

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇOCUKLARDAKİ GENETİK GEÇİŞLİ RENAL
HASTALIKLARDA HEDEF SPESİFİK DİZAYN
EDİLMİŞ YENİ NESİL SEKANSLAMA YÖNTEMİNİN
KLİNİK TANIDAKİ ÖNEMİNİN BELİRLENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. MURAT ÇETİN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. H. KİBRİYA FİDAN

ANKARA

OCAK 2023

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇOCUKLARDAKİ GENETİK GEÇİŞLİ RENAL
HASTALIKLARDA HEDEF SPESİFİK DİZAYN
EDİLMİŞ YENİ NESİL SEKANSLAMA YÖNTEMİNİN
KLİNİK TANIDAKİ ÖNEMİNİN BELİRLENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. MURAT ÇETİN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. H. KİBRİYA FİDAN

ANKARA

OCAK 2023

KABUL VE ONAY

Gazi Üniversitesi Tıp
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	
Baba Adı	
Doğum Yeri/Tarihi	
Diploma Tarihi/Diploma No	
Mezun olduğu Fakülte	Sağlık
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Çocuk
İhtisas Süresi	
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi
Sınav Tarihi	

UZMALIK TEZİNİN ADI : Çocuklardaki Genetik Geçişli Renal Hastalıklarda Spesifik Dizayn Edilmiş Yeni Nesil Sekanslama Belirlenmesi

JÜRİ KARARI : Anabilim Dalımız A
“Çocuklardaki Genetik Geçişli Renal Hastalıklarda Sekanslama Yönteminin Klinik Tanıdaki Önemi bulunmuştur ve uzmanlık sınavına girmeye hak

JÜRİ ÜYELERİ

BAKIR

ÖNSÖZ

Tıpta uzmanlık eğitimim boyunca bana katkılarını esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Aysun BİDECI'ye,

Tez çalışmamın yürütülmesinde bana yol gösterici olan, yoğun çalışma temposu içerisinde bana değerli vaktini ayıran, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Oğuz SÖYLEMEZOĞLU'na ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. H. Kibriya FİDAN'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde büyük emeği olan, bilgi ve tecrübelerini ilmek ilmek işleyen, birlikte çalışmaktan büyük onur duyduğum tüm Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarıma,

Bu yoğun ve zorlu süreçte hep bir arada olduğumuz, birbirimizi motive ettiğimiz, bana her zaman destek olan tüm uzman ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum kliniğimizdeki diğer değerli hemşire arkadaşlarıma, tüm Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı çalışanlarına ve personeline,

Yaşamım boyunca her zaman beni destekleyen, zor günlerimde hep yanımda olan, emeğini asla ödeyemeyeceğim, beni sevgi ile büyütüp yetiştiren canım aileme,

Çocukluğumdan bu yana elini üzerimden hiç eksik etmeyen, zor zamanlarımda ayakta durmamı sağlayan, her zaman arkamda bir destek olarak bulduğum biricik ablalarıma,

Sonsuz Teşekkürler...

Dr. Murat ÇETİN

ANKARA 2023

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
KISALTMALAR.....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KALITSAL (HEREDİTER) HASTALIKLAR.....	3
2.1.1. Mendeliyen hastalıklar	3
2.1.2. Kromozomal Hastalıklar	3
2.1.3. Atipik Kalıtım Paterni Gösteren Hastalıklar	3
2.2. TEK GEN HASTALIKLARININ AKTARILMA BİÇİMLERİ	4
2.2.1. Otozomal Dominant Kalıtım Gösteren Hastalıklar.....	4
2.2.2. Otozomal Resesif Kalıtım Gösteren Hastalıklar	4
2.2.3. X'e Bağlı Otozomal Dominant Kalıtım Gösteren Hastalıklar	5
2.2.4. X'e Bağlı Otozomal Resesif Kalıtım Gösteren Hastalıklar	6
2.3. GENETİK GEÇİŞLİ RENAL HASTALIKLAR	7
2.3.1. NEFROGENEZ GENETİĞİ.....	8
2.3.2. HEREDİTER NEFRİTLER.....	12
2.3.3. KİSTİK RENAL HASTALIKLAR	17
2.3.4. KALITSAL TÜBÜLER HASTALIKLAR.....	23
2.3.5. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI.....	28

2.4. GENETİK GEÇİŞLİ RENAL HASTALIKLARDA MOLEKÜLER TANI TESTLERİ.....	30
2.4.1. Sanger Sekanslama Yöntemi	31
2.4.2. Tek Nükleotid Polimorfizmi Sekanslama Yöntemi	32
2.4.3. Yeni Nesil Sekanslama Yöntemi (NGS).....	32
2.5. YENİ NESİL SEKANSLAMA YÖNTEMİNİN GENETİK GEÇİŞLİ RENAL HASTALIK TANISINDA KULLANIMI.....	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Hastaların Seçilmesi	37
3.2. Kullanılan Yöntemler	40
3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi	41
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇLAR.....	76
7. KAYNAKLAR.....	81
8. ÖZET	89
9. SUMMARY.....	91
10. EKLER.....	93
11. ÖZGEÇMİŞ	95

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Böbreğin embriyolojik gelişim şeması	10
Tablo 2. Genetik geçişli renal hastalıkların sınıflandırılması.....	11
Tablo 3. Alport Sendromu moleküler genetiği.....	14
Tablo 4. Renal tübüler asidozların sınıflandırılması	27
Tablo 5. Renal tübüler asidoz genetiği.....	27
Tablo 6. KBH KDIGO 2012 tanı kriterleri	28
Tablo 7. KDIGO 2012 GFR sınıflandırmasına göre KBH evrelemesi	28
Tablo 8. Genetik geçişli renal hastalıklara sebep olan major genler.....	29
Tablo 9. Renal panelde çalışılan genler ve hastalık ilişkisi.....	41
Tablo 10. Birden fazla etiyolojik özellik gösteren hastaların dağılımları	47
Tablo 11. Hastaların başvuru bulguları	49
Tablo 12. Hastalık gruplarının akrabalık ve ailede renal hastalık ilişkisi	50
Tablo 13. İdrar mikroskopik bulgularına göre Alport ilişkili gen dağılımı.....	58
Tablo 14. Alport ilişkili gen mutasyonu saptanan hastaların işitme ve görme bulguları.....	58
Tablo 15. Renal kist ve taş hastalarının idrar mikroskopik bulguları dağılımı	59

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Otozomal dominant kalıtım.....	5
Şekil 2. Otozomal resesif kalıtım.....	5
Şekil 3. X'e bağlı dominant kalıtım.....	7
Şekil 4. X'e bağlı resesif kalıtım.....	7
Şekil 5. Renal sistemin embriyogenezi	11
Şekil 6. Alport Sendromu Patofizyolojisi.....	12
Şekil 7. Alport Sendromu olan hastanın elektron mikroskopi görüntüleri.....	13
Şekil 8. Nail Patella Sendromunda displazi	15
Şekil 9. Makroskopik olarak polikistik böbrek hastalığı.....	18
Şekil 10. ORPBH makroskopik görünümü	19
Şekil 11. Joubert Sendromu.....	23
Şekil 12. Bartter Sendromundaki tuz reabsorbsiyonundaki bozukluk	24
Şekil 13. Gittelman Sendromunda SLC12A3 geninin kodladığı Na/Cl kanalındaki mutasyon	25
Şekil 14. Tek nükleotit polimorfizmi örneği.	32
Şekil 15. Hastaların Cinsiyete Göre Dağılımları.....	44
Şekil 16. Hastaların Yaşa Göre Dağılımları	45
Şekil 17. Hastaların Cinsiyete Göre Yaş Dağılımları.....	45
Şekil 18. Hastaların Etiyolojik Tanılara Göre Dağılımları	46

Şekil 19. Etiyolojik Tanılara Göre Cinsiyet Dağılımları.....	48
Şekil 20. Hastaların Tanı Koyulma Süreleri	51
Şekil 21. Hastalık ile İlişkili Gen Saptanma Dağılımları	52
Şekil 22. Mutasyon Saptanmayan Hastaların Dağılımları.....	52
Şekil 23. Ailede Renal Hastalık Öyküsü Bulunan Hastaların İlişkili Gen Saptanma Durumları	54
Şekil 24. Akrabalık Bulunan Hastaların Mutasyon Saptanma Durumları	55
Şekil 25. Fenotiple İlişkili Varyantların Patojenitesinin Klinik ile İlişki Durumuna Göre Dağılımı.....	57
Şekil 26. KBH Hastalarında Sık Tekrar Eden Genler	60

KISALTMALAR

KBH : Kronik böbrek hastalığı

CAKUT : Konjenital böbrek ve üriner sistem anomalileri (Congenital anomalies of kidney and urinary tract)

NGS : Yeni nesil sekanslama (Next generation sequencing)

O.D : Otozomal Dominant

O.R : Otozomal Resesif

GDNF : Glial cell line-derived neurotropic factor

WT1 : Wilms' tumor transcription factor

GREM1 : Gremlin1 geni

BMP4 : Bone Morphogenetic Protein 4

FOXC1 : Forkhead box protein C1

SLIT2 : Slit homologue 2

ROBO2 : Roundabout homologue2

PAX2 : Paired box protein 2

WNT11 : Wingless type MMTV integration site family member 11

FGF10 : Fibroblast growth factor 10

VEGF : Vascular endothelial growth factor

PDGF	: Platelet derived growth factor
LMX1B	: LIM homebox transcriptional factor 1B
ESRRG	: Encoding the nuclear steroid hormone receptor
PKD1-2	: Polycystic kidney disease 1 ve 2
UMOD	: Uromodulin
HNF1-B	: Hepatocyte nuclear factor-1B
RTK	: Tirozin kinaz reseptörü
MCKD 1-2	: Medullary cystic kidney disease type 1-2
SDBY	: Son dönem böbrek yetmezliği
FSGS	: Fokal segmental glomerüloskleroz
ODPBH	: Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı
ORPBH	: Otozomal resesif polikistik böbrek hastalığı
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
NGS	: Yeni nesil sekanslama yöntemi
WGS	: Tüm Genom Sekanslama (Whole Genome Sequencing)
WES	: Tüm Ekzon Sekanslama (Whole Exome Sequencing)
MPGN	: Mezengial proliferatif glomerülonefrit

SRNS : Steroid dirençli nefrotik sendrom

Na⁺ : Sodyum

HCO₃⁻ : Bikarbonat

VUS : Variant of uncertain significance (Önemi belirsiz varyant)

ACE : Anjiyotensin dönüştürücü enzim

RTA : Renal tübüler asidoz

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalıtsal böbrek hastalıkları, çocuklarda kronik böbrek hastalıklarının (KBH) önde gelen nedenlerinden olup artmış mortalite riski, kardiyovasküler morbidite ve büyüme bozukluğu ile ilişkilidir. En sık gözlenen kalıtsal renal hastalıklar kistik ve glomerüler nefropatilerdir. Kalıtsal renal hastalıklar yetişkin başlangıçlı hafif hastalıktan, perinatal ölümcül hastalığa kadar geniş bir yelpaze ile kendisini gösterebilir (1, 2). Böbreğin ve üriner sistemin konjenital anomalileri (CAKUT), glomerülonefritler, siliyopatiler, tübülopatiler (Bartter ve Gittelman Sendromu), Joubert Sendromu, Alport Sendromu, nefronofitizis ve steroid dirençli nefrotik sendrom (SRNS) kalıtsal renal hastalıkların sık görülenleridir. Bu hastalıklara neden olan genetik faktörlerin saptanması için, kesin moleküler tanı testleri kullanılabilir hale gelmiştir. Genetik testler, hastalığın çok erken veya geç evrelerinde bile, tanı koymada yetersiz olabilen tanısal böbrek biyopsilerinin aksine, hastalığın evresinden bağımsız olarak hastalığın nedenini belirleyebilir. Ayrıca, genetik testler invaziv değildir ve tanı süresini kısaltabilir. Genetik bir tanının belirlenmesi, aile planlamasında, böbrek nakli seçeneklerinde, ekstrarenal özelliklerin hedeflenmiş gözetiminde önemli rol oynar. Yeni Nesil Sekanslama (NGS) yöntemi hem pediatrik hem de yetişkin KBH kohortlarında bir teşhis aracı olarak umut verici sonuçlar göstermektedir. NGS, genomun büyük gen bölgelerinin taranmasını hızlı bir şekilde gerçekleştirebilmesi; tanı koymadaki daha yüksek başarısı sayesinde erken tanı ile önlenebilir hastalıklara, diğer yöntemlere göre daha uygun maliyetli bir yaklaşım sağlar. Hastaların önemli bir kısmında, özellikle ailesel KBH olanlarda, etiyolojisi bilinmeyen KBH vakalarını

özme potansiyeline sahiptir (3, 4). NGS ayrıca primer renal hastalık tanılarının yeniden sınıflandırılmasını sağlar (5). Nefroloji alanındaki genetik testler üzerine yapılan çoğu çalışma, bir araştırma ortamıyla sınırlıdır ve şimdiye kadar klinik pratikte tanısal faydası hakkında çok az şey bilinmektedir. Önümüzdeki yıllarda klinik nefrolojide NGS tabanlı teşhis için genişleyen bir rol öngörüyoruz. Nefroloji tabanlı klinik uygulamalarda NGS başarısı için asıl kritik olan nefrologların klinik prezantasyonu iyi değerlendirerek, uygun genetik testlerle bu verileri birleştirebilmesidir. Bu da multidisipliner bir merkez ile klinisyen ve immünolog iş birliğiyle mümkün olabilmektedir. Hastanemiz, kurulan ilk NGS laboratuvarlarından birine sahip olup, bu konuda referans laboratuvarlardan biridir.

Bu çalışmada etiyolojisi bilinmeyen, genetik heterojeniteye sahip renal hastalıkların tanısının belirlenmesinde ve erken tanı konulmasında; başlangıç klinik prezantasyonun, bulunan genetik sonuçlar ile karşılaştırılmasında hedef spesifik NGS'in kullanılabileceğini; bu yöntem ile non-invaziv olarak hızlı ve uygun maliyetli sonuçlara ulaşılabileceğini göstermeyi, NGS ile transplantasyon öncesi hastaları genetik mutasyonlar açısından değerlendirilerek transplantasyon başarısını öngörmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KALITSAL (HEREDİTER) HASTALIKLAR

Kalıtsal hastalıklar anne ve babadan ayrı ayrı gelen gametler yoluyla geçen ve kuşaktan kuşağa aktarılan ailesel hastalıklardır. Bu hastalıklar doğumda da var olabilse de, her genetik hastalık konjenital değildir. Genetik hastalıklar genel olarak üç ana grup altında incelenmektedir: Tek gen hastalıkları (Mendeliyen kalıtım gösteren hastalıklar), kromozomal hastalıklar ve atipik kalıtım paterni gösteren hastalıklar.

2.1.1. Mendeliyen hastalıklar

Geniş etkili tek bir gendeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkarlar. Mendel kurallarına göre bir kalıtım profili oluştururlar.

2.1.2. Kromozomal Hastalıklar

Kromozomlardaki yapısal veya sayısal anomaliler sonucu oluşan hastalıklardır. Trizomiler, Klinefelter sendromu, Turner sendromu bu gruba örnek gösterilebilen hastalıklardandır.

2.1.3. Atipik Kalıtım Paterni Gösteren Hastalıklar

Multifaktöriyel hastalıklar, mitokondriyal hastalıklar, tekrar dizisi hastalıkları gibi hastalıklar mendeliyen kalıtım ile açıklanamayan hastalıklardır.

Toplumdaki en sık görülen herediter hastalık grubu 600/1000 prevalansı ile multifaktöriyel kalıtım gösteren hastalıklardır. Bu hastalık grubunda fenotipik

karakter ve hastalığın ekspresyonunu hem genetik hem de çevresel faktörler etkiler. Bunu ikinci sırada 20/1000 prevalansı ile tek gen hastalıkları izlerken, üçüncü sırada ise 3.8/1000 prevalansı ile kromozomal hastalıklar takip eder (6). Çocuklarda görülen genetik hastalıkların da büyük bölümü multifaktöriyel hastalıklar olup, tek gen hastalıklarının görülme oranı %9 ve kromozomal hastalıkların görülme oranı ise %1-2'dir (7).

2.2. TEK GEN HASTALIKLARININ AKTARILMA BİÇİMLERİ

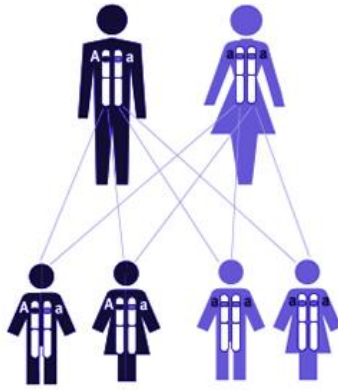
2.2.1. Otozomal Dominant Kalıtım Gösteren Hastalıklar

Otozomal dominant (O.D) kalıtım, sayısı 4500'den fazla olan tek gen hastalıklarının yaklaşık 3000 tanesinde görülmekte olup bu aktarılma biçimlerinin çoğunu oluşturmaktadır (14). Bu hastalıklar heterozigot genotipte de fenotipte etkisini gösteren hastalıklardır. Herhangi bir ebeveynden ilgili dominant genin aktarılması bu hastalığın görülmesi için yeterlidir. O.D hastalıklar her kuşakta görülmekte olup, dikey bir kalıtım paterni ile ilerlemektedir (Şekil 1.). Otozomal genler ile kalıtıldığı için her iki cinsiyette de hastalık izlenebilmektedir. Akondroplazi, Huntington hastalığı, Marfan Sendromu, O.D Polikistik böbrek, Medüller kistik hastalık, Osteogenezis İmperfekta gibi hastalıklar O.D kalıtım gösteren tek gen hastalıklarına örnek gösterilebilir.

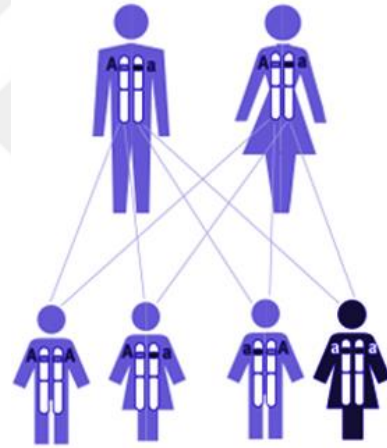
2.2.2. Otozomal Resesif Kalıtım Gösteren Hastalıklar

Otozomal Resesif (O.R) kalıtım gösteren hastalıkların sayısı tek gen hastalıklarının yaklaşık 1500'dür (6). Bu hastalıklar her iki bireyde de mutant olan alellerin homozigot olarak aktarılması ile gözlenir. O.R kalıtım gösteren

hastalıklarda heterozigot genotipe sahip bireylerde hastalık gözlenmez. Her ikisi de heterozigot genotipe sahip olan bireylerin hasta çocukları olma olasılığı %25'tir (Şekil 2.). Bu hastalıklar fenotipik olarak etkisi göstermeden kuşaklar boyunca yatay bir kalıtım paterni ile aktarılabilir. Otozomal genler ile aktarıldığı için her iki cinsiyette de görülebilmektedir. Fenilketonüri, Nefronofitizis, Kistik fibrozis, Sistinozis, O.R Polikistik böbrek hastalığı, Hurler Sendromu O.R hastalıklardan bazılarıdır.



