösterilmiş, (muhtemel/kesin) patojen mutasyona sahip olduğu bilinen 73 genin rutin taranması ve hasta reddi harici durumlarda hastaya bilgi verilmesi gereğini savunmaktadır.^{11,12} Avrupa rehberleri ise klinik dizilemenin daha kısıtlı yapılmasını

savunmakta, hedefli ekzom dizileme ile olası sekonder bulguya ulaşma ihtimalini azaltmayı önermektedir.¹³ Henüz bu konuda bir uzlaşma yoktur. Avustralya'da çocuğuna genetik analiz ile kalıtsal böbrek hastalığı tanısı konulmuş 26 ebeveyn ile yapılmış bir çalışmada ailelere verilen danışmanlık konusundaki eksikler ortaya konulmuş ve iyileştirme yolları tartışılmıştır.¹⁴ Aileler ve hastalar özellikle negatif test sonucunun ne olduğu konusunda detaylı aydınlatılmalı, patojen varyant saptandığında hastalık tekrarlama riskleri, üreme danışmanlığı, diğer aile bireylerini taramanın gerekip gerekmeyeceği bilgileri paylaşılmalıdır.

Çocukluk çağı böbrek hastalıklarında genetik analiz istemine dair bir izlenim Şekil 1'de özetlenmiştir.

ÇOCUK NEFROLOJİ PRATIĞİNDE GENETİK TESTLERE SIK İHTİYAÇ DUYULAN HASTALIKLAR

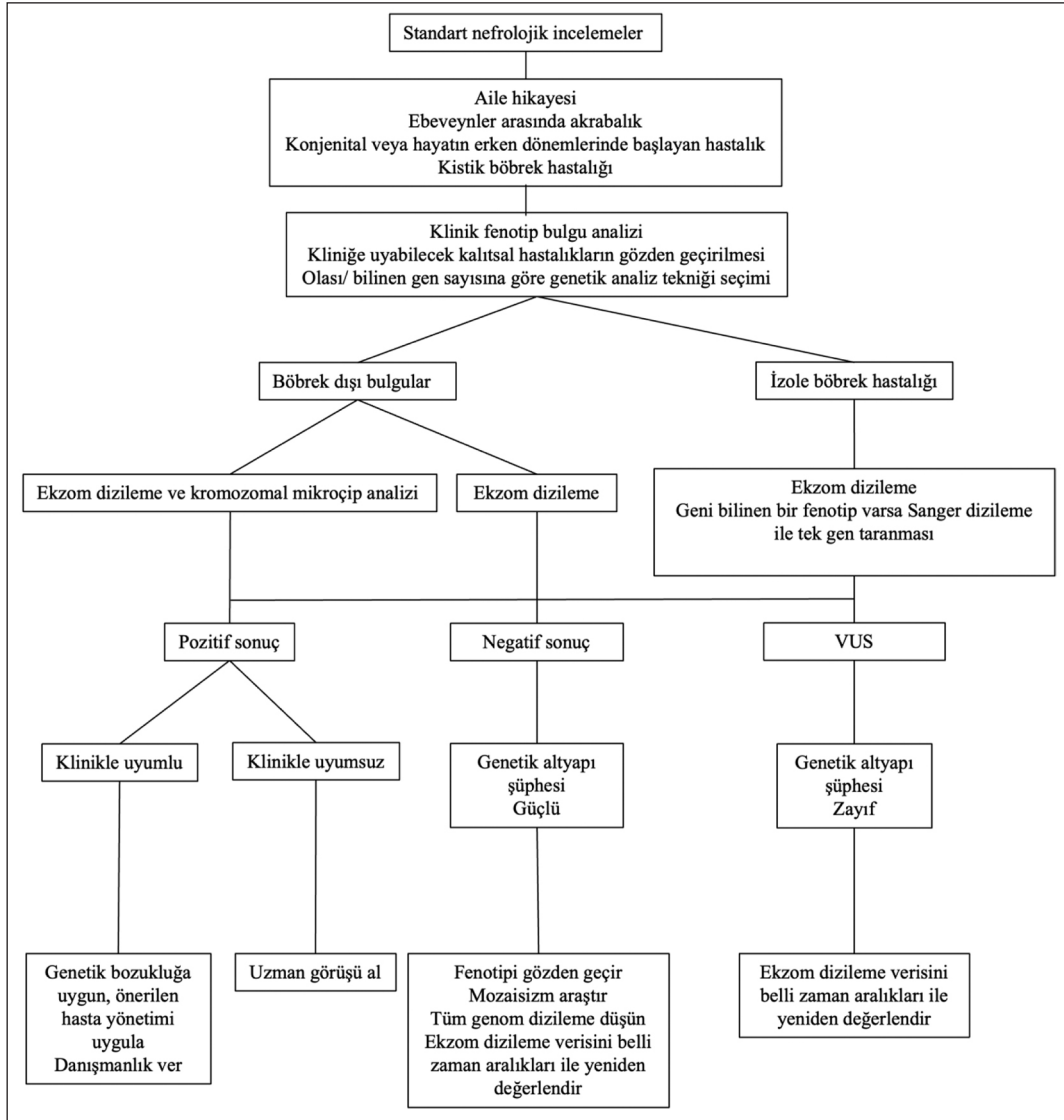
Yakın zamanda Amerika'da yapılmış bir çalışmada genetik tanı için yönlendirilmiş, böbrek hastalığına sahip çocuk hastalarda sıklık sırasıyla kistik böbrek hastalıkları (49/192), böbrek ve üriner kanalların konjenital anomalileri (Congenital anomalies of the kidney and urinary tract-CAKUT) (41/192) ve hematüri (38/192) görüldüğü belirtilmiştir.¹⁵ Bu çalışmada genetik analizin tanısal etkinliği %51 oranında bulunmuş, tanı alan hastaların %20'sinde tedavi planı etkilenmiş, %15'inde ise primer tanı değişmiştir.