Şekil 1. Otozomal dominant kalıtım



Şekil 2. Otozomal resesif kalıtım

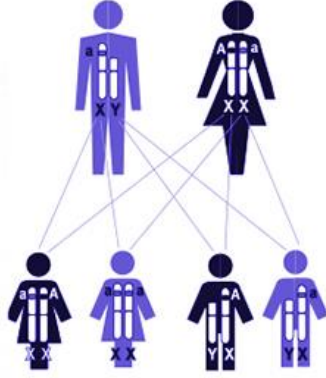
2.2.3. X'e Bağlı Otozomal Dominant Kalıtım Gösteren Hastalıklar

X'e bağlı Otozomal Dominant kalıtım gösteren hastalıkların sayısı tek gen hastalıklarının yaklaşık 350'sidir (6). Erkeklerde 1 adet, dişilerde 2 adet X kromozomu bulunması bu kalıtım modelinin her iki cinsiyette de farklı oranlarda görülmesine yol açmıştır. Dişilerde X kromozomunun biri anneden biri babadan aktarılması sebebiyle, ebeveynlerin herhangi birinden aktarılan mutant allel

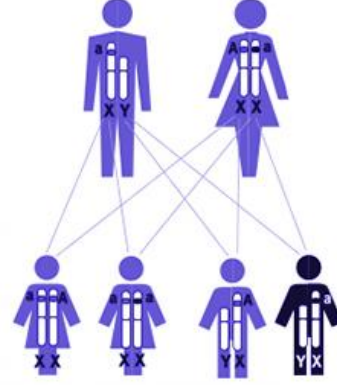
hastalığın gözlenmesi için yeterlidir (Şekil 3.). Erkeklerde ise durum farklıdır. Erkeklerde 1 adet X kromozomu bulunur ve anneden aktarılır. Annede bulunan mutant allellerin aktarılması ile hastalık gözlenmektedir. X'e bağlı Alport Sendromu, İnkontinensia Pigmenti, Rett Sendromu, Darrier hastalığı bu tür hastalıklara örnek olarak verilebilir.

2.2.4. X'e Bağlı Otozomal Resesif Kalıtım Gösteren Hastalıklar

X'e bağlı resesif hastalıklar X kromozomu sayılarının farklılığından dolayı erkeklerde dişilere göre daha sık görülmektedir. Erkeklerde tek bir X kromozomu olması sebebiyle, anneden aktarılan mutant allelin bulunması hastalığın görülmesi için yeterlidir (Şekil 4.). Dişilerde ise biri anneden biri babadan aktarılan 2 farklı X kromozomu bulunması sebebiyle her ebeveynden de mutant allel aktarılması gerekmektedir. Dişiler aynı zamanda heterozigot genotip sahip olup taşıyıcı da olabilmektedirler. Taşıyıcı olan dişilerde mutant allel bulunmasına rağmen hastalık gözlenmez. Hasta olan baba kızına ilgili mutant alleli aktarır. Hemofili A ve B, Hunter Sendromu, Duchenne Musküler Distrofisi, Retinitis Pigmentoza, Glukoz -6- Fosfat dehidrojenaz eksikliği X'e bağlı resesif kalıtılan hastalıklara örnektir.



Şekil 3. X'e Bağlı Dominant Kalıtım



Şekil 4. X'e Bağlı Resesif Kalıtım

2.3. GENETİK GEÇİŞLİ RENAL HASTALIKLAR

Genetik geçişli renal hastalıklar, çocuklarda kronik böbrek hastalıklarının önemli nedenlerinden olup, artmış mortalite riski, kardiyovasküler morbidite ve büyüme bozukluğu ile ilişkilidir. Yetişkinler ile karşılaştırıldığında, genetik geçişli renal hastalıklar, çocukluk renal patolojilerinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Pediatrik kronik böbrek hastalığının yaklaşık %30'unu bu hastalıkların oluşturduğu tahmin edilmektedir (8). Genetik geçişli bu renal hastalıklar Tablo 2'de sınıflandırılmıştır. Böbrek hastalığına sahip bireylerin ailesinde %25 oranında pozitif ailede renal hastalık öyküsü olması, renal hastalıkların genetik ilişkisinin önemini göstermektedir (9, 10). Genitoüriner sistem patolojileri ile ilişkili bilgiler her geçen gün hızla artmaya devam etmekte olup, günümüzde böbrek hastalıkları ile ilişkili 600'den fazla gen tanımlanmıştır (8, 11). Bu genler ile ilişkili hastalıkları anlayabilmek için öncesinde nefrogenez genetiğinden bahsetmekte fayda bulunmaktadır.

2.3.1. NEFROGENEZ GENETİĞİ

Metanefrik blastem ile üreterik tomurcuk arasında uygun bir etkileşim gerçekleşmesi sonucu normal bir böbrek oluşur. Bu etkileşimde ekstraselüler matriks bileşenleri (kollajen, fibronektin ve laminin), özel gen transkripsiyon/translasyon ürünleri (WT-1, EYA 1, SIX 1, PAX 2) ve büyüme faktörleri de (EGF, TGF-alfa, IGF-1 ve IGF-2, NGF, HGF, FGF) rol oynar (12). Mezenşimden salınan “glial cell line-derived neurotropic factor (GDNF)”, mezenterik tübüldeki “tirozin kinaz reseptörü (RTK)” ile “GDNF-family reseptör a1” resöptörüne bağlanır. Böylelikle sinyal yolağı aktifleşerek hücre çoğalması ve dallanması gerçekleşir (13). Üreterik tomurcuk oluşup, metanefrik blastem ile etkileştikten sonra ikiye ayrılarak renal vezikülleri oluşturur (14). Virgül ve S şeklindeki üreter parçasında epitel oluşabilmesi için, metanefrik mezenşimden WNT4 sentezlenir (15). WNT4 metanefrik mezenşim hücrelerinin epitele dönüşümünü sağlar. WNT4 olmadığı takdirde diğer büyüme ve transkripsiyon faktörleri ortamda olsa bile renal parankim gelişimi olmaz (16). Renal sistemin embriyogenezi Şekil 5’te şematik olarak gösterilmiştir.

Bir diğer önemli faktör ise WT1 (Wilms tümör) genidir. Bu gendeki mutasyonlar sonucunda renal tümör (Wilms tümörü) ve ürogenital malformasyonlar ortaya çıkar. WT1 geni embriyogenezdeki bir çok geni düzenlemektedir (17). Renal parankim ve üreterlerin gelişimi için; "gremlin1 (GREM1)" ve "Bone Morphogenetic Protein 4 (BMP4)" arasındaki etkileşim; "Forkhead box protein C1 (FOXC1)", "slit homologue 2 (SLIT2)", "roundabout homologue2 (ROBO2)", "paired box protein 2 (PAX2)", "Wilms’ tumor

transcription factor (WT1)", "wingless type MMTV integration site family member 11 (WNT11)", "fibroblast growth factor 10 (FGF10)", retinoik asit, "vascular endothelial growth factor (VEGF)", "platelet derived growth factor (PDGF)", "LIM homebox transcriptional factor 1B (LMX1B)", "encoding the nuclear steroid hormone receptor (ESRRG)", "polycystic kidney disease 1 ve 2 (PKD1-2)", uromodulin (UMOD), "nephrocystin protein 1-5", "hepatocyte nuclear factor-1B (HNF-1B)" gibi proteinler, büyüme faktörleri de görev almaktadır. GDNF seviyeleri ve ekspresyonu PAX2, EYA1, SIX1, FOXC1, ROBO2, SLIT2, WNT11 gibi birçok büyüme ve transkripsiyonel faktörler tarafından kontrol edilir. RTK ekspresyonu ve aktivitesi ise PAX2 ve retinoik asit tarafından indüklenir (18).

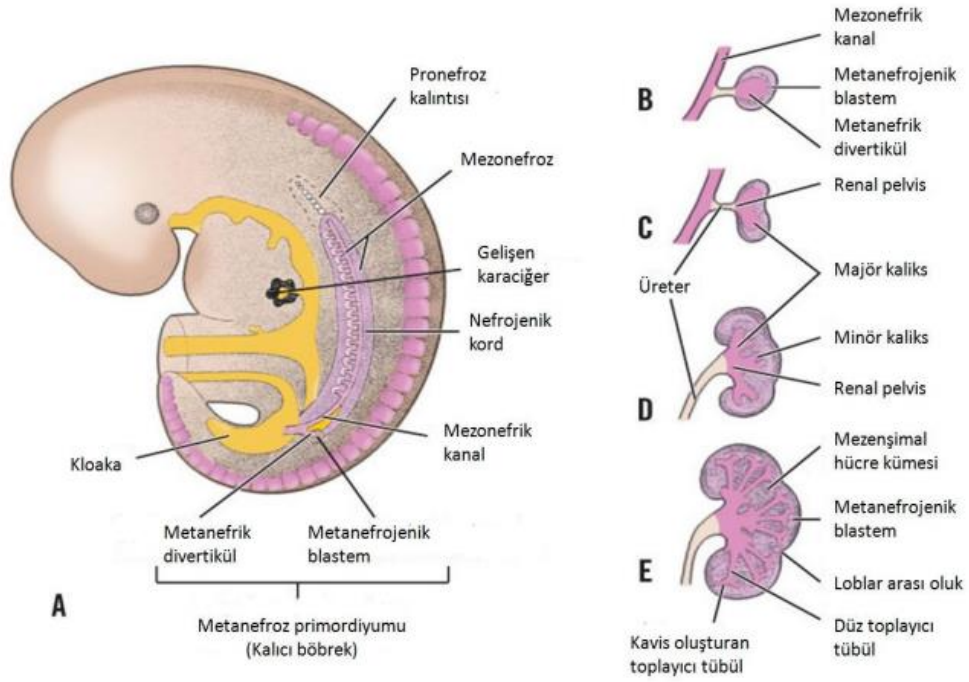
Bu embriyogenez sırasında Wolf kanalından üreterik tomurcuk oluşarak dallanır. Metanefrik mezenşim ile etkileşerek glomerüller, kaliksler, renal pelvis ve üreter oluşur. Böbreğin embriyolojik gelişim şeması Tablo 1’de gösterilmiştir. Üreterik tomurcuk ucunda eksprese edilen “C-ret” ile kanal komşuluğunda metanefrik mezenşim ucundan eksprese edilen ve c-ret ligandı olan “GDNF” etkileşimleri bu oluşumları sağlar. Bu sırada üreterik tomurcuk dışında kalan metanefrik mezenşimden yoğun olarak eksprese edilen BMP4, GDNF ya da GDNF/C-ret kompleksine bağlanarak inhibe eder. Böylece tek bir üreterik tomurcuk oluşumu sağlanır (19). BMP4 molekülü üreterik tomurcuk oluşumunda inhibitör etki gösterirken, aynı zamanda üreterik tomurcuğun uzamasını ve büyümesini, metanefrik mezenşimdeki hücrelerin ölümünü engelleyerek hücrelerin çoğalmasına da doğrudan etkir.

Böbrek ve üriner sistemin normal gelişimi için mezenşim, stroma, üreterik tomurcuk ve kloakadan eksprese edilen böbrek gelişim genlerinin (RDGs-renal developmental genes-) birbirleri ile etkileşimi gerekmektedir. RDG’deki tek gen mutasyonu vezikoüreteral reflüden renal ageneziye kadar birçok anomaliye neden olabilir.

Angiotensin tip 2 reseptör geni, böbrek ve toplayıcı sistemin gelişiminde rol oynayan bir diğer gen olup fetal dönem boyunca aktif kalır ve doğumdan sonra etkinliği kaybolur.

Tablo 1. Böbreğin embriyolojik gelişim şeması

EMBRİYODAKİ YAPILAR	ERİŞKİN İNSANDAKİ KARŞILIĞI
Üreterik tomurcuk	Toplayıcı tübüller
	Minör kaliksler
	Majör kaliksler
	Üreterler
Metanefrik mezenkim	Bowman kapsülü
Renal kesecikler	Toplayıcı kanal
Virgül/S-şekilli cisimcikler	Proksimal tübül
	Distal tübül
	Henle kulpu



Şekil 5. Renal sistemin embriyogenezi

Tablo 2. Genetik geçişli renal hastalıkların sınıflandırılması

Genetik Geçişli Renal Hastalıklar

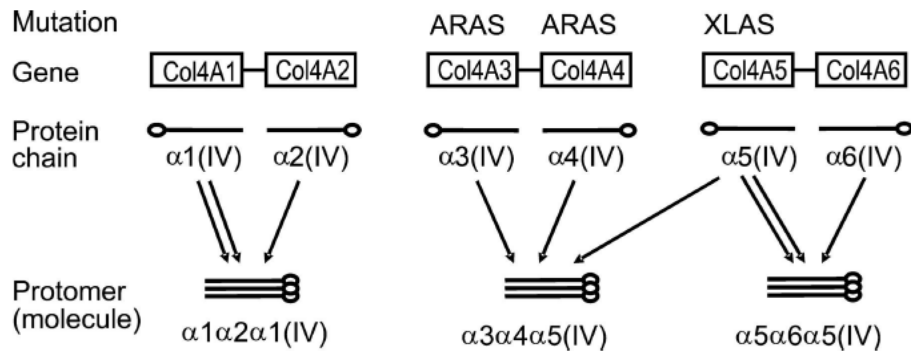
- Herediter Nefritler
- Kistik Böbrek Hastalıkları
- O.D İntertisyel Böbrek Hastalığı
- Nefronofitizis
- Genetik Tübüler Hastalıklar
- Steroid Dirençli Nefrotik Sendrom

2.3.2. HEREDİTER NEFRİTLER

Primer olarak glomerül hasarı ile karakterize hereditör renal hastalık tablolarıdır. Genel olarak beş tip hereditör nefropati sık izlenir. Bunlar Alport Sendromu, ince bazal membran hastalığı, Nail Patella Sendromu, fokal segmental glomerüloskleroz ve Berger hastalığı (Ailesel Ig A Nefropatisi) dir. En iyi bilineni Alport Sendromudur.

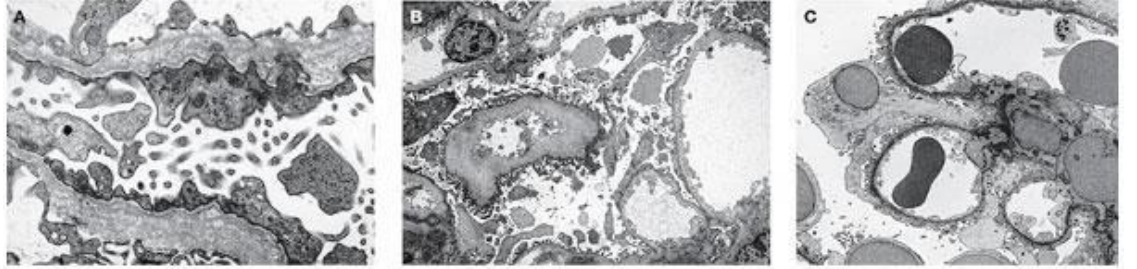
2.3.2.1. Alport Sendromu

Tekrarlayan hematüri atakları ile kendini gösteren en yaygın hereditör nefrittir. X'e bağılı olarak kalıtılabileceği gibi, O.R kalıtım paterni de gösterebilir. En çok X'e bağılı dominant olarak geçer. Prevalansı 1/50.000 olup, son dönem böbrek yetmezliğine gidişlerin %0,2-0,3'ünden sorumludur. Asıl patoloji glomerüler bazal membran komponentlerinden biri olan tip 4 kolajenin 5 α zincirleridir. Alport Sendromu patofizyolojisi Şekil 6'da şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 6. Alport Sendromu Patofizyolojisi

Prognozda KBH gelişimi dışında ekstrarenal bulgular da sık gözlenmektedir. Sensörinöral sağırılık (%30-50), oküler anomaliler (%15-30) bu bulgulara örnek olarak gösterilebilir. Anterior lentikonus patognomonik göz bulgusu olsa da, katarakt gibi lens bozuklukları, miyopati, nistagmus gibi göz anomalilerine bağlı olarak görme kusurları da görülebilir. Işık mikroskopisi non-spesifik olup, hastalık ilerledikçe mezengial genişleme, segmental skleroz ve hiyalinozis görülür. Elektron mikroskopisinde ise glomerüler bazal membranda fragmentasyon ve lamelleşme gözlenir. Hipertrofiye podositler de gözlenebilir (Şekil 7.).



Şekil 7. Alport Sendromu olan hastanın elektron mikroskopi görüntüleri (20)

- A. Düzensiz kontur ve yer yer incelmeler
- B. Kalınlaşma ve bölünmeler
- C. Elektrodens granüller

X'e bağlı formda COL4A5 geni Xq22'de lokalizedir ve 200'e yakın mutasyon görülür. Bu mutasyonlar sonucu kolajen tip 4 yapısı bozulur. O.R formda COL4A3 ve COL4A4 gen mutasyonları; O.D formda ise COL4A3 ve COL4A4 gen mutasyonları izlenir (Tablo 2.).

Tablo 3. Alport Sendromu moleküler genetiği

Alport Sendromu Moleküler Genetiği		
Kalıtım	Etkilenen lokus	Gen ürünü
X'e Bağlı Alport Sendromu	COL4A5	$\alpha 5$
X'e Bağlı Alport Sendromu ve Leiyomiyomatozis	COL4A6	$\alpha 6$
Otozomal Resesif Alport Sendromu	COL4A3	$\alpha 3$
	COL4A4	$\alpha 4$
Otozomal Dominant Alport Sendromu	COL4A3	$\alpha 3$
	COL4A4	$\alpha 4$

Alport Sendromunun prognozu kötü olup, erkekler daha sık etkilenmektedir. Hatta erkeklerin çoğu son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) gider. İşitme ve görme bulguları ile aile öyküsü kötü prognoz göstergesidir. Hastalarda giderek artan bir proteinüri görülür. Konservatif tedavi önerilse de, tedavide Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACE inhibitörü) ile immünsuprese tedaviler kullanılmaktadır. Çoğunlukla medikal tedavi SDBY'e gidişi engelleyemez ve hastalar renal transplant adayı olurlar.

2.3.2.2. İnce Bazal Membran Hastalığı

O.D veya O.R kalıtımla geçen COL4A4 ve COL4A3 mutasyonu ile ilişkili, glomerüler hematüri ile karakterize bir hastalıktır. Ailevi persistans mikroskobik ya da makroskobik hematüri bulunur fakat proteinüri, işitme kaybı

ve SDBY'e gidiş gözlenmez. Ekstrarenal bulgular nadirdir. Sporadik de izlenebilir. Histopatolojik olarak glomerüler bazal membranda diffüz incelmeler en önemli özelliğidir. Bazı ailelerde tip 4 kolajen bozukluğu görülebilir. Bu sebeple aile taraması ve renal biyopsiler tanıda yardımcıdır. Özgül bir tedavisi bulunmamaktadır. Uzun dönem prognozu iyidir.

2.3.2.3. Nail Patella Sendromu (Hereditör Osteo-onikodisplazi)

9. kromozoma bağlı olarak O.D kalıtılan tırnak displazisi, kemik anomalileri ve renal tutulum ile karakterize bir hastalıktır. LMX1B geninin bu hastalıktan sorumlu olduğu düşünülmektedir (21). Patella çoğu hastada yok ya da hipoplaziktir. Distrofik tırnaklar ve bileklerde ya da iliak kanatlarda displazi gözlenir (Şekil 8.). Proteinüri, hematüri, nefrotik sendrom, hipertansiyon hastalarda görülen renal bulgularıdır ve hastaların yarısında gözlenir. Hastaların %15'inde SDBY'ye gidiş izlenir (21, 22). Hastalar semptomatik tedavi edilir ve SDBY'ye giden hastalara transplatansyon önerilmektedir.



Şekil 8. Nail Patella Sendromunda (a) patellar hipoplazi ve (b) iliak kanatlarda displazi

2.3.2.4. Fokal Segmental Glomerüloskleroz

Fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS), glomerüllerin bir bölümünün sklerotik olduğu histopatolojik bir tanımlamadır. Primer glomerülonefritler arasında SDBY'ye giden en sık nedendir (23). İmmün kompleks, piyelonefrit gibi nefron hasarına neden olan hastalıklar, viral enfeksiyonlar ve ilaçlara sekonder olabileceği gibi; podosit genlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar sonucu ailesel FSGS'ler de meydana gelebilir. Özellikle “nefrin” genini kodlayan NPHS1 ve “podosin” genini kodlayan NPHS2 mutasyonuna sahip çocuk hastalarda steroide direnç söz konusudur (24). FSGS'nin patofizyolojisine bakıldığında, podosit hasarı ve kaybı, glomerüler kapiller yüzeyde düzleşmeye ve protein kaybına yol açarlar. Vakaların bir kısmında tübülointerstisyel fibrozis de eşlik etmektedir. Bu durum prognozu ve hastalığı derecesini belirleyen bir faktördür (25). İmmünfloresan mikroskopide mezengial alanda Ig M pozitifliği görülebilir. Elektron mikroskopisinde ise podosit ayaksı çıkıntılarında geniş silinmeler izlenmektedir. FSGS tanılı çocuk hastalarda kısa süreli steroid tedavisi %20-25 oranında remisyon sağlasa da, daha potent tedavi gereksinimlerine de ihtiyaç duyulmaktadır. Bazı vakalarda siklofosfamid, klorambusil gibi immünsüpresif ilaçlarla yanıt alınabilir (26).

2.3.2.5. Ailesel Ig A Nefropatisi (Berger Hastalığı)

Mezengial alanda Ig A'nın diffüz birikimi ile karakterize proliferatif bir hastalıktır. Genellikle üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra ilk iki gün içerisinde gözlenen makroskobik hematüri atakları görülür. Birkaç gün içinde bu makroskobik hematüri kendiliğinden geçer. Makroskobik hematüri atakları

arasında mikroskobik hematüri de gözlenebilir. KBH'nın önde gelen bir nedenidir ve teşhisten yaklaşık 20 yıl sonra hastaların %40'a varan bir kısmında SDBY'ye ilerler (27). Nefrotik sendrom, mikroskobik hematüri ve ışık mikroskopundaki minimal glomerüler patoloji ile mezenşimal IgA birikimi ile başvuran, özellikle pediatrik hastalarda, iki yaygın glomerüler hastalık olan minimal değişiklik hastalığı ve Ig A Nefropatisi benzerliği karışabilmektedir (28, 29). 6q22-23 kromozomu ile ilişkili lokus olan IGA1 mutasyonu hastalıkla ilişkili bulunmuştur (30). SDBY gelişiminin önemli bir nedeni olduğundan, progresyonu yavaşlatıcı tedavi yaklaşımları yararlı olacaktır.

2.3.3. KİSTİK RENAL HASTALIKLAR

2.3.3.1. Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı

Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ODPBH) en yaygın görülen, multisistemik ve geç başlangıçlı kalıtsal böbrek hastalığıdır. Genellikle orta yaşlara kadar asemptomatik kalabilirlerken, %2-5 oranında yenidoğan döneminde de gözlenebilmektedir. Erken başlangıçlı bu olgularda hastalık daha şiddetli seyretmektedir. Prevalansı her 400-1000 doğumda birdir. Büyük çoğunluğu ailesel gözlenirken, %10'u sporadik olarak da izlenmektedir. Kistler çoğunlukla korteks ve medullaya yerleşiktir (Şekil 9.). %1-5'i nefrona yerleşik fokal kistlerdir. Olguların yaklaşık yarısı 60 yaşına kadar SDBY'ye ulaşmaktadır. Bu hastalığa “polisistin-1” proteinini kodlayan PKD1 ve “polisistin-2 proteinini kodlayan PKD2 genleri sebep olmaktadır (31). Kistler ekstrarenal olarak en sık karaciğerde gözlenirken; pankreas, dalak, tiroit ve seminal veziküller diğer

görülebilen yerlerdir. Ayrıca vasküler anomaliler de bir diğer ekstrarenal bulgulardır. Bunlara örnek olarak Berry anevrizması, Aort anevrizması, Mitral valv prolapsusu verilebilir. Klinik olarak kronik lomber ağrı, mikroskobik ya da gross hematüri, proteinüri, böbrek idrar konsantrasyon yeteneğinde azalma, nefrolitiazis ve hipertansiyon gözlenebilir.

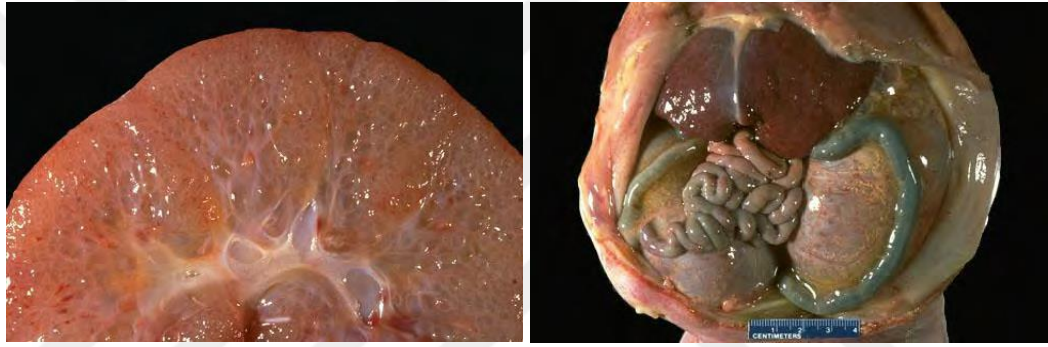


Şekil 9. Makroskobik olarak polikistik böbrek hastalığı

2.3.3.2. Otozomal Resesif Polikistik Böbrek Hastalığı

Çocuklarda önemli karaciğer ve böbrek ilişkili morbidite ve mortalite nedenlerinden biri olan Otozomal resesif polikistik böbrek hastalığı (ORPBH), her 20.000-40.000 canlı doğumda bir gözlenmektedir (32). Bu hastalığa “fibrosistin (poliduktin)” proteini ve bu proteini kodlayan PKHD1 geninin sebep olduğu düşünülmektedir (33). Hastalık sıklıkla yenidoğan ve erken çocukluk çağında ortaya çıkmaktadır. Çocukların karınları belirgin derecede şiştir. Bu çocuklarda karaciğer patolojileri yanında, oligohidroamnios, akciğer hipoplazisi ve Potter sendromu da görülebilir. Yüzeyden kabarık olmayan 1-2 mm çapında sayısız kistler görülür (Şekil 10.) (34). Bütün hastalarda mikroskobik anomalilerden,

hepatik fibrozise kadar değişen bilier duktal anomaliler vardır. Karaciğerdeki temel patolojinin nedeni primer duktal tabaka tutulumuna bağlı gelişen periportal fibrozisin eşlik ettiği biliyer disgenezidir (31). Karaciğerde erken dönemde hafif portal genişleme, biliyer kanallarda düzensiz proliferasyon ve hafif dilatasyon görülürken, daha ileri dönemlere doğru konjenital hepatik fibrozis ve buna bağlı portal hipertansiyon görülebilir (35).



Şekil 10. ORPBH makroskopik görünümü

2.3.3.3. Nefronofitizis

“Nefrosistin” proteinini kodlayan NPHP1 (juvenil), NPHP2 (infantil) ve NPHP3 (adölesan) genlerinin mutasyonu sonucu oluşmaktadır. INVS, TTC21B, JBTS11, CEP290, ZNF423, NEK8, GLIS2, THEM67, MKS3 gibi genler diğer mutasyon gözlenen genleri oluşturmaktadır (36). Bu genler siliaların yapı ve fonksiyonu ile ilişkilidir. İzole ya da sendromik tipleri görülebilmektedir ve her iki grupta da O.R kalıtım gözlenmektedir (37). En sık juvenil tipi görülmektedir. Hastalar kliniğe poliüri, polidipsi, gelişme geriliği, boy kısalığı, kistik renal hastalık, ağır anemi ve KBH ile başvururlar. Çocukluk çağındaki SDBY’ye götüren en sık kalıtsal renal hastalıktır (36). Retinitis pigmentosa, hepatik fibroz,

iskelet deformiteleri, serebellar vermis aplazisi diğer ekstrarenal klinik bulgulardır. Sadece hastaların %10-20'sinde bu ekstrarenal bulgular gözlenir (37). Renal biyopsinin tanıdaki rolü tartışmalıdır. Böbrek biyopsisi, diğer ayırıcı tanılardan ayırt etmek için doku tanısının kullanılabileceği vakalarla sınırlandırılmalıdır. Moleküler genetik analiz şu anda nefronofitizi teşhis etmek için mevcut olan tek yöntemdir (36).

2.3.3.4. Medüller Kistik Hastalık

Kortikomedüller sınırda kistler ile seyreden MCKD1 ve MCKD2 genlerindeki mutasyonlar sonucu oluşan O.D böbrek hastalığıdır. Normal büyüklükte, bilateral tutulum gösteren dilate kortikal toplayıcı tübüller bulunur. Hastalığın ilerlemesi ile de diffüz skleroz izlenir. Kanda ürik asit yüksekliği, hipertansiyon, poliüri, idrar konsantrasyonunda bozulma gözlenir. İdrar tetkiki normal olup, hematüri ve proteinüri nadir görülmektedir. Sendromlar eşlik etmez. Yavaş ilerleyen böbrek yetmezliğine neden olur.

2.3.3.5. İzole Böbrek Kisti

Etyopatogenezi net olarak bilinmeyen, genetik geçiş gözlenmeyen bu hastalıkta, normal böbrek zemininden gelişen genellikle 5 cm'den küçük nadiren 10 cm'lik, klinik olarak anlam taşımayan kistler bulunmaktadır. Makroskopik olarak şeffaf görülen, düzgün gri bir membran ile kaplı, berrak sıvı içeren kistlerdir (38). Çocukluk çağında nadir olarak gözlenir. Prevalansı %0,2-2 olarak gözlenir (39).

2.3.3.6. Uromodulin ile İlişkili Böbrek Hastalığı

Uromodulin (Tamm Horsfall) proteinini kodlayan UMOD ve REN geninin mutasyonu sonucu meydana gelen, mutant uromodulinin tübüllerde birikmesi ile karakterize sık gözlenmeyen bir kalıtsal renal hastalıktır. Medüller kistik hastalık tip 2 olarak isimlendirilse de birçok hastada medüller kist bulunmamaktadır (40). O.D kalıtım gösteren bu hastalıkta hiperürisemi sık gözlenen bir klinik bulgusu olması sebebiyle familyal juvenil hiperürisemik nefropati olarak da adlandırılmaktadır (41).

2.3.3.7. Renal Kistler ile Seyreden Multiple Malformasyon Sendromları

Meckel-Dieker Sendromu: O.R geçiş gösteren, MKS1-3 genlerindeki heterojenitenin neden olduğu bir hastalıktır (42). Polidaktili, oksipital ensefalosel ve kistik böbrek tiradından oluşur.

Zellweger Sendromu (serebro-hepato-renal sendrom): Peroksizom biyogenezi için gerekli olan PEX genindeki O.R kalıtım gösteren mutasyonu sonucu oluşur (43). Hipotoni, atipik yüz görünümü, kistik displazi, kortikal, tübüler ya da glomerüler kistler ile izlenen bir hastalıktır.

Jeune Sendromu: Dar toraks, kısa ekstremiteler, tübülointertisyel nefrit ve kistik displazi izlenen asfiksi yapabilen hastalıktır. O.R kalıtım şekli gözlenir ve IFT80, TTC21B, DYNC2H1, WDR19 gibi genler ilişkili görülmektedir (44).

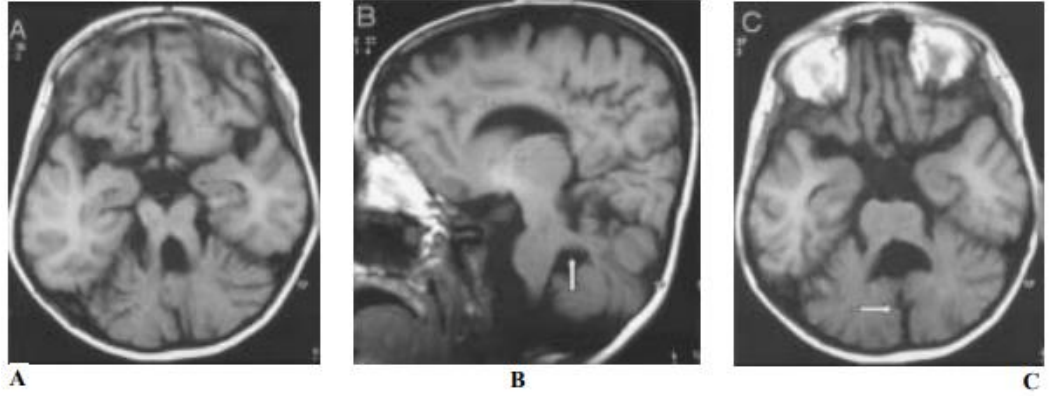
Bardet Biedel Sendromu: Obezite, retinitis pigmentosa, mental retardasyon, polidaktili ile beraber renal kist ve mikrokistlerin de izlenebildiği hastalıktır. O.R

kalıtım gözlenir ve 26'dan fazla gen bu hastalıktan sorumlu tutulmaktadır. BBIP1-2-4-5-7, TTC8, CEP290 ve MKSS bu genlerden bazılarıdır (45).

Ivemark Sendromu: Biliyer disgenezi, pankreas kisti ile birlikte renal kistik displazinin de gözleendiği hastalıktır. DNAJB11 genindeki O.D geçiş gösteren heterozigot kaybının sebep olduğu bilinmektedir (46).

Von Hippel Lindau: Serebellar hemanjiyoblastom, feokromasitoma, pankreatik nöroendokrin tümör, renal hücreli karsinom ile beraber renal kistlerin de izlenebildiği bir hastalıktır. Hastalık, VHL genindeki O.D germline mutasyondan kaynaklanmaktadır (47).

Joubert Sendromu: Joubert sendromu O.R geçiş gösteren, hipotoni, ataksi, epizodik hiperpne nöbetleriyle seyreden bir hastalıktır. Diğer siliyopatiler gibi Joubert Sendromu da genetik heterojeniteye sahip olup, 40'tan fazla genin ilişkili olduğu bilinmektedir (48). THEM67, RPGRIP1L, CEP290, AHI1 bu genlerden bazılarıdır. Klinik olarak mental- motor gelişme geriliği, anormal göz hareketleri, kolobom, retinal distrofiye ek olarak, hastalığa polikistik böbrek hastalığı, hepatik fibrozis, polidaktili ve yumuşak doku tümörleri de eşlik edebilir. Kraniyel manyetik rezonans görüntülemesinde atrofik vermişe bağlı molar diş görünümü tipik bulgusudur (Şekil 11.).



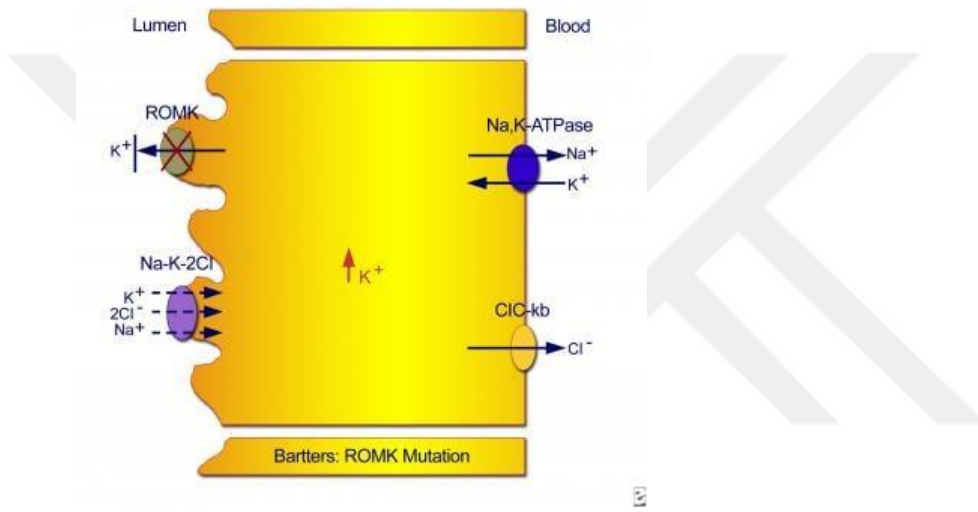
Şekil 11. Joubert Sendromu. A. Süperior serebellar pedinküllerde kalınlaşma ve horizontal seyir. Vermis yok. Görünüm molar dişe benziyor. B. Geniş horizontal seyirli süperior serebellar pedinküller (ok). C. 4. ventrikül yarasa kanadı görünümünde.

2.3.4. KALITSAL TÜBÜLER HASTALIKLAR

2.3.4.1. Bartter Sendromu

Bartter Sendromu nadir gözlenen tuz kaybettiren bir tübülopati olup, hipokalemik hipokloremik metabolik alkalozla gözlenen sekonder hiperaldosteronizm ile karakterize O.R kalıtılan hereditör renal hastalıktır. Primer patoloji Henle kulpunun çıkan kalın kolunda tuz reabsorbsiyonunda bozukluk olmasıdır (Şekil 12.). Bu sebeple hastalarda poliüri, dehidratasyon, büyüme ve gelişme geriliği, yorgunluk, kas krampları, hipokalemi, hipokloremik metabolik alkaloz, normotansif hiperreninemik hiperaldesteronizm gözlenmektedir (49). Moleküler genetik analizlere göre beş farklı alt tipi olup hiperkalsiüri ve nefrokalsinozis bazı subtiplerinde görülebilmektedir. Tip 1 Bartter sendromu yenidoğanlarda izlenirken, tip 4 Bartter sendromu işitme kaybı ile birliktelik göstermektedir. Tip 3 ise klasik Bartter sendromunu ifade etmektedir. Furosemid sensitif kanallarda mutasyon söz konusudur. Tip 1 Bartter Sendromunda NKCC2

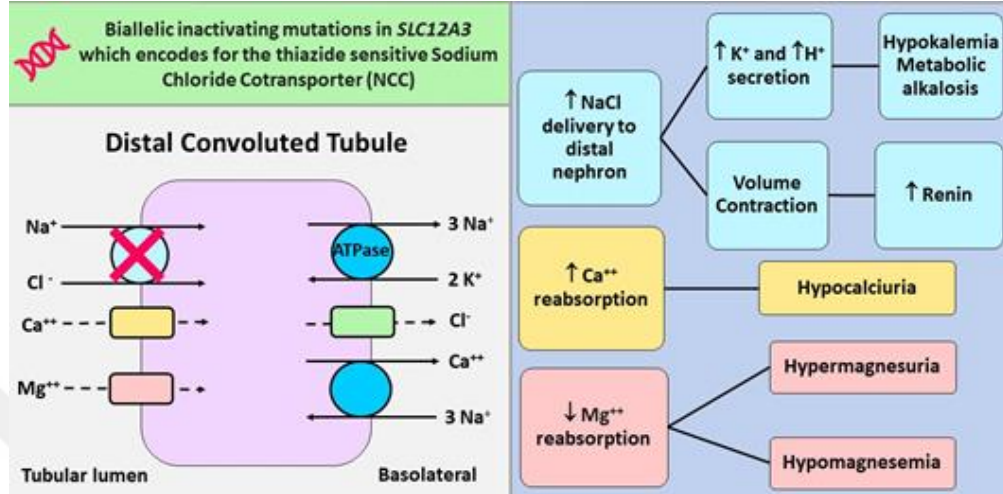
geninde; Tip 2 Bartter Sendromunda ROMK kodlayan gende; klasik Bartter sendromunda ise ClC-Kb klor kanalını kodlayan gende mutasyon vardır. Tip 4 Bartter Sendromunda ‘barttin’ kodlayan gende fonksiyon kaybı söz konusu iken, Tip 5 Bartter Sendromunda kalsiyum sensitif iyon kanalı ClC-Ka ve klor kanalı olan ClC-Kb’da mutasyon bulunmaktadır (50).



Şekil 12. Bartter Sendromundaki tuz reabsorbsiyonundaki bozukluk

2.3.4.2. Gittelman Sendromu

Gittelman sendromu hipokalemik alkaloz, hipomagnezemi ve hipokalsiüri ile karakterize O.R kalıtılan tübüler bir hastalıktır (51). Primer patolojisi SLC12A3 geninin kodladığı distal tübülüslerdeki tiyazide duyarlı Na/Cl kanalındaki mutasyondur (Şekil 13.). Hastalar çoğunlukla asemptomatik olup geç tanınırlar bile, halsizlik, kas güçsüzlüğü, kas krampları, polidipsi, tetani en sık başvuru sebepleridir. Hipokalemi sebebiyle artmış renin ve aldosteron düzeyi bulunmaktadır. Tedavide potasyum ve magnezyum desteği, aldactone ve ACE inhibitörleri kullanılabilir.