GLOMERÜLER HASTALIKLAR

Glomerüler hastalıklar podosit, glomeruler bazal membran (GBM) ve fenestre endotel hücrelerini etkileyebilecek hastalıklar grubudur ve çocukluk çağı kalıtsal böbrek hastalıkları arasında en sık rastlanılan gruptur.¹⁶

Glomerulopati genlerinin çoğu podositlerde ifade edilmektedir. Slit diyaframı ilgilendiren *NPHS1*, podosit hücre iskeletini ilgilendiren *ACTN4* ve *INF2*, membran proteinlerinin bağlantısını sağlayan molekülleri kodlayan *NPHS2* ve *TRPC6* bazı örneklerdir. Ayrıca podosit farklılaşma ve fonksiyonlarında görevli elementleri kodlayan nükleer ve mitokondriyal genler, nükleer transkripsiyon faktörü, GBM yapısında yer alan tip 4 kollajen yapı proteinlerini kodlayan genler de örnek olarak verilebilir.

Pediyatrik proteinürik böbrek hastalıklarının önemli bir kısmı kalıtsaldır ve genetik neden bulma ihtimali hastanın yaşı azaldıkça artar.⁴ *NPHS1*, *NPHS2*, *LAMB2*, *WT1* genlerindeki resesif mutasyonlar konjenital SRNS olgularının %85'ini, bir yaşa dek gelişen olguların ise %66'sını oluşturmaktadır.¹⁷ Resesif genler olan *NPHS1*, *LAMB2*, *PLCE1* patojenik varyantları daha erken yaşlarda, dominant genler



ŞEKİL 1: Çocukluk çağı böbrek hastalıklarında genetik inceleme algoritması.