Şekil 13. Gittelman Sendromunda SLC12A3 geninin kodladığı Na/Cl kanalındaki mutasyon

2.3.4.3. Liddle Sendromu

Liddle Sendromu distal tübülüslerdeki amiloide duyarlı sodyum (Na^+) iyon kanallarındaki mutasyonlara bağlı olarak nadir görülen O.D geçişli kalıtsal bir tübüler hastalıktır. Bu defekte bağlı olarak hipertansiyon, metabolik alkaloz, hipokalemi, hipernatremi, hipoaldesteronizm, hiporeninemi görülür. Bu sebeple psödohiperaldosteronizm olarak da adlandırılabilir.

2.3.4.4. Renal Tübüler Asidozlar

Renal tübülüslerde hidrojen (H^+) iyonu sekresyonunda ya da bikarbonat (HCO_3^-) iyonunun reabsorbsiyonunda veya her ikisinde de bozukluk olması sonucu görülen, glomerüler filtrasyonun etkilenmediği bozukluklardır. Renal tübüler asidoz (RTA) genetiği Tablo 4'te özetlenmiştir. Hastalarda kronik asidite, büyüme gelişme geriliği, böbrek taşlar, kemik hastalıkları ya da böbrek

yetmezliğine sebep olabilir. Normal serum anyon açığı ile birlikte hiperkloremik hipopotasemik metabolik asidoz görülür. 4 alt tipi bulunmaktadır.

2.3.4.4.1. Distal Renal Tübüler Asidoz (Tip 1)

En önemli özelliği asidoza karşı idrar pH'sını düşürememesidir. Patoloji kortikal ve medüller toplayıcı kanallardaki bozulmuş H^+ sekresyonudur. İdrara asit salınımını azaltırken bikarbonat atılımını artırır. Böylece idrar pH 5,5 altına düşmez.

2.3.4.4.2. Proksimal Renal Tübüler Asidoz (Tip 2)

Temel patoloji proksimal tübüllerdeki HCO_3^- reabsorbsiyonunun bozulmasıdır. Hipokalemi ve hiperkloremi mevcuttur. Distal tübüllerdeki H^+ iyon sekresyonu korunduğu için, idrar pH 5,5 altına inerek asitleştirilebilir.

2.3.4.4.3. Tip 3 Renal Tübüler Asidoz

Karbonik anhidraz Tip 2'yi kodlayan genlerde mutasyon sonucu oluşan, proksimal ve distal renal tübüler asidoz özelliklerine sahip olan asidoz tipidir. Serebral kalsifikasyon ve osteopetrozis gibi ekstrarenal bulgular da gözlenebilmektedir.

2.3.4.4.4. Tip 4 Renal Tübüler Asidoz

Aldosteron eksikliğine ya da reseptörlerdeki yanıtsızlığa bağlı olarak oluşur. Aldosteron eksikliği sonucu sodyum atılımı artar, hiponatremi ve hipovolemi gözlenir. Tip 1 renal tübüler asidozdan farklı olarak hiperkalemik olmasıdır.

Tablo 4. Renal tübüler asidozların sınıflandırılması

Bulgular	Tip 1 RTA	Tip 2 RTA	Tip 4 RTA
Normal Anyon Açıklı Asidoz	Evet	Evet	Evet
Primer Hasar	Distal Asidifikasyonda Bozulma	Proksimal HCO ₃ ⁻ emiliminde azalma	Aldosteron sekresyonunda ya da etkisinde azalma
İdrar pH	>5,5	<5,5	<5,5
İdrar Anyon Açığı	Pozitif	Pozitif	Pozitif
Fraksiyone HCO₃⁻ atılımı	<5	>15	<10
Serum K⁺	Düşük	Düşük	Yüksek
Serum HCO₃⁻	Değişken, <10 meq/L	Genelde 10-12 meq/L	>17 meq/L
Fanconi Sendromu	Hayır	Evet	Hayır
Taş/Nefrokalsinozis	Evet	Hayır	Hayır

Tablo 5. Renal tübüler asidoz genetiği

Primer Proksimal Asidoz (Tip 2) Okuler Anormalite ile Birlikte	SLCA4A4 (4q21)	NBC-1	Resesif
İzole Primer Distal Asidoz (Tip 1)	SLCA4A1(17q21)	AE1	Dominant
RTA Tip 1 (Sağırılık Eşlik Eden Tip)	ATP6B1	B1 subunit	Resesif
RTA Tip 2 (Sağırılık Eşlik Etmeyen Tip)	ATP6N1B (7q33)	116 kd subunit	Resesif
Osteopetrozisin Eşlik Ettiği Kombine Proksimal ve Distal Asidoz (Tip 3)	CA2 (8q22)	CAII	Resesif
Hiperkalemik RTA (Tip 4) Psödohiperaldesteronizm Tip 1 Renal Form	MLR (4q31.1)	Mineralokortikoid reseptör	Dominant
Multiorgan Form	SNCC1B (16p12) SNCC1A (12p13)	B-ENaC A-ENaC	Resesif Resesif

2.3.5. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI

İlerleyici ve geri dönüşsüz olarak nefronların kaybına sebep olan çeşitli hastalıklar sonucunda, glomerüler filtrasyon hızında (GFR) kalıcı azalma ile karakterize tüm vücut sistemlerinin etkilendiği klinik bir durumdur (52). GFR'nin 3 ay ve üzeri süresince 60 ml/dk/1,73 m² 'nin altında olması olarak tanımlanmıştır. KDIGO 2012 kriterlerine göre GFR hesabı dikkate alınarak 5 evre olarak evrelendirilmiştir (Tablo 6.).

Tablo 6. KBH KDIGO 2012 tanı kriterleri

KBH tanı kriterleri (herhangi birinin >3 ay varlığı)	
Böbrek hasarı belirteçleri (bir ya da daha fazla)	-Albuminüri (AER≥30mg/24 saat; ACR≥30 mg/g (≥3mg/mmol) -İdrar sediment patolojileri -Tübüler hasara bağlı elektrolit ve diğer bozukluklar -Histolojik patolojiler -Görüntüleme ile saptanan yapısal bozukluklar -Böbrek nakli hikayesi
Azalmış GFR	-GFR<60 ml/dk/1.73 m ²

AER: albümin atılım hızı, ACR: albümin/kreatin oranı

Tablo 7. KDIGO 2012 GFR sınıflandırmasına göre KBH evrelemesi

GFR Evreleri	GFR (ml/dk/1.73m ²)	Tanımlar
G1	≥ 90	Normal veya yüksek
G2	60-89	Hafif azalmış
G3a	45-89	Hafif-orta derecede azalmış
G3b	30-44	Orta şiddetli derecede azalmış
G4	15-29	Şiddetli azalmış
G5	<15	Böbrek yetmezliği

Çocukluk çağında KBH sıklığı 18/1.000.000'dir (53). Yetişkinlerde KBH'nın en sık nedeni hipertansiyon ve diabetes mellitus iken, çocuklarda ise

CAKUT (%48), glomerüler hastalıklar (%14) ve herediter nefropatiler (%10) ilk sıralardadır (54). Bu nedenler yaş gruplarına göre farklılık gösterebilir. Özellikle küçük yaşlardaki çocuklarda KBH nedeni CAKUT iken, 12 yaş üzerindeki daha büyük çocuklarda ise neden glomerülonefritlerdir. CAKUT grubunda da en sık obstrüktif üropati (%22), renal aplazi, renal hipoplazi ve displazi (%18), Vezikoüreteral reflü (%8) yer almaktadır (55).

Tablo 8. Genetik geçişli renal hastalıklara sebep olan major genler (8, 56)

Klinik tanı	Genomik Bölgeler ve Genler	Diagnostik başarı
CAKUT	1q12.1, 4p16.1-16.3, 16p11.2, 16p13.11, 17q12, 22q11.2, 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	%8-20
Kistik Renal Hastalıklar		%36-80
ODPBH	PKD1, PKD2, GANAB, DNAJB11	
ORPBH	PKHD1, DZIP1L	
Nefronofitizis İlişkili Sitopatiler	NPHP1-NPHP6, TMEM67, ANKS6, TTC21B, GLIS2, CEP164, INVS, MAPKB1, NEK8, CEP83, WDR19, ZNF423	
Joubert Sendromu	INPP5E, TMEM216, CC2D2A, AHI1, CEP41, RPGRIP1L	

Bardet Biedl Sendromu	BBS1-BBS12, NPHP6, CEP290, MKS1, SDCCAG8, SEPT7	
Senior-Løken syndrome	NPHP1, NPHP4, CEP290, IQCB1, SDCCAG8, WDR19	
O.D Tübülointertisyel Böbrek Hastalığı	UMOD, MUC1, REN, HNF1B, SEC61A1	%34-45
Alport Sendromu	COL4A3, COL4A4, COL4A5	~%80
SRNS/FSGS		%6,3-100
Sendromik	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	
Non-Sendromik	PLCE1, KANK2, KANK4, TRPC6, NPHS1, NPHS2, CD2AP, MYO1E, MAGI2, XPO5, NUP85, NUP93, NUP205, NUP160, PTPRO, MP2, COQ8B, TTC21B, AVIL, INF2, ACTN4, ARHGAP24, ANLN, CRB2, ARHGDIA, FAT1, NXF5, TBC1D8B	

2.4. GENETİK GEÇİŞLİ RENAL HASTALIKLARDA MOLEKÜLER TANI TESTLERİ

Renal patolojilerin genetik ilişkisi, kompleks kalıtım paterni, multigenik etiyolojisi belirgin olarak görülebilmektedir. Bu genetik bozukluklar için kesin moleküler tanı testleri kullanılabilir hale gelmiştir (1). Genetik geçişli KBH riski daha yüksek olanlarda, ailesel ve erken başlangıçlı KBH olanlarda, olağan dışı

hastalık seyri durumlarında, nedeni bilinmeyen renal yetmezliklerin doğru teşhis edilmesinde genetik testlerin önemli bir rolü bulunmaktadır (57). Genetik testlerin faydalarından biri de, hastalığın çok erken veya geç evrelerinde bile, tanı koyulma zorluğu bulunan böbrek biyopsilerinin aksine, hastalığın evresinden bağımsız olarak hastalığın nedenini belirleyebilmesidir. Ayrıca, genetik testler invaziv değildir ve tanı süresini kısaltabilir. Genetik bir tanının belirlenmesi, aile planlamasında, böbrek nakli seçeneklerinde, ekstrarenal özelliklerin hedeflenmiş gözetiminde önemli bir rol oynayabilir. Tedavi ve genetik danışmanlık konusunda rehberlik edebilir (2). Ancak kalıtsal geçişli bu renal hastalıkların kompleks kalıtım paterni, uygun genetik testin tespit edilmesini zorlaştırmaktadır. Bu sebeple hasta temelli, hastanın klinik bulguları, testin başarısı ve maliyeti göz önünde bulundurularak bir karar verilmektedir. Şu an için klinik pratikte kullanılan genetik testler; karyotip analizi, kromozomal mikrodizileme, Sanger sekanslama ve yeni nesil sekanslama (NGS) yöntemleri olarak özetlenebilir.

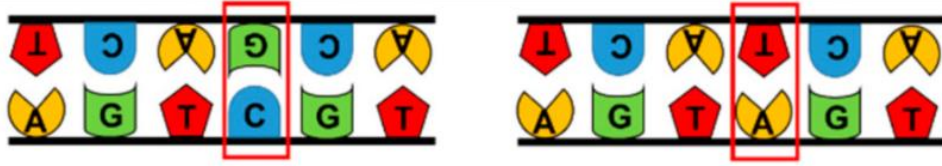
2.4.1. Sanger Sekanslama Yöntemi

Sanger sekanslama yöntemi mutasyon tanımlaması için basit ve oldukça hassas bir araçtır. Bu yöntem ayrıca birinci nesil sekanslama yöntemi olarak da bilinmektedir. Spesifik gen ve bölgesindeki 1 kilobyte (kb) daha düşük varyantlar saptanabilir. Yöntemin temeli Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) sırasında işaretlenmiş zincir sonlandırıcı dideoksinükleotidlerin dahil edilmesine ve ardından elektroforetik olarak boyut ayrımları sonucunda bu işaretli sinyallerin görselleştirilmesine dayanır. Fakat bu sekanslama yöntemi ile çoklu mutasyonların neden olduğu genetik olarak heterojen bozukluklarda, bilinen ve

şüphelenilen tüm genlerin sıralı Sanger dizilimi zaman alıcıdır ve maliyet etkin değildir.

2.4.2. Tek Nükleotid Polimorfizmi Sekanslama Yöntemi

Genomdaki kopya sayısı varyasyonları (delesyonlar ya da duplikasyonlar) tespit etmek ve homozigot bölgeleri belirlemek için kullanılan mikrodizi tabanlı bir tekniktir (Şekil 14.). Bu güçlü araç genellikle araştırma ve tanıda, ilgilenilen genetik bölgeyi daraltmak ve analiz edilecek gen sayısını azaltmak için kullanılır. Ayrıca, dominant bir kalıtım modeline sahip genetik bozuklukları olan geniş ailelerde yeni nesil sekanslama yöntemi için bir odak görevi görebilir (1).



Şekil 14. Tek nükleotid polimorfizmi örneği. Guanin ile Timin yer değiştirerek tek nükleotid polimorfizmine neden olmuştur.

2.4.3. Yeni Nesil Sekanslama Yöntemi (NGS)

NGS, milyonlarca küçük DNA parçasının analitik araçlar kullanılarak, aynı anda tam bir dizi halinde yeniden birleştirilebilmesi için kullanılan tekniklere verilen genel bir isimdir. Çok sayıda örnek, paralel olarak sekanslanabildiği için “paralel sekanslama yöntemi” de denilmektedir. Bu yöntem ile yüksek doğrulukta ve ultra hızlı olarak dizinleme yapılabilmektedir. Belirli bir hücre alt kümesindeki mutasyonlardan, büyük genomik olaylara kadar birçok araştırma sorularına yüksek çözünürlüklü derin bir dizileme yapabilen çok yönlü bir teknolojidir.

Arşivlenen bu materyaller küçük hasta gruplarında genetik varyantları kataloglamak amacıyla da sıralanabilir. Prognostik ve/veya prediktif genomik biyobelirteçleri veya yeni ilaç hedeflerini saptamak için numune başına çok sayıda gen dizilenebilir (1). Bu yaklaşım sayesinde, tüm ekzon veya genom ya da seçilen genlerdeki küçük varyantlar, nispeten daha düşük bir maliyet ile tanımlanabilmektedir. Klinik olarak genetik teşhis için güçlü bir araçtır (58). Tüm genom sekanslama (WGS- Whole Genome Sequencing-), tüm ekzon sekanslama (WES-Whole Exome Sequencing), hedef spesifik dizayn edilmiş sekanslama (targeted sequencing) en sık kullanılan başlıca yeni nesil sekanslama yöntemleridir.

2.4.3.1. Tüm Genom Sekanslama (WGS- Whole Genome Sequencing-)

WGS, kodlanmayan ve regülatuar DNA da dahil olmak üzere tüm genomun dizilenmesidir. Daha eksiksiz bir alanı kapsar. Genomun hem kodlayan hem de kodlamayan bölgelerindeki hemen hemen tüm genetik varyasyon türlerini sıralayabilir. Pahalı ve zaman alıcı bir yöntemdir.

2.4.3.2. Tüm Ekzon Sekanslama (WES- Whole Exome Sequencing-)

İnsan genomundaki genlerin ekzon adı verilen protein kodlama bölgeleri ile bunu çevreleyen intronların taranmasını sağlayan yeni nesil sekanslama yöntemidir. Bu yöntem WGS gibi genomun tamamını değil de sadece %2'lik bir bölümünü ifade eder. Fakat bu %2'lik ekzon bölgesi, bilinen mutasyonların %85'ini içerir. Bu da WES'i, WGS'e göre daha kolay, uygun maliyetli ve hızlı yapar. Bu yöntemde de WGS'de olduğu gibi, genetik testin birincil amacı ile

ilgili olmayan tesadüfi varyant genler de tespit edilebilir. Bu da yeni nedensel genleri tanımlama fırsatı sağlar ama çıkan varyantların yorumlanması zorlaşır.

2.4.3.3. Hedef Spesifik Dizayn Edilmiş Yeni Nesil Sekanslama Yöntemi

Hedef spesifik dizayn edilmiş yeni nesil sekanslama yöntemi (targeted sequencing) genetik olarak heterojen bozuklukların teşhisi için daha uygun bir yöntemdir. Seçilmiş, bilinen ya da belirli bir fenotip ile ilişkili olduğu düşünülen genlerin eş zamanlı ve yüksek verimle taranmasını kapsar. WGS veya WES'te olduğu gibi tüm genomun ya da tüm ekzonun taranması gerekmez. Bu da genlerin daha yüksek kapsamda ve derinlikte taranmasına neden olarak, tanı koymada daha verimli sonuçlar elde edilir. Diğer NGS yöntemlerinde olduğu gibi insidental bulguların ortaya çıkmasını azaltır (59-61). Yalnızca önceden seçilmiş bir gen alt kümesini içerecek şekilde tasarlanmıştır. Bu sebeple de yeni keşfedilen genleri içerecek şekilde düzenli olarak güncellenmeli ve bu bilgiler klinisyen tarafından klinik bağlamda yorumlanmalıdır. Fakat büyük miktardaki sekanslama varyasyonu ve tesadüfi bulgular NGS'de yorumlama sorununu gündeme getirmektedir. Bu sebeple Amerika Tıbbi Genetik Cemiyeti (American College of Medical Genetics and Genomics-ACMG) bu varyantları 5 gruba kategorize etmiştir: Patojenik, likely patojenik, önemi belirsiz (variant of uncertain significance-VUS), likely benign, benign. Bu varyantlar, popülasyon sıklığı, in silico tahminleri, fonksiyonel çalışma verileri, ailesel veriler, de novo mutasyonlar, varyant karakterizasyonları ve önceki çıkarımlar göz önünde bulunularak düzenlenmektedir (62). Patojenik ve benign olarak kabul edilen varyantlar neredeyse kesin olarak bilinen mutasyonlar için kullanılırken; likely

benign ve likely patojenik varyantlar %90 kesinliğinde bilinen varyantlar için ifade edilmektedir. Bu kategorilerde sınıflandırmak için yeterli kanıt düzeyi bulunmayan varyantlar için de VUS olarak rapor edilmektedir.

2.5. YENİ NESİL SEKANSLAMA YÖNTEMİNİN GENETİK GEÇİŞLİ RENAL HASTALIK TANISINDA KULLANIMI

Kapsamlı genetik araştırmaların yapıldığı bir grup da pediatrik KBH hastalarıdır. Özellikle nedeni bilinmeyen KBH olgularında NGS bize yol gösterici olmaktadır. Mann ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptığı bir çalışmada nedeni bilinmeyen KBH'ya bağlı olarak renal transplantasyon yapılmış 104 pediatrik olguda, yapılan NGS sonucunda 34 (%32,7) hastada mutant varyantlar saptanmıştır (63). Özellikle renal hastalık açısından pozitif aile öyküsü olan, ekstrarenal bulgulara sahip veya akrabalık bulunan hastalarda NGS'in, primer nedeni belli olmayan KBH olgularında tanı koymada çok önemli bir yeri olduğunu göstermektedir. Üstelik bu hastalarda, diğer aile üyeleri de taranarak, daha fazla hastaya erken tanı koyulabilme olanağı sağlar. Böylelikle renal hastalıkların KBH'ya ilerlemesi ve buna bağlı komplikasyonların azaltılması sağlanabilir.

Çoğu genetik geçişli renal hastalık, geniş bir fenotip yelpazesi ile birlikte yüksek genetik heterojeniteye sahiptir. Bu durum belirli böbrek hastalıklarını ayırt etmeyi zorlaştırabilir ve yanlış tanılara neden olabilir. NGS'in ortaya çıkışı ile birlikte, elde edilen genetik tanıya bağlı olarak örtüşen fenotipler arasında daha

kesin bir ayırım yapılması sağlanmıştır. Örneğin, klinik prezantasyon ve böbrek biyopsilerine bakılarak Alport Sendromu, mezengial proliferatif glomerülonefrit (MPGN) ve fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) arasında ayırım yapmak oldukça zordur (64). Ancak bu hastalıklar arasındaki ayırım tedavi ve klinik sonuçlar açısından büyük önem taşımaktadır. Genetik çalışmalar Alport Sendromlu hastaların da MPGN olarak benzer şekilde hatalı teşhis edildiğini göstermiştir (65).

NGS aynı zamanda primer renal hastalığın yeniden sınıflandırılmasında da önemli bir rol oynamaktadır. Braun ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmaya bakacak olursak; aile öyküsü ya da akrabalık bulunan nefronofitizis ön tanılı 79 pediatrik hastanın yapılan NGS sonucunda %64'ünde ilgili mutasyon saptanmıştır. Kayda değer %36'lık dilim ise reklasifiye edilmiştir. Böylelikle hastaların %8'i Alport Sendromu, %6'sı CAKUT, %16'sı renal tübülöpati, %4'ü ORPBH, %2'si ise otoimmün nefropati tanısı ile yeniden tanı konulmuştur (66).

Ayrıca SRNS tanılarında saptanacak ilgili mutasyon ile hastaların yoğun steroid maruziyeti azaltılarak, transplantasyona gidecek ya da immünsuprese tedavi verilecek hasta grubu belirlenebilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastaların Seçilmesi

Çalışmamız retrospektif arşiv çalışması olup, Ocak 2018- Ekim 2022 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Nefroloji Bölümü'ne başvuran, NGS laboratuvarında gen analizi yapılmış 232 pediatrik yaş grubu hasta dahil edilmesi planlanmıştır. Genetik test yapıldığındaki kronolojik yaşı 0-18 yaş aralığında olmayan, dosya taramalarında yeterli bilgiye ulaşılamayan, çalışmaya katılmayı kabul etmeyen hastalar elenerek, toplam 225 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Gen analizi yapılan bu hastaların ortak özellikleri;

- ✓ Kalıtsal kronik böbrek hastalığı riski yüksek olan,
- ✓ Ailesel ve erken başlangıçlı KBH,
- ✓ Olağan dışı hastalık seyri,
- ✓ Nedeni belirlenemeyen renal hastalıklar,
- ✓ Ailede renal hastalık öyküsü bulunan hastalar
- ✓ Genetik geçişli hastalık şüphesi olan ve renal transplantasyon planlanan hastalar için hasta-donör seçimi olarak baz alınmıştır.

Bu çalışmanın yapılabilmesi için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındı (Tarih: 02.11.2021, Karar No: 2021/977). Hasta dosyalarından, hastaların rutin kontrollerinde yapılan fizik muayene incelemeleri, laboratuvar bulguları, görüntüleme verileri, spot idrar elektrolitleri, 24 saatlik idrarda protein ve kreatinin, renal biyopsi sonuçları, hastaların akrabalık ilişkileri, göz ve işitme

muayene bulguları, NGS genetik sonucu, hasta kliniği hakkında yapılan ön tanımlar geriye dönük olarak incelendi.

Çalışmaya Alınan Hastalarda Değerlendirilen Parametreler:

1. Yaş,
2. Cinsiyet,
3. Genetik testin gönderildiği tarih,
4. Genetik testin gönderildiği tarihteki hastanın kronolojik yaşı,
5. Fizik muayene bulguları,
 - ✓ Ağırlık (kg)
 - ✓ Boy (cm)
 - ✓ Ağırlık ve boy persentilleri,
 - ✓ Başvuru kan basıncı (sistolik, diyastolik) değerleri (mmHg) ve persentilleri,
 - ✓ Patolojik muayene bulguları,
6. İdrar mikroskopik bulguları ve tam idrar tetkiki,
7. 24 saatlik idrarda protein ve kreatinin,
8. Spot idrar elektrolitleri,
9. Hastaların laboratuvar bulguları,
 - ✓ Hemogram,
 - ✓ Üre,
 - ✓ Kreatinin,
 - ✓ Sodyum,
 - ✓ Potasyum,

- ✓ Kalsiyum,
- ✓ Magnezyum,
- ✓ Fosfor,
- ✓ Ürik asit,
- ✓ pH
- ✓ HCO_3^-
- ✓ Albümin,
- ✓ Total Kolesterol,
- ✓ Trigliserid,

10. Görüntüleme verileri ve üriner ultrasonografi,

- ✓ Nefrolitiyazis,
- ✓ Nefrokalsinozis,
- ✓ Atrofik, hipoplazik ve distrofik böbrek,
- ✓ Renal ekojenite artışı ve parankimal hastalık,
- ✓ Renal kistik hastalık,

11. Renal biyopsi sonucu,

12. Görme ve işitme sorunları,

13. Ebeveynlerinde akraba evliliği ilişkisi,

14. Ailede renal hastalık öyküsü,

15. Ön tanılar,

- ✓ Renal kistik hastalık,
- ✓ Glomerüler hastalık,
- ✓ Tübüler patoloji,

✓ Renal taş,

✓ KBH,

16. Genetik inceleme sonucu,

✓ İlgili gen,

✓ Kalıtım şekli,

✓ Genotip,

✓ Fenotip,

✓ İlgili genin patojenitesi.

3.2.Kullanılan Yöntemler

Hastaların dosyası retrospektif olarak tarandı. Eksik hasta bilgilerine, hastalar telefon ile aranarak ulaşıldı. Hastaların hedef spesifik dizayn edilmiş NGS moleküler incelemeleri, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji laboratuvarında yapılmıştır. Bu analizde kullanılan, hastalardan alınan 2 ml periferel kan örneklerinden QIAamp DNA Blood Mini Kit (Cat. No. 51304) kullanılarak DNA ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. NGS işlemi için izole edilen DNA'lar, QIAseq Targeted DNA Custom Panel (Cat. No. 333525) kiti kullanılarak kütüphane haline getirilmiştir. DNA kütüphanelerinin Illumina MiSeq sekans platform kullanılarak dizileme işlemi gerçekleştirilmiştir. Hasta örneklerinden elde edilen dizi verilerinin analize uygunluğunun değerlendirilmesi ardından varyant analizi ve saptanan varyantların klinik önemini değerlendirilmesinde QCI Analyze Universal 1.5.0 ve QCI Interpret (Qiagen) veri tabanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Renal panelimizde çalışılan genler ve ilgili hastalık ilişkisi Tablo 8'de gösterilmiştir.

3.3.Verilerin İstatistiksel Analizi

Tüm rakamsal değerler, ortalama $\pm$ standart sapma, sayımla elde edilen değerler, frekans ve yüzde olarak verilmiştir. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov test ile ölçüldü. Nicel değerler arasındaki istatistiksel farklar Mann-WhitneyU, Fisher's exact test ve Chi-kare testleri ile saptandı. İstatistiksel analiz, SPSS 22.0 for Windows programı yardımı ile yapıldı. P değeri 0,05 altında ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Üç ve daha fazla kategorik grup karşılaştırmalarında anlamlı bir fark saptandığında Post-hoc analiz yapıldı.

Tablo 9. Renal panelde çalışılan genler ve hastalık ilişkisi

HASTALIK İLİŞKİSİ	GEN LİSTESİ
Bartter Sendromu	BSND, KCNJ1, SLC12A1
Alport Sendromu	COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL4A6
Fraser Sendromu	FRAS1, FREM2, WT1
Nefrotik Sendrom	LAMB2, NPHS1, NPHS2, PLCE1, PTPRO, WT1
Meckel Sendromu	B9D1, B9D2, CC2D2A, CEP290, MKS1, NPHP3, TCTN2, TMEM67, TMEM216, TMEM231, TMEM67
Joubert Sendromu	B9D1, B9D2, CC2D2A, CEP290, MKS1, NPHP1, C5orf42, TCTN2, TMEM67, TMEM216, TMEM231, TMEM237, TMEM67
Nefronofitizis	GLIS2, INVS, NPHP1, NPHP3, NPHP4, TMEM67, TTC21B
Fokal Segmental Glomerüloskleroz	ACTN4, CD2AP, INF2, MYO1E, PAX2, TRPC6
Renal Tübüler Disgenezi	ACE
Bardet Biedl Sendromu	CEP290, MKS1
COACH Sendromu (Serebellar vermis aplazisi, oligofreni, ataksi, kolobom, karaciğer fibrozisi Sendromu)	CC2D2A
Hipomagnezemi	CLDN16, FXD2
Fabry Hastalığı	GLA

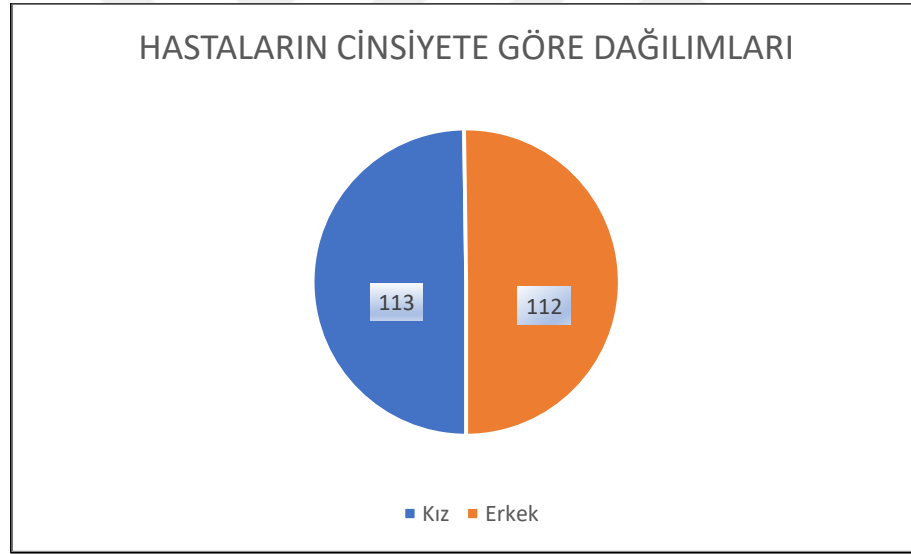
Polikistik Böbrek Hastalığı	PKD1, PKD2, PKHD1
Renal Tübüler Asidoz	ATP6V0A4, CA2, SLC4A4
Senior Loken Sendromu	CEP290, IQCB1, NPHP1, NPHP4
Pierson Sendromu	LAMB2
Nefrolitiazis	CLCN5
Primer hiperoksalüri Tip 1-2	AGXT, GRHPR
Adenin Fosforiboziltransferaz Eksikliği	APRT
Nefrojenik Diabetes İnsipidus	AVPR2
Renal Displazi ve Kist	BICC1
Multikistik Renal Displazi	CDC5L
Primer Koenzim Q10 Eksikliği, Multisistem Atrofisi	COQ2
Primer Koenzim Q10 Eksikliği Tip 3 (COQ10D3)	PDSS2
Nefropatik Sistinozis	CTNS
Sistemik Lupus Eritematozis	DNASE1L3
STAR Sendromu (Sindaktili, telekantus, anogenital ve renal malformasyon)	FAM58A
Karyomegalik İntertisyel Nefritis	FAN1
Hipoparatiroidizm, Sensörinoral İşitme Kaybı ve Renal Hastalık (HDR Sendromu)	GATA3
Familyal Amiloidozis	GSN
Renal kist ve Diabet Sendromu	HNF1B
Ochoa Sendromu (Ürofasial Sendrom)	HPSE2
Nail Patella Sendromu	LMX1B
Akut Rekürren Miyoglobüri	LPIN1
Renal-hepatik-pankreatik Displazi 2 (RHPD2)	NEK8
Ürogenital Anomaliler ile Seyreden Beyin Malformasyonu (BRMUTD)	NFIA
Renal-hepatik-pankreatik Displazi 1 (RHPD1)	NPHP3
Psödohipoaldesteronizm Tip 1 (PHA1)	NR3C2
Lowe Sendromu	OCRL
Papillorenal Sendrom	PAX2

Liddle Sendromu, Psödohipoaldesteronizm Tip 1 (PHA1),	SCNN1B
Gitelman Sendromu	SLC12A3
Sistinüri	SLC3A1
Glukoz- Galaktoz Malabsorbsiyonu	SLC5A1
Renal Glukozüri (GLYS)	SLC5A2
Sistinüri	SLC7A9
Nefrolitiazis/Osteoporozis Hipofosfatemik, 2 (NPHLOP2)	SLC9A3R1
Schimke İmmünoosseöz Displazi	SMARCA1
Vezikoüretalreflü 3 (VUR3)	SOX17
RHYNS Sendromu (Retinitis pigmentoza, hipopitüitarizm, nefronofitizis, iskelet displazisi)	TMEM67
Hiperürisemik Nefropati Tip1 , Üromodilin ilişkili Renal Hastalık	UMOD
Renal Displazi	UPK3A
Townes-Brocks Sendromu	SALL1
Psödohipoaldesteronizm Tip 1 (PHA1)	SCNN1A
Psödohipoaldesteronizm Tip 2	WNK1, WNK4
Denys-Drash Sendromu, Meacham Sendromu	WT1
Ksantinüri Tip 1	XDH
Hirschsprung Hastalığı	RET
Myoklonus Renal Yetmezlik Sendromu (AMRF)	SCARB2

4. BULGULAR

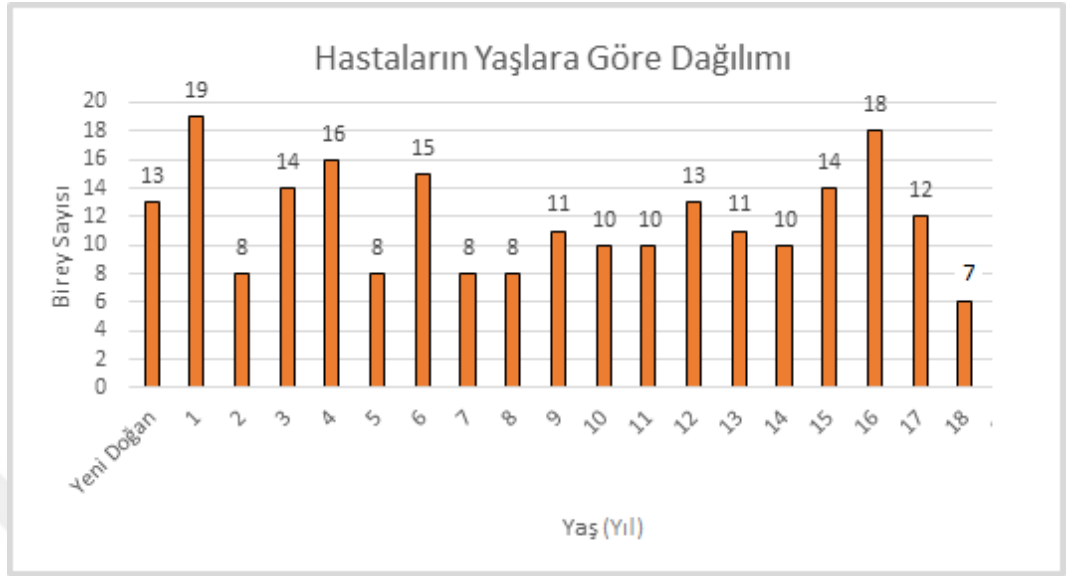
Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nefroloji Bilim Dalı'na başvuran, Ocak 2018-Ekim 2022 tarihleri arasında genetik renal hastalık ön tanısı ile renal panel çalışılmış 225 hasta retrospektif olarak incelendi.

Çalışmaya dahil edilen toplam 225 hastanın, 112 (%50)'si erkek, 113 (%50)'ü kızdı. Bu hastaların 3'ünü takip ve tedavi sürecinde ölen hastalar oluşturmaktaydı.

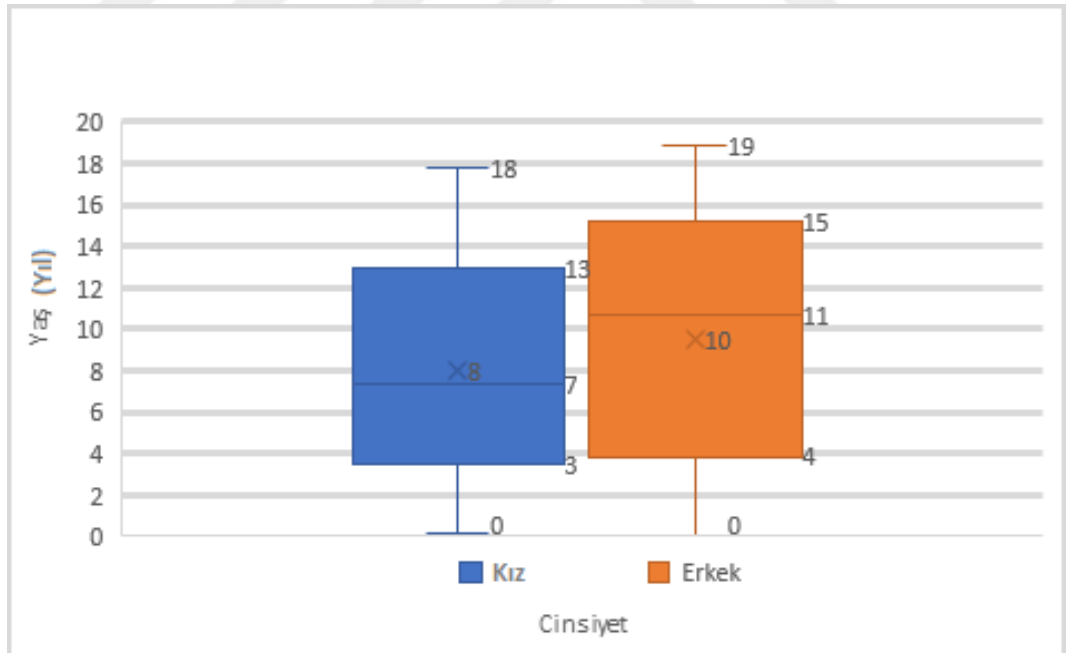


Şekil 15. Hastaların Cinsiyete Göre Dağılımları

Hastaların genetik test gönderimdeki yaş ortalamaları ise $8,63 \pm 5,55$ yıl (17 gün- 18 yıl) olarak görüldü. Bu hastaların 13'ü 1 yaş altında, 65'i 1-5 yaş aralığında, 52'si 6-10 yaş aralığında, 58'i 11-15 yaş aralığında, 37'si 16-18 yaş aralığında olarak görüldü. Cinsiyete göre yaş ortalamalarına bakıldığında ise erkek hastaların yaş ortalaması 10 yıl, kız hastaların yaş ortalaması ise 8 yıl olarak analiz edildi.