VUS (Variant of unknown significance): Önemi bilinmeyen varyant.

olan *ACTN4*, *TRPC6*, *INF2* patojenik varyantları ise daha ileri yaşlarda SRNS klinik tablosuna neden olur. SRNS çocukluk çağı kronik böbrek hastalıklarının ikinci en sık nedenidir ve konjenital nefrotik sendrom (KNS) olgularının tamamına yakınında, infantil nefrotik sendromların (INS) ise %57'sinde genetik bir neden gösterilmiştir.¹⁷ Ailesel olan vakalarda monogenik kalıtım olma ihtimali daha yüksektir. SRNS olgularının erken genetik tanı alması klinik yönetim açısından çok önemlidir. *WT1* mutasyonu taşıyan bir hastayı gonadoblastom gelişimi açısından takip etme gereği, koenzim Q₁₀ biosentezinde görevli enzimleri kodlayan *COQ2*, *COQ6*, *COQ8B* (eski adıyla *ADCK4*), *PDSS2* mutasyonlarında koenzim Q₁₀ tedavisinin olabilecek en

erken dönemde başlanması ve hastaların bu tedaviden fayda görebilmesi buna örneklerdir.^{18,19}

Tüm SRNS ve/veya FSGS hastalarına veya 25 yaş altı persistan proteinüri hastalara genetik analiz yapılması önerilmektedir.²⁰ KNS olgularında ilk basamak testler arasında olup, daha büyük yaş grubu SRNS hastalarında da önerilmektedir.^{21,22} Aile hikayesinde proteinüri, hematüri veya sebebi bilinmeyen kronik böbrek hastalığı (KBH) olanlarda, böbrek dışı bulguları olan hastalarda, özellikle nakil hazırlığı da söz konusu ise, genetik analiz yapılmalıdır. Yapılacak analiz KNS ve SRNS ilişkili bilinen tüm genleri içeren hedefli dizileme şeklinde planlanabilir. Eğer hastada sendromik SRNS düşündürülen bulgular varsa dü-

şünülen sendroma yönelik genlere bakıldıktan sonra mutasyon saptanamadıysa daha geniş genetik analizlere gidilebilir.²² Başlangıçta steroide yanıt veren , zaman içerisinde steroid rezistan olan olgulara genetik analiz önerilmez.⁴

GBM'ı ilgilendiren Alport sendromu ise genetik olarak oldukça heterojendir. X'e bağlı kalıtım %65 oranda, otozomal dominant (OD) %20, otozomal resesif (OR) kalıtım %15 civarında görülmektedir, digenik kalıtımı da gösterilmiştir.¹⁷ Heterojen kalıtım paterni ve *COL4A* genlerinin uzunluğu göz önüne alındığında multigen panelleri kullanarak çoklu paralel dizileme yapmak mantıklı görünmektedir. X'e bağlı kalıtımda *COL4A5* geninde tek nükleotit varyantlar, delesyon veya duplikasyonlar saptanabilir. OR ve OD tiplerinde *COL4A3* ve *A4* etkilenmiştir.^{17,23} Özellikle nakil olacak hastalarda tanıyı kesinleştirmek amaçlı genetik analiz yapılmalıdır. Ailedeki kalıtım şeklini bilmek sonraki gebelikler için genetik danışmanlık verilmesine olanak sağlar. Genetik analiz böbrek vericisi olmak isteyen kişiyi ileride hastalığa sahip olma riskine dair aydınlatma imkanı da sunar.

Genetik nedeni gösterilmiş SRNS olgularında gereksiz immunosupresif kullanımından kaçınılması, hastaları bu tedavilerin olası yan etkilerinden koruyacaktır. Kalıtsal glomerüler hastalıklarda angiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri proteinüriyi azaltabilir, böbrek fonksiyonlarını koruyabilir.²⁴ Kalıtsal olduğu bilinen glomerüler hastalıkların nakil sonrası tekrarlamadığı bilgisi de klinik yönetimde önemlidir. Özellikle akraba donör varlığında *WT1*, *COL4A3-4-5*, *NPHS2* bakılması karar mekanizmalarında rol oynayacaktır.⁴

BÖBREK VE ÜRİNER KANALLARIN KONJENİTAL ANOMALİLERİ (CAKUT)