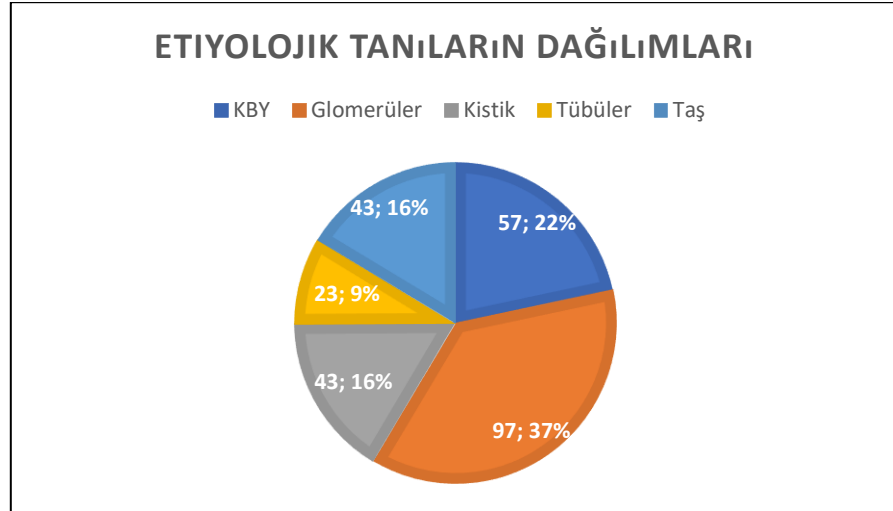
Şekil 16. Hastaların Yaşa Göre Dağılımları



Şekil 17. Hastaların Cinsiyete Göre Yaş Dağılımları

Bu hastalar etiyolojik tanılara göre kronik böbrek hastalığı, glomerüler ve tübüler ilişkili hastalıklar, renal taş ve kist hastaları olmak üzere toplam 5 farklı gruba ayrıldı. Böylelikle 57 (%22) hasta KBH, 97 (%37) hasta glomerüler, 43

(%16) hasta renal kistik, 23 (%9) hasta tübüler ve 43 (%16) hasta da renal taş hastası olarak dağılım gösterdi (Şekil 18.). Bu KBH hastalarının 5 (%8,7)'ini renal transplantasyon yapılmış olan hastalar oluşturmaktaydı. Birden fazla etiyolojik tanısı olan hastalar da gruplara dahil edildi. 10 hastada renal kist ve KBH; 3 hastada tübüler hastalık ve KBH; 1 hastada renal taş ve KBH; 2 hastada glomerüler hastalık ve renal kist, 6 hastada glomerüler hastalık ve renal taş; 1 hastada renal kist ve tübüler hastalık; 1 hastada renal kist ve taş; 8 hastada ise renal taş ve tübüler hastalık birliktelik göstermekteydi. Bazı hastalar ise ikiden fazla grupta da bulunmaktaydı. Renal taş-tübül-glomerül grubunda bulunan 1 hasta, renal taş-tübül- renal kist grubunda bulunan 1 hasta, renal taş- renal kist- KBH grubunda 2 hasta, renal taş-tübül-KBH grubunda 1 hasta, renal taş-tübül-renal kist-glomerül grubunda ise 1 hasta yer almaktaydı.

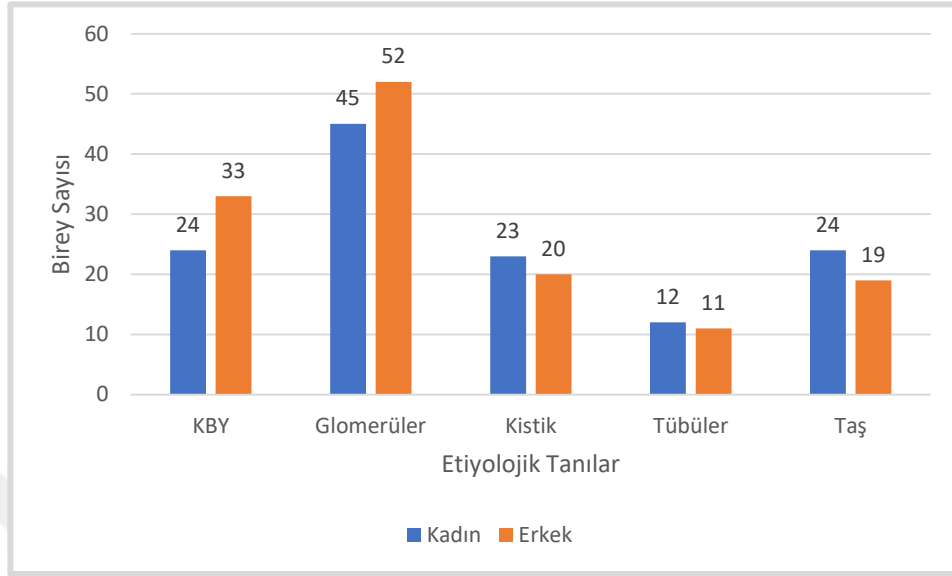


Şekil 18. Hastaların Etiyolojik Tanılara Göre Dağılımları

Tablo 10. Birden fazla etiyolojik özellik gösteren hastaların dağılımları

KBH + Kist.....	10 hasta
KBH + Tübüler Hastalık.....	3 hasta
KBH + Renal Taş.....	1 hasta
Glomerüler Hastalık + Renal Taş.....	6 hasta
Renal Kist + Tübüler Hastalık.....	1 hasta
Renal Kist + Renal Taş.....	1 hasta
Renal Taş + Tübüler Hastalık.....	8 hasta
Renal Taş + Tübüler hastalık + Glomerüler hastalık.....	1 hasta
Renal Taş + Tübüler hastalık + Renal Kist.....	1 hasta
Renal Taş + Renal Kist + KBH.....	2 hasta
Renal Taş + Tübüler hastalık + KBH.....	1 hasta

KBH hastalarının 24'ü kız, 33'ü erkek; glomerüler hastaların 45'i kız, 52'si erkek; kistik hastaların 23'ü kız, 20'si erkek; tübüler hastaların 12'si kız, 11'i erkek; renal taş hastalarının ise 24'ü kız, 19'u erkek olarak görüldü. Gruplar arasındaki cinsiyet ilişkisi birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,631$).



Şekil 19. Etiyolojik Tanılara Göre Cinsiyet Dağılımları

Hastaların kliniğe ilk başvuru bulguları değerlendirildiğinde ise laboratuvar bulguları olarak, 57 (%25,3) hastada kreatinin yüksekliği, bu kreatinin yüksekliği bulunan hastaların 31 (%54,4)'inde GFR >60 ml/dk, 15 (%26,4)'inde GFR <60 ml/dk, 11 (%19,2)'inde GFR <30 ml/dk olarak görüldü. 89 (%39,5) hastada hematüri, 140 (%62,2) hastada proteinüri, 65 (%28,8) hastada hem hematüri hem proteinüri, 21 (%9,3) hastada metabolik asidoz, 12 (%5,3) hastada metabolik alkaloz, 52 (%23,1) hastada elektrolit bozukluğu saptandı. Elektrolit bozukluğu olan bu hastalarda; 13 (%5,7) hastada sodyum bozukluğu, 34 (%15,1) hastada potasyum bozukluğu, 43 (%19,1) hastada kalsiyum bozukluğu, 32 (%14,2) hastada magnezyum bozukluğu saptandı. Ultrasonografik bulgular olarak ise 33 (%14,6) hastada nefrolitiazis, 15 (%6,6) hastada nefrokalsinozis, 38 (%16,8) hastada renal kist ve 69 (%30,6) hastada ise renal ekojenite artışı görüldü. 16 (%7,1) hastada işitme bozukluğu, 9 (%4) hastada görme bozukluğu saptandı.

Tablo 11. Hastaların başvuru bulguları

Bulgular	Sayı (n)	Yüzde (%)
Kreatinin yüksekliği	57	%25,3
GFR >60 ml/dk	31	%54,4
GFR <60 ml/dk	15	%26,4
GFR <30 ml/dk	11	%19,2
İdrar mikroskopi Bulguları	164	%72,8
Hematüri	89	%39,5
Proteinüri	140	%62,2
Hematüri + Proteinüri	65	%28,8
Metabolik Asidoz	21	%9,3
Metabolik Alkaloz	12	%5,3
Elektrolit Bozukluğu	52	%23,1
Sodyum bozukluğu	13	%5,7
Potasyum bozukluğu	34	%15,1
Kalsiyum bozukluğu	43	%19,1
Magnezyum bozukluğu	32	%14,2
Ultrason Bulguları	127	%56,4
Nefrolitiyazis	33	%14,6
Nefrokalsinozis	15	%6,6
Kist	38	%16,8
Ekojenite artışı	69	%30,6
İşitme Bozukluğu	16	%7,1
Görme Bozukluğu	9	%4

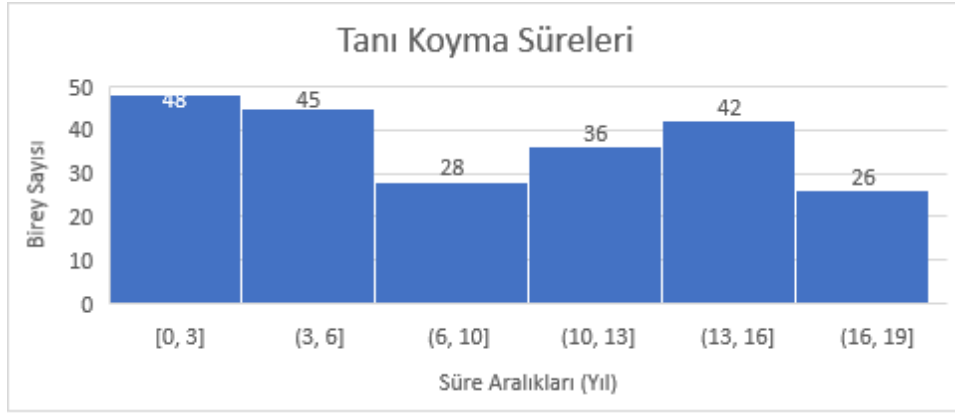
Hastalar demografik olarak incelendiğinde 64 (%28,8) hastanın ailesinde akraba evliliği ile 92 (%40,8) hastanın ailesinde renal hastalık öyküsü pozitif olarak saptandı. Bu hastalar gruplara göre bakıldığında, 57 KBH hastasının 17 (%29,8)'sinde akraba evliliği öyküsü; 22 (%38,5)'sinde ise ailede renal hastalık öyküsü (+) olarak saptandı. Glomerüler hasta grubunda ise, 97 hastanın 28

(%28,8)'sinde akraba evliliği öyküsü, 36 (%37,1)'sında ailede renal hastalık öyküsü (+) saptandı. 43 renal taş grubunun 15 (%34,8)'inde akraba evliliği öyküsü, 17 (%39,5)'sinde ailede renal hastalık öyküsü (+) olarak saptandı. 23 renal tübül hastasının ise 13 (%56,5)'ünde akraba evliliği öyküsü, 10 (%43,4)'unda ailede renal hastalık öyküsü (+) olarak saptandı. Son olarak renal kist grubunda ise toplam 43 hastanın 6 (%13,9)'sında akraba evliliği öyküsü, 23 (%53,4)'ünde ailede renal hastalık öyküsü (+) olarak saptandı. Gruplar arası akraba evliliği öyküsü ve ailede renal hastalık öyküsü birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 12. Hastalık gruplarının akrabalık ve ailede renal hastalık ilişkisi

Hastalık Grubu Öyküsü	Akrabalık Öyküsü		Ailede Renal	Hastalık
	Var (n/%)	Yok (n/%)	Var (n/%)	Yok (n/%)
ve Hasta Sayıları				
KBH	17 (%29,8)	40 (%70,2)	22 (%38,5)	35 (%61,5)
Glomerül	28 (%28,8)	69 (%71,2)	36 (%37,1)	61 (%62,9)
Kist	6 (%13,9)	37 (%86,1)	23 (%53,4)	20 (%46,6)
Taş	15 (%34,8)	28 (%65,2)	17 (%39,5)	26 (%60,5)
Tübüler	13 (%56,5)	10 (%43,5)	10 (%43,4)	13 (%56,6)

Hastaların NGS gönderilme tarihleri dikkate alındığında, tanı koyulması için geçen süreler, 48 (%21,3) hastada 0-3 yıl, 45 (%20) hastada 3-6 yıl, 28 (%12,4) hastada 6-10 yıl, 36 (%16) hastada 10-13 yıl, 42 (%18,6) hastada 13-16 yıl, 26 (%11,5) hastada da 16-18 yıl olarak görüldü.



Şekil 20. Hastaların Tanı Koyulma Süreleri

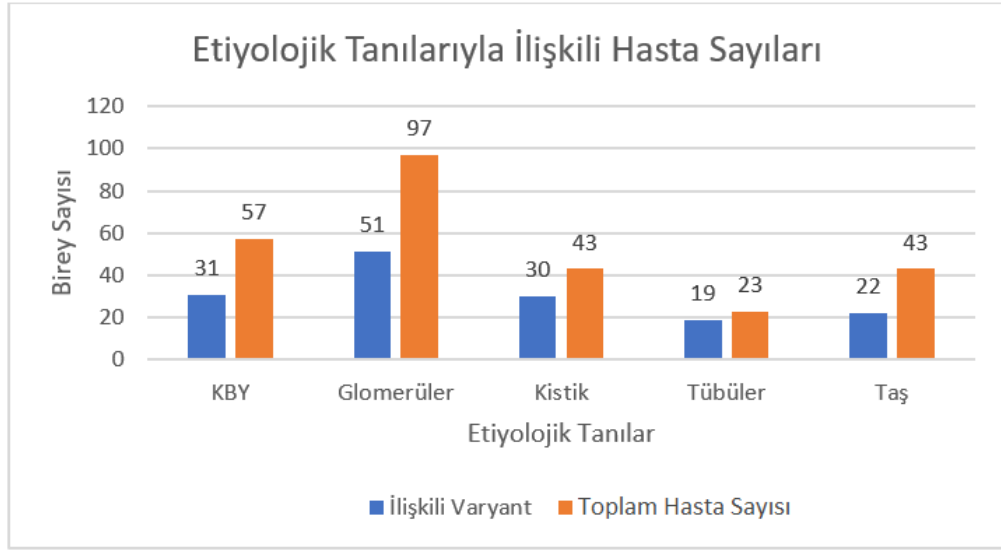
Hastaların NGS sonuçları incelendiğinde 57 KBH hastasının 31 (%54,4)'inde klinik ile ilişkili gen mutasyonu, 15 (%26,3)'inde klinik ile ilişkisiz gen mutasyonu saptandı. 11 (%19,3) hastada mutasyon saptanmadı.

97 glomerüler hastanın 51 (%52,6)'inde klinik ilişkili gen mutasyonu, 20 (%20,6)'sinde klinik ilişkisiz gen mutasyonu saptanırken, 26 (%26,8)'sında mutasyon saptanmadı.

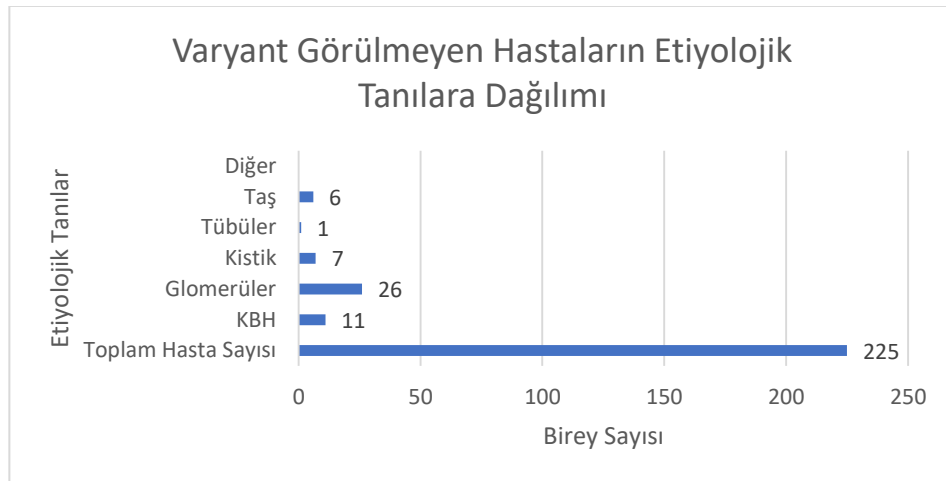
43 renal kist hastasının 30 (%69,8)'unda klinik ilişkili gen mutasyonu, 6 (%14)'sında klinik ilişkisiz gen mutasyonu saptanırken, 7 (%16,3)'sinde mutasyon saptanmadı.

23 renal tübüler hasta grubunda da, 19 (%82,6) hastada klinik ilişkili gen, 3 (%13) hastada klinik ilişkisiz gen saptanırken, 1 (%4,3) hastada mutasyon saptanmadı.

Renal taş hastaları grubuna bakıldığında ise, toplam 43 hastanın 22 (%51,2)'sinde klinik ilişkili gen mutasyonu, 15 (%34,9)'inde klinik ile ilişkisiz gen mutasyonu saptanıp, 6 (%14) hastada mutasyon saptanmadı.



Şekil 21. Hastalık ile İlişkili Gen Saptanma Dağılımları



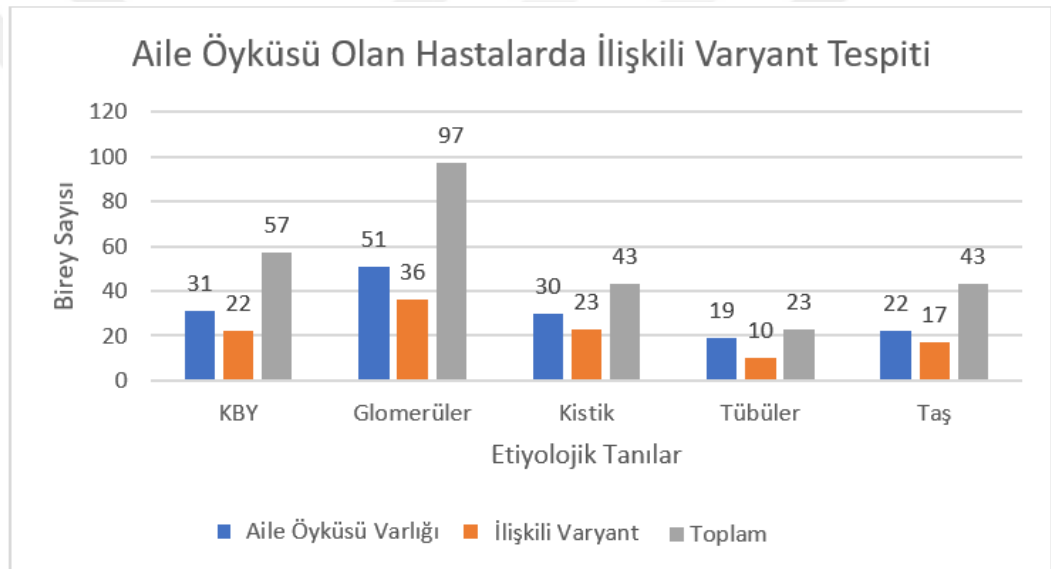
Şekil 22. Mutasyon Saptanmayan Hastaların Dağılımları

Hastalık grupları arasındaki ilişkili / ilişkisiz gen saptanma verileri analiz edildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edildi ($p=0,036$). Gruplar arası ilişkili gen saptanmaları birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında yine

anlamli bir sonuç elde edilmiştir ($p<0,05$). Üç ve daha fazla kategorik grup karşılaştırmasında anlamli bir sonuç saptanması sebebiyle Post-hoc analiz yapıldı. Bu istatistiksel farkın tübüler hastalar ile renal taş, glomerül, KBH hastaları arasındaki farktan ve renal taş hastaları ile renal kist hastaları arasındaki ilişkisiz gen saptanmaları arasındaki farktan kaynaklandığı görüldü. Gruplar arası mutasyon saptanamama durumları birbirleri ile karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamli bir fark bulunamamıştır ($p=0,098$).

KBH/ Renal Kist/ Glomerüler/ Tübüler/ Renal Taş hastalarında ailede renal hastalık öyküsü (+) olan hastalar dikkate alındığında, NGS ile saptanan ilişkili gen durumları incelendiğinde; KBH hastası olup ailesinde renal hastalık bulunan 31 hastanın 22 (%70,9)’sinde, glomerüler hastaların içinde yer alan ve ailesinde renal hastalık öyküsü bulunan 36 hastanın 23 (%63,8)’ünde, renal tübüler hastalığa sahip olup ailesinde renal hastalık bulunan 10 hastanın 8 (%80)’inde, renal kist hastalığına sahip olup ailesinde renal hastalık bulunan 23 hastanın 17 (%73,9)’sinde, renal taşı olup ailesinde de renal hastalık bulunan 17 hastanın 8 (%47)’inde hastalık ile ilişkili gen saptanmıştır. Bu gruplar kendi içerisinde, ailede renal hastalık öyküsü bulunan hastaların NGS ile ilişkili mutasyon saptanması karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli bir fark saptanmıştır ($p=0,042$). Gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında ise yine istatistiksel olarak anlamli bir fark bulunmaktadır. Bu fark kist hastaları ile KBH hastaları arasında ve renal kist hastaları ile renal taş hastaları arasındaki istatistiksel farktan kaynaklanmaktadır.