Çocuklarda KBH'nın en sık nedenidir.⁴ Klinik prezantasyon geniş bir spektruma sahiptir, renal morfogenezin dis-regulasyonundan kaynaklanır. İzole veya sendromik vakalarda 180'den fazla gen tanımlanmıştır, daha sıklıkla OD kalıtım görülür. Kopya sayısı değişiklikleri sıklıkla eşlik eder; örneğin renal hipodisplazili hastaların %16'sında kopya sayısı değişiklikleri gösterilmiştir.²⁵ CAKUT hastalarında monogenik nedenler %10-15 oranında tanımlanmıştır.^{4,26} Bu hastalarda moleküler tanı işe yarar ancak acil değildir. Bilateral renal agenezi vakalarında mutlaka yapılmalıdır ve genetik heterojen olduğundan WES tercih edilmelidir. Diğer CAKUT fenotiplerinde genetik analiz aile hikayesi veya akrabalık durumlarında tercih edilir.

TÜBÜLER HASTALIKLAR

Çocukluk çağı tübüler hastalıklarının %64 kadari kalıtsaldır.⁴ Günümüzde 60'a yakın gen tübüler hastalıklarla iliş-

kilendirilmiştir, bu nedenle tübüler hastalıkların çoğunda genetik analiz önerilmektedir. Fanconi sendromu, Bartter sendromu, distal renal tübüler asidoz (dRTA) gibi hastalıkların genetik heterojenitesi ve hastalıkların seyri sırasında kliniklerinin değişebileceği bilindiğinden fenotiple en çok ilişkili olduğu düşünülen genleri hedefleyen bir panel dizileme yapılması önerilmektedir.⁴ Bu şekilde klinik fenokopyaların ayırt edilmesi, Gitelman fenotipindeki hastalarda *CLCNKB* veya *HNF1B* varyantlarının tespiti gibi, mümkün olacaktır.

Antenatal Bartter sendromu, tip 1 psödohipoaldosteronizm, nefrojenik diabetes insipidus, dRTA gibi, perinatal prezantasyonlu ve hayatı tehdit edici hastalıklarda, erken tanı gereklidir ve genetik analiz bu konuda faydalıdır. Ayrıca Liddle sendromu'nda amilorid kullanımında olduğu gibi hedefe yönelik tedavi verilmesine imkan verir. East sendromunda işitme kaybı taranması gibi bazı tübülöpatilerde böbrek dışı bulguların aranmasını sağlar.²⁷ Genetik incelemeler sayesinde tanı alabilmiş hastalarda büyüme gelişme geriliği, dehidratasyon atakları gibi durumların önüne geçilebilecek olması da ayrı bir avantajdır.

Kalıtsal tübüler hastalıkları olan ailelere danışmanlık verilerek sonraki gebeliklerin planlanması yapılabilir. Aile taramaları ile ve böbrek donörülüğü durumlarında hastalık taşıyıcılığı tespit edilebilir.

FABRY HASTALIĞI

Alfa galaktozidaz eksikliği ve lizozomlarda globotriaçileramid birikimi ile seyirli X'e bağlı resesif bir hastalıktır. *GLA* mutasyonuna sahip bireylerde hastalık erken çocuklukta başlar, ağır ekstremitte ağrıları, terlemede azalma, anjiokeratomlar, gastrointestinal sistem ağrıları görülebilir.²⁸ Heterozigot kızlar erkeklere oranla daha hafif kliniğe sahiptir. Tanı lökositlerde alfa galaktozidaz aktivitesi gösterilmesi ile konulur. Genetik tanı ise çoğunlukla *GLA* geninin dizilenmesi ile, çok az bir kısım hastada ise gen hedefli delesyon/duplikasyon analizi ile konulur. Erken dönemde enzim replasmanı olası komplikasyonları önler, bu nedenle erken genetik tanı önemlidir. Bir bireye tanı konunca ailenin diğer genç üyeleri de taranmalıdır. Özellikle kız hastalarda taşıyıcılığı göstermek çok önemlidir. Genetik analiz biyokimyasal olarak net tanı konmamış vakalarda kesin tanıyı sağlar, prenatal tanı imkanı verir.¹⁷

SİLİOPATİLER

Kalıtsal böbrek hastalıkları arasında hızlı gelişmelerin gözlemlendiği bir gruptur. Siliyer disfonksiyon retinal dejenerasyon, böbrek hastalığı ve serebral anomaliler ile kendini gösterebilir. Özellikle böbreği etkileyen siliyer

hastalıklar arasında polikistik böbrek hastalığı (PKBH), nefronofitizisler (Bardet-Biedl sendromu, Meckel Gruber sendromu, Joubert sendromu, retinal renal sendromlar) sayılabilir.

Otozomal Dominant PKBH

PKD1 ve *PKD2* mutasyonlarının antenatal dönemde de ortaya çıkabildiği bilinmektedir.²⁹ Ülkemizden yapılmış bir çalışmada genetik tanısı olan 48 ODPKBH olan çocuk incelenmiş ve genetik varyant tipinin renal prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir.³⁰ *GANAB*, *ALG9*, *SEC63* yeni tanımlanan ODPKBH ile ilişkili genlerdendir.³¹⁻³³ Tanı çoğunlukla *PKD1* ve *PKD2* için varyant taraması ile konulabilir de, öncelikle ikinci nesil dizileme yapılması önerilmektedir. Özellikle aile hikayesi olmayan veya ultrasonografi bulguları silik olan hastalarda, aile hikayesi olan risk altındaki çocuklarda, canlı böbrek vericisi değerlendirmesinde, prenatal veya preimplantasyon tanı amaçlı olarak genetik analiz önerilebilir. Günümüzde erişkin presemptomatik kişileri saptamak ve erken dönemde tedavisi başlamanın faydaları bilinmektedir.

Otozomal Resesif PKBH

Konjenital hepatorenal fibrokistik sendromlardandır, hastaların yarıya yakını 10 yaşa dek son dönem böbrek yetmezliğine ilerler.³⁰ Oligohidramnioza ikincil pulmoner hipoplazi gibi komplikasyonlar erken neonatal ölümlere sebep olabilir. Anne babanın klinik olarak etkilenmemiş olduğu bu vakalarda genetik analizle biallelik *PKHD1* mutasyonları saptanabilir. *DZIP1L* mutasyonları da ORPKBH ile ilişkilendirilmiştir.³⁴

Nefronofitizis

Hastaların %80-90'ında tanıyı netleştirecek böbrek dışı bulgu yoktur. Genetik analiz kesin tanıyı verir. Sonraki nesiller için tanı imkanı vermesi, gelecekte geliştirilecek tedavilerin takibi genetik analizin diğer faydalarıdır.

KOMPLEMAN SİSTEMİ HASTALIKLARI

Atipik hemolitik üremik sendrom (aHÜS), immün-kompleks membranoproliferatif glomerulonefrit (IC-MPGN), C3 glomerulopati (C3G) kompleman ilişkili hastalıklardır. Kompleman genlerinde varyantlar aHÜS olgularının

%50'sinde, IC-MPGN/ C3G hastalarının %15-20'sinde gösterilmiştir.^{4,35,36} Bu nedenle *C3*, *MCP*, *CFB*, *CFH*, *CFHR1*, *CFHR3*, *CFHR4*, *CFI*, *DGKE*, *THBD* genlerini içeren ayrıntılı bir genetik analiz önerilmektedir. Tüm genleri aynı anda analiz edebilecek ikinci nesil dizileme yapılmalıdır çünkü aHÜS'te daha sıklıkla olmak üzere kompleman genlerinde iki veya daha fazla varyant varlığının hastalığa "aditif" etkisi bildirilmiştir.^{35,37} Hem aHÜS hem de IC-MPGN/C3G için *CFH*/ *CFHR* bölgelerinde kopya sayısı değişikliğine bakmak önemlidir.³⁸⁻⁴⁰

İnfantil dönemde ortaya çıkan ailesel resesif aHUS olgularında patojen *DGKE* formları veya olası başka genetik nedenler için ekzom veya genom dizileme düşünülebilir.⁴¹ Altta yatan kompleman anomalisini bilmek hem tanı hem tedavide yol göstericidir; örneğin anti-C5 tedavi *DGKE* mutasyonlarında etkisizdir.⁴² Genetik analiz aHÜS'te tedavi kesimi sonrası rekürens, nakil sonrası rekürens konularında da yol gösterir.⁴³ ICMPGN/ C3G hastalarında da genetik analiz patogenezi ve hastalık yönetimi konularında fikir verir.^{36,44} Saptanan varyantları incelemek ve yorumlamak konusunda yol gösterici bir kompleman gen bilgi bankası da mevcuttur (www.complement-db.org).