Sonuçta KBH'sı olup ilişkili mutasyon saptanan 31 hastanın 10 (%32,3)'unda glomerüler hastalığı olup ilişkili mutasyon saptanan 51 hastanın 23 (%45,1)'ünde, tübüler hastalığı olup ilişkili mutasyon saptanan 30 hastanın 17 (%56,7)'sinde, renal kist hastası olup ilişkili mutasyon saptanan 19 hastanın 8 (%42,1)'inde, renal taşı olup ilişkili mutasyon saptanan 22 hastanın 8 (%36,4)'inde ailede renal hastalık öyküsü (+) olarak saptanmıştır.

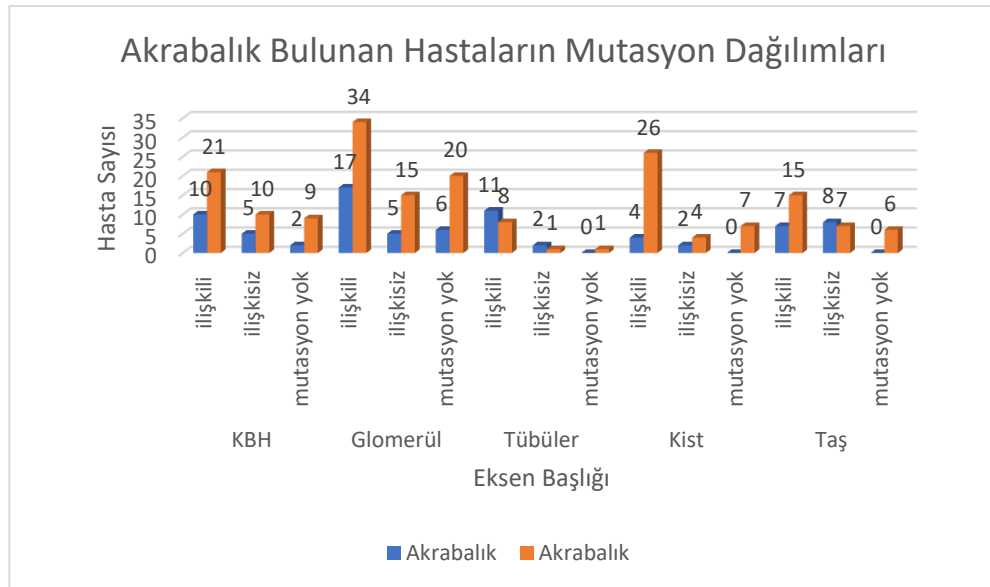


Şekil 23. Ailede Renal Hastalık Öyküsü Bulunan Hastaların İlişkili Gen Saptanma Durumları

Hasta grupları kendi içerisinde akraba evliliği öyküsü bulunma durumları ile ilişkili/ilişkisiz gen saptanması durumları incelendiğinde, KBH hastalığı ile akraba evliliği öyküsü bulunan toplam 17 hastanın 10 (%58,8)'unda ilişkili gen saptanırken, 5 (%29,4)'inde ilişkisiz gen saptandı. 2 (%11,7) hastada ise herhangi bir mutasyon saptanmadı. Akraba evliliği bulunan 28 glomerül ilişkili hastanın 17 (%60,7)'sinde ilişkili mutasyon, 5 (%17,8)'inde ilişkisiz mutasyon saptanırken, 6

(%21,4)'sında mutasyon saptanmadı. Akraba evliliği bulunan 6 renal kist hastasının 4 (%66,6)'ünde ilişkili mutasyon, 2 (%33,3)'sinde ilişkisiz mutasyon saptandı. Akraba evliliği bulunan 13 renal tübüler hastanın 11 (%84,6)'inde ilişkili mutasyon, 2 (%15,3)'sinde ilişkisiz mutasyon saptandı. Akraba evliliği bulunan 15 renal taş hastasının 7 (%46,6)'sinde ilişkili mutasyon, 8 (%53,3)'inde ilişkisiz mutasyon saptandı.

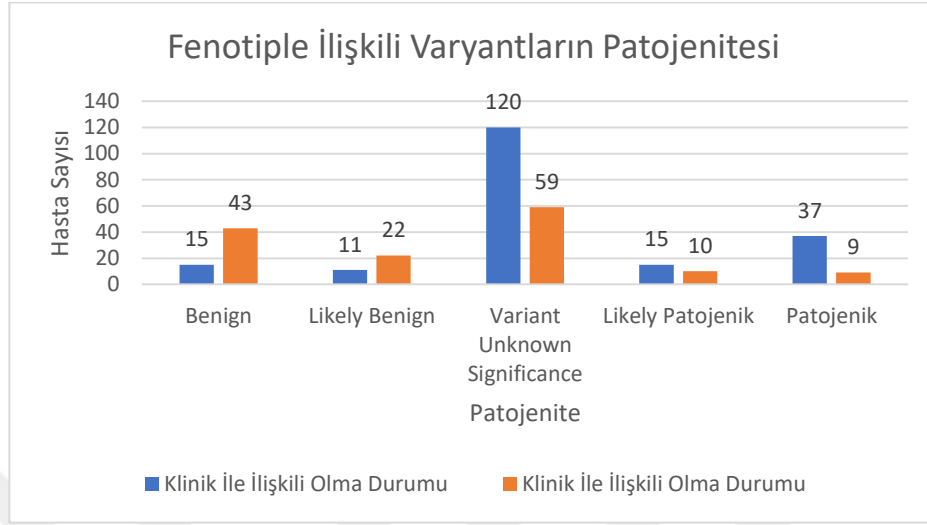
Sonuçta 31 genetik ilişkili bulunan KBH hastasının 10 (%32,3)'unda, 51 genetik ilişkili bulunan glomerüler hastanın 17 (%33,3)'sinde, 30 genetik ilişkili bulunan renal kist hastasının 4 (%13,3)'ünde, 19 genetik ilişkili bulunan renal tübüler hastanın 11 (%57,9)'inde, 22 genetik ilişkili bulunan renal taş hastasının 7 (%31,8)'sinde akraba evliliği saptandı.



Şekil 24. Akrabalık Bulunan Hastaların Mutasyon Saptanma Durumları

Bu gruplar kendi aralarında ve birbirleriyle ayrı ayrı karşılaştırıldıklarında ilişkili gen saptanmaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmamıştır ($p=0,462$).

Saptanan genler ele alındığında ise toplam 58 ‘benign’ mutasyon saptandı. Bu mutasyonların 15 (%25,8)’i klinik ile ilişkili, 43 (%74,2)’ü klinik ile ilişkisiz olarak değerlendirildi. Saptanan 33 ‘likely benign’ mutasyonun 11 (%33,3)’i klinik ilişkili, 22 (%66,7)’si klinik olarak ilişkisiz değerlendirildi. Toplam 179 adet saptanan ‘VUS’ mutasyonun, 120 (%67)’si klinik ile ilişkili, 59 (%33)’u klinik ile ilişkisiz olarak değerlendirildi. 25 adet saptanan ‘likely patojenik’ mutasyonun 15 (%60)’i klinik ile ilişkili, 10 (%40)’u klinik ile ilişkisiz olarak saptanırken; 46 ‘patojenik’ mutasyonun 37 (%80,4)’si klinik ile ilişkili, 9 (%19,6)’u klinik ile ilişkisiz olarak saptandı. Bu gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). Yapılan ileri analizlerde bu farkın Benign*VUS ($p<0,001$), Benign*Likely Patojenik ($p=0,003$), Benign*Patojenik ($p<0,0001$), Likely Benign*VUS ($p<0,0001$), Likely Benign* Patojen ($p<0,0001$) arasındaki farktan kaynaklandığı görüldü.



Şekil 25. Fenotiple İlişkili Varyantların Patojenitesinin Klinik ile İlişki Durumuna Göre Dağılımı

Hastalar Alport Sendromu açısından ele alındığında ise, kliniğe sadece hematüri ile başvuran toplam 24 hastanın 12 (%50)'sinde Alport Sendromu ile ilişkili anlamlı genetik mutasyon saptanırken, kalan 12 (%50) hastada Alport Sendromu açısından ilişkili gen saptanmadı. Sadece proteinüri ile gelen toplam 74 hastada ise, Alport Sendromu ile ilişkili gen saptanmadı. Hem hematürisi hem de proteinürisi bulunan toplam 65 hastanın, 18 (%27,7)'inde Alport Sendromu ile ilişkili mutasyon saptanırken, 47 (%72,3)'sinde Alport Sendromu ile ilişkili gen saptanmadı. Bu durumlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Sadece hematüri ile polikliniğe başvuran hastaların Alport Sendromu ile ilişkili mutasyon saptanması ile hematüri ve proteinüri birlikte polikliniğe başvuran hastaların NGS ile Alport Sendromu açısından ilişkili gen saptanması arasında anlamlı bir fark saptandı ($p<0,05$). Hematüri ile gelen hastalarda Alport Sendromu görülme sıklığı, hematüri ve proteinüri birlikte görülen hastalara oranla daha fazla görüldü.

Tablo 13. İdrar mikroskopik bulgularına göre Alport ilişkili gen dağılımı

İdrar Mikroskopisi	Alport İlişki Durumu	
	İlişki var (n/%)	İlişki Yok (n/%)
Sadece Hematüri	12 (%50)	12 (%50)
Sadece Proteinüri	0 (%0,00)	74 (%100)
Hematüri +Proteinüri	18 (%27,7)	47 (%72,3)

Alport Sendromu geni ile ilişkili mutasyon saptanan 30 hastanın 4 (%13,3)'ünde işitme sorunu bulunurken, 26 (%86,7)'sında işitme sorunu saptanmamıştı. Buna ek olarak, bu 30 hastanın 2 (%6,6)'sinde de görme sorunu bulunurken, 28 (%93,4)'inde görme problemi yoktu.

Tablo 14. Alport ilişkili gen mutasyonu saptanan hastaların işitme ve görme bulguları

Ek hastalık	Var (n/%)	Yok (n/%)
İşitme Sorunu	4 (%13,3)	26 (%86,7)
Görme Sorunu	2 (%6,6)	28 (%93,7)

Kist hastaları idrar mikroskopik bulgularına göre analiz edildiğinde toplam 43 renal kist hastasının 2 (%4,7)'sinde hematüri, 14 (%32,6)'ünde proteinüri, 7 (%16,3)'sinde hem hematüri hem proteinüri saptandı. 20 (%46,5) hastada hiçbir idrar mikroskopik bulgusu bulunmamaktaydı. Bu veriler birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,005$).

Renal taş hasta grubunda bulunan toplam 43 hastanın 6 (%14)'sında hematüri, 9 (%20,9)'unda proteinüri, 8 (%18,6)'inde hem hematüri hem de proteinüri bulunmaktaydı. 20 (%46,5) hastada ise renal kist hastalarında olduğu gibi hiçbir idrar mikroskopik bulgusu bulunmamaktaydı. Renal taş hastalarının idrar bulguları istatistiksel olarak incelendiğinde yine anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 15. Renal kist ve taş hastalarının idrar mikroskopik bulguları dağılımı

İdrar Mikroskopik Bulgusu	Kist Hastası (n/%)	Taş hastası (n/%)
Hematüri	2 (%4,7)	6 (%14)
Proteinüri	14 (%32,6)	9 (%20,9)
Hematüri + Proteinüri	7 (%16,3)	8 (%18,6)
Yok	20 (%46,5)	20 (%46,5)

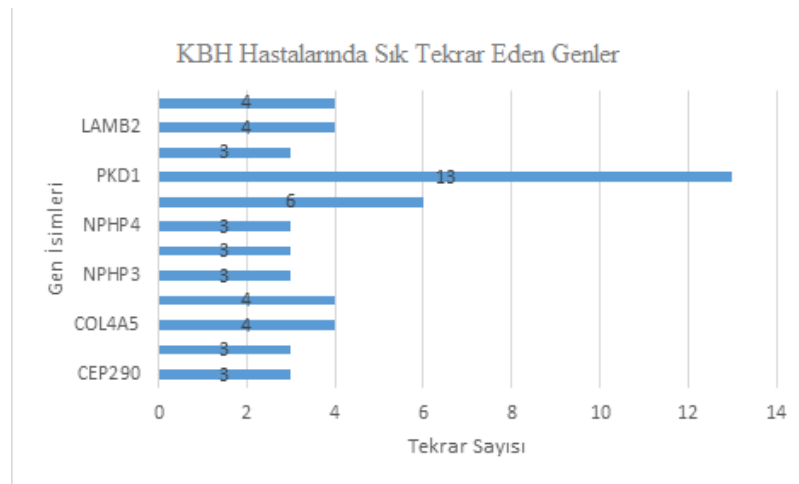
Renal taş hastalarında bakılan serum kalsiyum düzeyleri incelendiğinde toplam 43 taş hastasının 2 (%4,7)'sinde kalsiyum seviyesi düşük, 31 (%72,1)'inde kalsiyum seviyesi normal, 10 (%23,3)'unda ise kalsiyum seviyesi yüksek olarak değerlendirildi. Bu analizde renal taş hastalarının kalsiyum seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0,016$).

Metabolik alkalozu bulunan hastaların renal tübüler patolojilere yönelik ilişkili genetik mutasyon saptanma sıklıkları değerlendirildi. Metabolik alkalozu bulunan 12 hastanın 10'u tübüler patoloji ön tanısı düşünülmüş ve genetik test

gönderilmiştir. Bu 10 hastanın, 8 (%80)'inde klinik ilişkili gen, 1 (%10)'inde klinik ile ilişkisiz gen saptanmıştır. 1 (%10) hastada da mutasyon saptanamamıştır.

Çalışmamızda renal kistik hastalığı olan ve Alport Sendromu kliniği olup klinik ile ilişkili gen saptanan hastaların KBH geliştirmeleri açısından incelendiğinde, 43 kist hastasının 12 (%27,9)'sinin KBH olduğu görülmüştür. Bu 12 renal kist ve KBH hastasının 6 (%50)'sında, renal kistik hastalık açısından anlamlı mutasyon saptanmıştır. Alport Sendromu ile ilişkili gen mutasyonu saptanan 30 hastanın 7 (%23,3)'sinin de KBH olduğu görülmüştür.

KBH hastalarında en sık tekrarlayan gen mutasyonları incelendiğinde ise, 97 tane KBH hastasında; 13 (%13,4) hastada PKD1, 6 (%6,1) hastada PLCE1, 4 (%4,1) hastada PKHD1, 4 (%4,1) hastada LAMB2, 4 (%4,1) hastada CPLANE1, 4 (%4,1) hastada COL4A5, 3 (%3,1) hastada UMOD, 3 (%3,1) hastada NPHP4, 3 (%3,1) hastada FRAS1, 3 (%3,1) hastada NPHP3, 3 (%3,1) hastada COL4A3, 3 (%3,1) hastada CEP290, 1 (%1) hastada da OSGEP mutasyonu saptanmıştır.



Şekil 26. KBH Hastalarında Sık Tekrar Eden Genler

5. TARTIŞMA

Kalıtsal böbrek hastalıkları, çocukluk çağı kronik böbrek hastalıklarının en önemli nedenlerinden birini oluşturmaktadır. Yetişkinler ile karşılaştırıldığında, bu hastalıklar çocukluklarda daha sık gözlenmekte ve SDBY'ye kadar ilerleyebilmektedirler (67). Sonuçta kalıtsal böbrek hastalıkları, çocuklarda büyüme gelişme geriliğine, morbidite ve mortalitenin artmasına, hastanın ve ailesinin yaşam kalitesinin düşmesine neden olup, hastaya renal replasman tedavileri (hemodiyaliz, periton diyalizi, transplantasyon gibi) verilmesini gerektirmektedir (68). Aynı zamanda hem hasta ve ailesi, hem de hastaneler ve sağlık çalışanları için, gerek sosyoekonomik gerekse iş gücü ve zaman kullanımı açısından önemli kayıplara neden olmaktadır. Günümüzde KBH ve SDBY olan hastalarda prognoz, medikal tedavilerin ve diyaliz tekniklerinin gelişmesi, transplantasyon ve komplikasyonların yönetimindeki başarı her ne kadar arttırılsa da; bu hastalıkların erken teşhis edilerek koruyucu önlemlerin alınması önemlidir. SDBY'ye ilerleyen hastaların yaklaşık %17'sinin etiyolojisi bilinmemekte ve çoğu kez de benzer klinik tablolar ile hastaneye başvurmaktadır. Bu süreç tanı konma süresini uzatmakta ve zorlaştırmaktadır (69).

Çocukluk çağı KBH'ya neden olan renal hastalıkların %70'inden fazlasını CAKUT, steroid dirençli nefrotik sendrom, kronik glomerülonefritler, renal kistik siliyopatiler ve podositopatiler oluşturmaktadır (70). Renal taş ve kist hastaları, sendromik hastalıklar ile multisistemik tutulumlu diğer hastalıklar, çocukluk çağı KBH'ya neden olan diğer hastalık gruplarını oluşturmaktadır.

Renal hastalığı bulunan hastaların yaklaşık %25’inde ailede renal hastalık öyküsünün pozitif olması, renal hastalıkların genetik ilişkisinin önemini açıkça vurgulamaktadır (9). Literatüre bakıldığında kalıtsal böbrek ve ürogenital sistem hastalıkları her geçen gün daha da artmakta olup, 600’den fazla böbrek ile ilişkili genetik bozukluk saptanmıştır (11). Genetik ilişkisi bulunan bu hastalıklarda, günümüz genetik test teknolojilerindeki ilerleme sayesinde hastalığın evresinden bağımsız bir şekilde moleküler tanılar koyulabilmektedir. Böylelikle bu genetik çalışmaların klinik tanı ve araştırmalarda kullanımı gittikçe artmaktadır. Non-invaziv olması özellikle çocuklarda büyük bir konfor sağlanmakta olup, üstelik tanı süresini de kısaltabilmektedir. Yine patoloğların non-spesifik bulgular içeren ya da benzer patolojiye sahip tanı zorluğu olan preparatların, kesin tanıları koymalarına da yardımcı olabilir. Aile planlanmasında, diğer aile bireylerinin araştırılmasında, hastalıkların klinik belirtileri henüz olmayan bireylerin erken teşhis ve tedavilerinde önemli olup; böbrek nakillerinde donör belirlenmesinde sağlam böbrek seçimini de kolaylaştırarak olabilecek yanlış kararların alınması önlenir (4, 71).

Hastanemiz, Türkiye’de kurulan ilk NGS laboratuvarlarından birine sahip olup, bu konuda referans laboratuvarlardan biridir. Çalışmamızda, hedef spesifik dizayn edilmiş NGS’in, genetik geçişli renal hastalık düşünülen pediatrik yaş grubu hastalardaki önemini göstermek amacıyla, yarısı kız yarısı erkek olmak üzere toplam 225 hasta dahil edildi. Bu hastaların 3’ünü takip ve tedavi sürecinde hayatını kaybeden hastalar oluşturmaktaydı. En küçük hasta 10 günlük bir yenidoğan iken, en büyük hasta da 18 yaşında olan bir hastaydı. Tüm bu

hastaların yaş ortalaması $8,63 \pm 5,55$ yıl, kız hastaların yaş ortalaması 8 yıl, erkek hastaların ise 10 yıl olarak saptandı. Hastalar KBH, glomerüler ve renal tübüler ilişkili hastalar, renal taş ve kist hastaları olmak üzere toplam 5 gruba ayrıldı. 57 (%22) hasta KBH, 97 (%37) hasta glomerüler ilişkili hasta, 43 (%16) hasta renal kist hastası, 23 (%9) hasta renal tübüler ilişkili hasta ve 43 (%16) hasta da renal taş hastası olarak dağılım gösterdi. Bazı hastalar birden fazla grupta da yer almaktaydı (Tablo 9.).