SONUÇ

Çoklu paralel dizileme, hedefli gen panelleri ve daha az sıklıkla tüm ekzom dizilemenin çocuk böbrek hastalıkları tanı ve yönetimindeki yeri gün geçtikçe artmaktadır. Kesin tanı verme, prognozu öngörme, kişiselleştirilmiş tedavi planlama, üreme yöntemlerinin gözden geçirilmesi, prenatal veya preimplantasyon tanı alanlarında yardımcıdır. Risk altındaki aile bireylerini taramak, olası böbrek vericiliğinde risk tayini yapmak diğer faydalarıdır. Günümüzde fenotip ilişkili gen panelleri ve tüm ekzom dizileme daha sık kullanılmaktadır. Yakın gelecekte bunun yerini genom dizilemeye bırakacağı öngörülmektedir.⁴⁵

Genetik testlerin çocukluk nefroloji pratiğindeki rolünü iyileştirmek, genetik okur yazarlığı hekimler arasında artırmak, varyant yorumlama konusunda bilgiye ulaşımı kolaylaştırmak, rehberler oluşturulması, testlerin kâr-maliyet analizlerinin yapılması, klinik genetikçiler ile işbirliği, genetik alanında bilgi sahibi olan nefrologların yetiştirilmesi ve elektronik platformda destek yöntemlerinin artırılması ile mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

- Xue Y, Ankala A, Wilcox WR, Hedge MR. Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of next-generation sequencing: single-gene, gene panel, or exome/genome sequencing. *Genet Med.* 2015;17:444-51.
- 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;11;9(1):4141.
- Mallawaarachchi AC, Hort Y, Cowley MJ, McCabe MJ, Minoche A, Dinger ME, et al. Whole-genome sequencing overcomes pseudogene homology to diagnose autosomal dominant polycystic kidney disease. *Eur J Hum Genet.* 2016;24:1584-90.
- Knoers N, Antignac C, Bergmann C, Dahan K, Giglio S, Heidt L, et al. Genetic testing in the diagnosis of chronic kidney disease: recommendations for clinical practice. *Nephrol Dial Transplant.* 2022;37(2):239-54.
- Gulati A, Somlo S. Whole exome sequencing: a state-of-the-art approach for defining (and exploring!) genetic landscapes in pediatric nephrology. *Pediatr Nephrol.* 2018;33:745-61.
- Köhler S, Carmody L, Vasilevsky N, Jacobsen JOB, Danis D, Gouridine JP, et al. Expansion of the human phenotype ontology (HPO) knowledge base and resources. *Nucleic Acids Res.* 2019;47:D1018-27.
- Deisseroth CA, Birgmeier J, Bodle EE, Kohler JN, Matalon DR, Nazarenko Y, et al. ClinPhen extracts and prioritizes patient phenotypes directly from medical records to expedite genetic disease diagnosis. *GenetMed.* 2019;21:1585-93.
- Adam J, Connor TM, Wood K, Lewis D, Naik R, Gale DP, et al. Genetic testing can resolve diagnostic confusion in Alport syndrome. *Clin Kidney J.* 2014;7:197-200.
- Nagano C, Morisada N, Nozu K, Kamei K, Tanaka R, Kanda S, et al. Clinical characteristics of HNF1B related disorders in a Japanese population. *Clin Exp Nephrol.* 2019;23:1119-29.
- Fakhouri F, Fila M, Hummel A, Ribes D, Sellier-Leclerc AL, Ville S, et al. Eculizumab discontinuation in children and adults with atypical haemolytic uremic syndrome: a prospective multicentric study. *Blood.* 2021;137:2438-49.
- Kalia SS, Adelman K, Bale SJ, Chung WK, Eng C, Evans JP, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2017;19:249-55.
- Miller DT, Lee K, ChungWK, Gordon AS, Herman GE, Klein TE, et al. 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;23(8):1381-90.
- Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, et al. Guidelines for diagnostic next generation sequencing. *Eur J Hum Genet.* 2016; 24:2-5.
- Nevin SM, McLoone J, Wakefield CE, Kennedy SE, McCarthy HJ. Genetic testing in the pediatric nephrology clinic: understanding families' experiences. *J Pediatr Genet.* 2020;11(2):117-25.
- Bekheirnia N, Ginton KE, Rossetti L, Manor J, Chen W, Lamb DJ, et al. Clinical utility of genetic testing in the precision diagnosis and management of pediatric patients with kidney and urinary tract diseases. *Kidney360.* 2020;2(1):90-104.
- Schmidts M, Liebau MC. Editorial: genetic kidney diseases of childhood. *Front Pediatr.* 2018;6:409.
- Arora V, Anand K, Chander Verma I. Genetic testing in pediatric kidney disease. *Indian J Pediatr.* 2020;87(9):706-15.
- Atmaca M, Gulhan B, Korkmaz E, Inozu M, Soylemezoglu O, Candan C, et al. Follow-up results of patients with ADCK4 mutations and the efficacy of CoQ10 treatment. *Pediatr Nephrol.* 2017;32(8):1369-75.
- Korkmaz E, Lipska-Ziętkiewicz BS, Boyer O, Gribouval O, Fourrage C, Tabatabaei M, et al. ADCK4-associated glomerulopathy causes adolescence-onset FSGS. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(1):63-8.
- Lovric S, Ashraf S, Tan W, Hildebrandt F. Genetic testing in steroid-resistant nephrotic syndrome: when and how? *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31:1802-13.
- Lipska-Ziętkiewicz BS, Ozaltin F, Hölttä T, Bockenbauer D, Bérody S, Levchenko E, et al. Genetic aspects of congenital nephrotic syndrome: a consensus statement from the ERKNet-ESPN inherited glomerulopathy working group. *Eur J Hum Genet.* 2020;28:1368-78.
- Trautmann A, Vivarelli M, Samuel S, Gipson D, Sinha A, Schaefer F, et al. IPNA clinical practice recommendations for the diagnosis and management of children with steroid resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2020;35:1529-61.
- Ozdemir G, Gulhan B, Atayar E, Saygılı S, Soylemezoglu O, Ozcakar ZB, et al. COL4A3 mutation is an independent risk factor for poor prognosis in children with Alport syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2020;35(10):1941-52.
- Gross O, Licht C, Anders HJ, Hoppe B, Beck B, Tönshoff B, et al. Early angiotensin-converting enzyme inhibition in Alport syndrome delays renal failure and improves life expectancy. *Kidney Int.* 2012;81:494-501.
- Sanna-Cherchi S, Kiryluk K, Burgess KE, Bodria M, Sampson MG, Hadley D, et al. Copy-number disorders are a common cause of congenital kidney malformations. *Am J Hum Genet.* 2012;91(6):987-97.
- van der Ven AT, Vivante A, Hildebrandt F. Novel insights into the pathogenesis of monogenic congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29:36-50.
- Bockenbauer D, Feather S, Stanescu HC, Bandulik S, Zdebek AA, Reichold M, et al. Epilepsy, ataxia, sensorineural deafness, tubulopathy, and KCNJ10 mutations. *N Engl J Med.* 2009;360:1960-70.
- Germain DP, Fouilhoux A, Decramer S, Tardieu M, Pillet P, Fila M, et al. Consensus recommendations for diagnosis, management and treatment of Fabry disease in paediatric patients. *Clin Genet.* 2019;96(2):107-17.
- Arora V, Bijarnia-Mahay S, Tiwari V, Bansal S, Gupta P, Setia N, et al. Co-inheritance of pathogenic variants in PKD1 and PKD2 genes presenting as severe antenatal phenotype of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Eur J Med Genet.* 2020;63(3):103734.
- Total O, Gulhan B, Atayar E, Yuksel S, Ozcakar ZB, Soylemezoglu O, et al. The clinical and mutational spectrum of 69 Turkish children with autosomal recessive or autosomal dominant polycystic kidney disease: a multicenter retrospective cohort study. *Nephron.* 2023:1-14.
- 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.
- Besse W, Chang AR, Luo JZ, Triffo WJ, Moore BS, Gulati A, et al. ALG9 mutation carriers develop kidney and liver cysts. *J Am Soc Nephrol.* 2019;30(11):2091-102.
- Porath B, Gainullin VG, Cornec-Le Gall E, Dillinger EK, Heyer CM, Hopp K, et al. Mutations in GANAB, encoding the glucosidase IIa subunit, cause autosomal-dominant polycystic kidney and liver disease. *Am J Hum Genet.* 2016;98(6):1193-207.
- Lu H, Galeano MCR, Ott E, Kaeslin G, Kausalya PJ, Kramer C, et al. Mutations in DZIP1L, which encodes a ciliary-transition-zone protein, cause autosomal recessive polycystic kidney disease. *Nat Genet.* 2017;49(7):1025-34.

35. Iatropoulos P, Noris M, Mele C, Piras R, Valoti E, Bresin E, et al. Complement gene variants determine the risk of immunoglobulin-associated MPGN and C3 glomerulopathy and predict long-term renal outcome. *Mol Immunol*. 2016;71:131-42.
36. Ozaltın F, Li B, Rauhauser A, An SW, Soylemezoglu O, Gonul II, et al. DGKE variants cause a glomerular microangiopathy that mimics membranoproliferative GN. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24(3):377-84.
37. Bresin E, Rurali E, Caprioli J, Sanchez-Corral P, Fremeaux-Bacchi V, Rodriguez de Cordoba S, et al. Combined complement gene mutations in atypical hemolytic uremic syndrome influence clinical phenotype. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24:475-86.
38. Jozsi M, Tortajada A, Uzonyi B, Goicoechea de Jorge E, Rodríguez de Córdoba S. Factor H-related proteins determine complement-activating surfaces. *Trends Immunol*. 2015;36:374-84.
39. Valoti E, Alberti M, Tortajada A, Garcia-Fernandez J, Gastoldi S, Besso L, et al. A novel atypical hemolytic uremic syndrome-associated hybrid CFHR1/CFH gene encoding a fusion protein that antagonizes factor H-dependent complement regulation. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:209-19.
40. Gale DP, de Jorge EG, Cook HT, Martinez-Barricarte R, Hadjisavvas A, McLean AG, et al. Identification of a mutation in complement factor H-related protein 5 in patients of Cypriot origin with glomerulonephritis. *Lancet*. 2010;376:794-801.
41. Mele C, Lemaire M, Iatropoulos P, Piras R, Bresin E, Bettoni S, et al. Characterization of a new DGKE intronic mutation in genetically unsolved cases of familial atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10:1011-9.
42. Brocklebank V, Kumar G, Howie AJ, Chandar J, Milford DV, Craze J, et al. Long-term outcomes and response to treatment in diacylglycerol kinase epsilon nephropathy. *Kidney Int*. 2020;97:1260-74.
43. Noris M, Remuzzi G. Managing and preventing atypical hemolytic uremic syndrome recurrence after kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2013;22:704-12.
44. Iatropoulos P, Daina E, Curreri M, Piras R, Valoti E, Mele C et al. Cluster analysis identifies distinct pathogenetic patterns in C3 glomerulopathies/immune complex-mediated membranoproliferative GN. *J Am Soc Nephrol*. 2018;29:283-94.
45. Lionel AC, Costain G, Monfared N, Walker S, Reuter MS, Hosseini SM, et al. Improved diagnostic yield compared with targeted gene sequencing panels suggests a role for whole-genome sequencing as a first-tier genetic test. *Genet Med*. 2018;20:435-43.