KBH hastalarında kız/erkek oranı 1/1,4; glomerüler hastaların kız/erkek oranı 1/1,25; renal kist hastaların erkek/kız oranı 1/1,15; tübüler hastaların erkek/kız oranı 1/1,09; renal taş hastalarının ise erkek/kız 1/1,26 olarak görüldü. Gruplar içerisinde cinsiyetler arasında belirgin bir fark yoktu. Genel popülasyondaki KBH grubunda NGS ile hastalık ilişkili gen saptanma durumu incelendiğinde, 57 hastanın 31 (%54,4)'inde ilişkili mutasyon saptandı. Bu durum istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir. Literatür ile karşılaştırıldığında Devuyst ve arkadaşlarının 2014 yılındaki; Vivante ve Hildebrandt'ın 2016 yılındaki çalışmasında görülüyor ki, erken başlangıçlı KBH olgularının %20'sinde klinik ile ilişkili mutasyon saptanmıştır (70, 72). KBH grubumuzda hastalık ilişkili gen saptama oranının daha yüksek olması, çalışmaya alınan hasta seçiminde tarafımızca takip edilen, kliniği iyi bilinen ve tanı zorluğu olan hastalardan seçilmiş olması olarak düşünüldü. 11 (%19,3) hastada ise herhangi bir mutasyon saptanmadı. Mutasyon saptanamayan bu grubun, renal panelimizde çalışılmayan gen mutasyonlarından birine sahip olabileceği akılda bulunmalıdır. KBH çalışma grubumuzda istatistiksel test, ailede renal hastalık öyküsü bulunan 31 hasta baz

alınarak tekrarlandığında ise, bu oran %70,9'a (n=22) kadar çıkmaktadır. Bu durum ailesinde renal hastalık öyküsü bulunan KBH hastalarında çalışılan NGS'te ilişkili gen saptama başarısının daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Literatürde, Mallett ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptığı çalışmada ise, ailede renal hastalık öyküsü pozitif olan KBH hastalarında uygulanan NGS ile tanı koyma başarısı %46 olarak saptanmıştır (73). Çalışmamızda aile öyküsü pozitif olan KBH hasta grubunda tanı koyma başarısının daha yüksek saptandığını görmekteyiz. 5 (%8,7) KBH hastasında da ailesinde renal hastalık öyküsü bulunmasına rağmen, NGS sonucunda mutasyon saptanmamıştır. Bu hasta grubunda klinisyen kararı ile daha ileri bir genetik inceleme ya da yeni keşfedilen genleri içeren renal panel ile testin tekrar edilmesi düşünülebilir.

Glomerül grubuna bakıldığında ise, 97 hastanın 51 (%52,6)'inde klinik ile ilişkili gen mutasyonu saptandı. Bu oran bizim KBH hasta grubumuz ile benzer olup, istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Glomerül hasta grubumuzda NGS ile klinik ilişkili mutasyon saptama başarısı, literatürdeki G. Bullich ve arkadaşlarının 2018 yılında 98 glomerül hastasında yaptığı çalışma ile benzerlik göstermektedir. G. Bullich ve arkadaşları da çalışmalarında 61 (%62) glomerül hastasında klinik tanıya uygun mutasyon saptamışlardır (2). Glomerül ilişkili hasta grubu daha detaylı ele alındığında ise, 36 glomerül hastasının ailesinde renal hastalık öyküsü bulunduğu ve bu hastaların 23 (%63,8)'ünde NGS ile birlikte klinik ilişkili mutasyon saptandığı görülmüştür. Bu oran KBH grubunda aile öyküsü (+) olan hastalardakine benzer olarak değerlendirildi. İstatistiksel olarak da bu oran, ailesinde renal hastalık öyküsü pozitif olan glomerül ilişkili

hastalarda, NGS'in klinik tanı koyma başarısını göstermektedir. Ailede renal hastalık öyküsü bulunan 6 (%11,7) glomerül hastasında ise gönderilen NGS sonucunda herhangi bir mutasyon saptanmamıştır. Bu oran KBH çalışma grubumuzdaki ile benzerdir. Bu hasta grubunda da ileri genetik inceleme yapılabilir.

Çalışmamızda, renal kist hastalarında ilişkili gen saptanma oranları KBH ve glomerül ilişkili hastalardaki genel popülasyon ile karşılaştırıldığında önemli bir fark dikkat çekmiştir. 43 renal kist hastasının 30 (%69,8)'unda klinik ile ilişkili gen mutasyonu saptanmıştır. Bu da renal kist hastalarında NGS ile ilişkili gen saptama başarısının KBH ve glomerül grubuna oranla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu oran, G. Bullich ve arkadaşlarının 207 kist hastası ile yaptığı çalışma ile karşılaştırıldığında, oranların birbirine yakın olduğu görülmüştür. G. Bullich ve arkadaşları 161 (%78) renal kist hastasında klinik ilişkili mutasyon saptamıştır (2). Çalışmamızdaki 7 (%16,3) renal kist hastasında ise herhangi bir mutasyon görülmemiştir. Ailesinde renal hastalık öyküsü bulunan 23 renal kist hastasında bakılan detaylı istatistiksel incelemede ise, klinik ile ilişkili gen saptanma oranının %73,9 (n=17) olduğu görülmüştür. Bu oran genel popülasyondaki renal kist hastaları ile benzer olarak saptanmış olup, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Ailesinde renal hastalık öyküsü bulunan 23 renal kist hastasının 17 (%73,9)'sinin ailesinde de renal kist öyküsü bulunmaktadır. Genetik çalışma grubu sadece ailesinde kist öyküsü (+) olan renal kist hastaları ile sınırlandırıldığında, bu 17 hastanın tamamında da klinik ilişkili genetik mutasyon saptanmıştır. Bu durum renal kist hastalarında genetik çalışmanın tanı ve

tedavideki önemini vurgulamaktadır. 23 renal kist hastasının 12 (%52,1)'sinin aynı zamanda KBH oldukları görülmüştür. 12 hastanın kiste sekonder KBH olma durumları değerlendirildiğinde, 6 (%50) hastada KBH olmasını açıklayan başka bir mutasyon saptanmayıp, sadece kist ile ilişkili mutasyon görülmüştür. Bu hastaların genetik tarama ile, erken tanı konularak takibe başlanabileceği ve böylelikle KBH olma süresinin uzatılabileceği kanısına varıldı.

Çalışmamızda renal tübül hastaları değerlendirildiğinde, genetik olarak hastalık ilişkili gen saptanma oranları KBH, glomerül ve renal kist grubundan oldukça yüksektir. 23 tübüler hasta grubunun 19 (%82,6)'unda da klinik ilişkili gen bulunmuştur. Sadece 1 (%4,3) hastada mutasyon saptanmamıştır. Grup kendi içerisinde, ailesinde renal hastalık bulunan tübül hastaları olarak değerlendirildiğinde ise 10 hastanın 8 (%80)'inde klinik ilişkili gen saptanmıştır. Bu oran genel tübül popülasyonu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Literatürdeki renal tübülopati hastalarında bakılan NGS ile karşılaştırıldığında, Ashton ve arkadaşlarının 384 renal tübülopati hastasını NGS ile değerlendirdiği çalışmada, 245 hastada (%64) mutasyon gözlenerek tanı genetik ile koyulmuştur (74). Bizim çalışmamızda bu oranın daha yüksek olduğunu görmekteyiz. Bu sonucun, hasta seçiminin takipli olan, kliniği iyi bilinen ve tanı zorluğu olan hastalardan oluşmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Renal taş hastalarında klinik ile ilişkili gen saptanma oranı, 43 hastasının %51,2'si (n=22) olarak bulundu. Bu oran KBH ve glomerül grubu ile benzerlik göstermektedir. 6 (%14) hastada ise mutasyon saptanmadı. Ailesinde renal

hastalık öyküsü bulunan 17 renal taş hastası dikkate alındığında, bu hastaların 8 (%47)'inde klinik ilişkili mutasyon gözlendi. Bu oran genel popülasyon renal taş hasta grubumuz ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi. Literatür incelendiğinde pediatrik başlangıçlı renal taş hastalarında yapılan çalışmalarda, hedef spesifik NGS ile mutasyon saptanma başarısı %16,8-20,8 olarak görülmüştür (75, 76). Bu oranlar bizdeki çalışma ile karşılaştırıldığında, renal taş hastalarında tanı koyma başarısının bizim çalışmamızda daha yüksek olduğunu görmekteyiz. Bu yüksek oranın, seçilmiş kompleks renal taş hasta grubunda NGS'in çalışılmış olmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Yapılan çalışmalarda, renal taş hastalarının başlangıç yaşı ne kadar erken olursa, ailesel olma ve konjenital özellik gösterme oranının o kadar yüksek olduğu görülmektedir (77). Biz de çalışmamızda renal taş hastaları yaş ortalamasını 5,61 yıl olarak hesapladık. Ailesel olan ve klinik ilişkili mutasyon saptanan 8 (%47) renal taş hastasının da yaş ortalaması 4,96 yıl olarak düşük saptanmıştır.

Toplam 57 KBH hastamızın 22 (%38,5)'sine tanı amaçlı renal biyopsi yapılmıştı. Renal biyopsi yapılan 4 (%18,1) KBH hastasında biyopsi raporu histopatolojik olarak normal raporlansa da, bu hastaların 3'ünde NGS ile genetik olarak KBH etiyolojisini açıklayan bir mutasyon saptanmıştı. Glomerül ilişkili hasta grubumuzda ise 97 glomerül hastamızın 27 (%27,8)'sine renal biyopsi yapıldı. Biyopsi yapılan 27 glomerül hastanın, 12 (%44,4)'si histopatolojik olarak normal olarak raporlandı. Patolojisi normal olan bu 12 hastanın 7 (%58,3)'sinde ise kliniği açıklayan anlamlı bir genetik mutasyon saptanarak tanı konuldu. 4 (%33,3) hastada ise mutasyon görülmedi. Bu oranlar istatistiksel olarak anlamlı

kabul edildi. Patolojisi normal raporlanan 4 KBH hastası ile 7 glomerül hastasının NGS ile genetik olarak tanı alması, NGS'in sebebi belirlenemeyen etiyolojilerde tanı konma aşamasında önemli olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle KBH hastalarında yapılan renal biyopsilerde, yaygın glomerüloskleroz dışında ayırt edici histopatolojik bulguların azlığı, patologlar için kısıtlılık oluşturmakta ve hedef spesifik NGS'in KBH hastalarında önemli olduğunu göstermektedir. Ayrıca patolojisinde FSGS düşünülen 1 KBH hastamız ile atipik klinik prezantasyonu olduğu için genetik gönderilen 1 glomerüler hastamızda, lupus nefriti ilişkili DNASE1 mutasyonu saptanarak tanı değişikliğine neden olmuştur. 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 konulabilmektedir. Yine 2014 yılında Adam ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, primer tanısı MPGN olarak konulmuş hastalarda ya da bir diğer çalışma olan Gast ve arkadaşlarının 2016 yılındaki çalışmasında olduğu gibi primer tanısı FSGS olarak konulmuş hastalarda, gönderilen genetik test sonuçlarının Alport Sendromu ile uyumlu gelmesi ile hastaların tanıları ve takipleri bu genetik sonuca göre yeniden düzenlenmiştir (3). Literatürdeki bu bilgilere dayanılarak bizim FSGS düşünülen 1 hastamız ile atipik prezantasyonu olan 1 glomerüler hastamıza Lupus nefriti tanısı konularak tanı değişikliği olmuştur. 10 patolojisi normal olarak raporlanan glomerüler ilişkili hastaya da hedef spesifik dizayn edilmiş NGS ile tanı koyulmuştur.

Renal transplantasyon yapılan 5 hastamız incelendiğinde, hastaların tamamında da NGS sonucunda klinik ilişkili mutasyon saptanarak tanı ve tedavileri bu genetik sonuca göre planlanmıştır. Literatürde renal transplantasyon yapılan hastalara bakıldığında, Mann ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptığı tek merkezli çalışma gösteriyor ki, renal transplanta giden 104 hastaya yapılan hedef spesifik NGS ile 34 (%32,7)'ünde klinik ile ilişkili mutasyon saptanmıştır (63). Bizdeki bu yüksek oranın, renal transplant yapılan hasta grubumuzun sayıca az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızda pediatrik yaş grubu renal transplant adaylarında hedef spesifik NGS'in tanı ve transplantasyon tedavi yönetiminde önemli olduğu görüldü.

Akraba evliliği ve NGS ile saptanan veriler incelendiğinde, 17 akraba evliliği bulunan KBH hastasının 10 (%58,8)'unda klinik ile ilişkili gen mutasyonu saptandığı görüldü. Bu oran genel KBH grubunda ilişkili gen saptanma oranı ile benzer görüldü. Akraba evliliği bulunan 28 glomerüler ilişkili hastanın 17 (%60,7)'sinde, 6 akraba evliliği bulunan renal kist hastasının 4 (%66,6)'ünde, 13 akraba evliliği bulunan renal tübül hastamızın 11 (%84,6)'inde, 15 renal taş hastamızın da 7 (%46,6)'sinde klinik ile ilişkili genetik mutasyon saptandı. Bu oranlar KBH grubunda olduğu gibi genel popülasyon hasta grupları ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Literatür tarandığında akraba evliliği bulunan renal hasta grubunda NGS başarısı için çalışma bulunmamaktadır. Ancak bizim akraba evliliği bulunan hasta gruplarımızda klinik ilişkili mutasyon saptama oranlarında, hastalık genel popülasyonlarına göre belirgin bir fark gözlenmese de;

akraba evliliği bulunan tüm renal hasta gruplarında NGS ile tanı koyma başarısı yüksek oranda gözlenmektedir.

Glomerüler hasta grubundan klinik ve laboratuvar bulgusu olmayan 3 hastanın ailesinde Alport Sendromu olması sebebiyle genetik test istenmiş ve 2'sinde Alport Sendromu ile ilişkili gen mutasyonu tespit edilerek genetik danışmanlık verilmiştir. Sadece proteinürisi bulunan, ultrasonografi ve diğer laboratuvar bulgularında ek özelliği bulunmayan 1 hastamız da, kardeşinde renal kist olması sebebiyle genetik çalışma ile taranmış, renal kist ile ilişkili mutasyon saptanarak takibe alınmıştır. Bu vakalar ile çalışmamızda hedef spesifik NGS'in aile planlamasında, genetik danışmanlık verilmesinde ve herhangi bir klinik bulgusu olmayan hastalarda erken tanı konulmasında önemli bir yeri olduğunu gösterdik.

Çalışmamızda saptanan genler dikkate alındığında 58 adet 'benign' karakterli mutasyonun 15 (%25,8)'i, 33 'likely benign' mutasyonun 11 (%33,3)'i hastaların kliniği ile ilişkili olarak saptandı. Bu durum 'benign' ve 'likely benign' patojeniteye sahip bu mutasyonların insidental olarak ortaya çıkmış olabileceğini düşündürmüştür. Fakat yine de NGS temelli genetik çalışmalar ileride arttırıldıkça, bu 'benign' ve 'likely benign' karakterli mutasyonların önem kazanarak, patojenitesinin artabileceği unutulmamalıdır.

Çalışmamızdaki toplam 179 adet 'VUS' patojenitesine sahip mutasyonun 120 (%67)'si hastaların kliniği ile ilişkili olarak yorumlanmıştır. Bu 'VUS' mutasyonlarının önemli bir bölümünün anlamlı patojenitelere sahip olduğunu

göstermektedir. Saptanan bu mutasyonların klinik ile ilişkisi, ‘likely patojenik’ olan gruba kıyasla daha fazla saptanmıştır. Toplam 25 adet saptanan ‘likely patojenik’ mutasyonun 15 (%60)’i, 46 ‘patojenik’ mutasyonun 37 (%80,4)’si klinik ile ilişkili olarak saptanmıştır. Klinik ile ilişkisiz saptanan ‘patojenik’ ve ‘likely patojenik’ mutasyonların, ilerleyen dönemlerde hastalık oluşturabileceği, bu klinik bağlamda hastaların yakından takip edilmesi gerektiği akılda tutulmalıdır. ‘benign’ ve ‘likely benign’ mutasyonların klinik ile ilişkisinin zayıf olduğu; ‘patojenik’ ve ‘likely patojenik’ mutasyonların klinik ile ilişkisinin güçlü olduğu bizim çalışma grubumuzda da istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir. ‘VUS’ mutasyonlarının ise patojenitesine ait şu an için yeterli bilgi olmasa da, ilerleyen dönemde yapılan genetik çalışmalar arttırıldıkça bunların da büyük bir kısmının patojenik etkilerinin ortaya koyulacağı öngörülmektedir.

Alport Sendromu açısından hastalar incelendiğinde, sadece hematüri ile kliniğe başvuran 24 hastanın 12 (%50)’si, hem hematüri hem de proteinüri ile kliniğe başvuran 65 hastanın 18 (%27,7)’i Alport Sendromu açısından ilişkili gen mutasyonu saptanmıştır. Sadece proteinüri ile başvuran hastalarda ise Alport Sendromu gözlenmemiştir. Sadece hematüri gözlenen hastalarda daha çok oranda Alport Sendromu gözükmesi, idrar mikroskopisi bakılan hastaların henüz proteinüri atağı sırasında olmadığını düşündürmüştür. Alport Sendromu mutasyonuna sahip 30 hastanın sadece 4 (%13,3)’ünde işitme kaybı ile 2 (%6,6)’sinde görme sorunu saptanmıştır. Geriye kalan hastalar işitme ve görme açısından yakın takibe alınmıştır. 7 (%23,3) hasta Alport Sendromu ile ilişkili mutasyona sahip olup, aynı zamanda KBH’ya progrese olmuş hastalardı. Bu

hastaların NGS ile erken tanı alma imkanı olsaydı, KBH sürecine gitmesi uzayabilir ve etkin tedavi imkanı olabilirdi. Bu durum NGS ile erken tanı koyma ve etkin tedavi başlanması'nın önemini göstermektedir.

Renal transplant yapılan hastalarımızdan, 2 hastanın SRNS, 2 hastanın Joubert Sendromu ve 1 hastanın da Alport Sendromu olduğu gözlenmiştir. Özellikle renal transplantasyon öncesi uygun hasta-donör seçimi için de NGS'in kullanılabileceği düşünülmektedir. FSGS hastalarında yapılan NGS ile saptanan mutasyonlarda, yapılan renal transplantasyonun başarısı, tedavi ve takip planı önceden öngörülebilir. Böylelikle de renal transplantasyonun hastaya ve ailesine, aynı zamanda hastanelere ve sağlık çalışanlarına olan zaman kaybı, maliyet ve iş yükü azaltılabilir. Bu bağlamda biz de çalışmamızda, renal transplant adayı 1 hastamıza donör adayı saptamak için ailesini hedef spesifik NGS ile taradık. Hastanın annesinde hem klinik olarak hastalık saptanıp hem de genetik olarak hastamız ile aynı mutasyonu taşıdığı görüldü. Babasında ve kardeşlerinde ise klinik olmamasına rağmen, hastamız ile aynı genetik mutasyonu taşıyordu. İleride bu hastalığın görülmesi söz konusu olabileceği için, donör verici adaylığından bu grubu da çıkardık. Hastanın amcasında mutasyon saptanmayarak donör verici adayı olarak kabul ettik.

KBH hastalarında en sık tekrarlayan gen mutasyonları incelendiğinde ise, 97 tane KBH hastasında; 13 (%13,4) hastada PKD1, 6 (%6,1) hastada PLCE1, 4 (%4,1) hastada PKHD1, 4 (%4,1) hastada LAMB2, 4 (%4,1) hastada CPLANE1, 4 (%4,1) hastada COL4A5, 3 (%3,1) hastada UMOD, 3 (%3,1) hastada NPHP4, 3

(%3,1) hastada FRAS1, 3 (%3,1) hastada NPHP3, 3 (%3,1) hastada COL4A3, 3 (%3,1) hastada CEP290, 1 (%1) hastada da OSGEP mutasyonu saptanmıştır.

Sonuç olarak, çalışmamız hedef spesifik dizayn edilmiş NGS yönteminin, farklı tiplerdeki çocukluk çağı renal hastalıklarının moleküler analizini kolaylaştırdığını ve kesin genetik tanıya olanak sağladığını göstermiştir. Güncel literatüre bakıldığında CAKUT hastalarının %8-20'sinde, SRNS hastalarının yaklaşık %26'sında, renal kist hastalarının %80'inde nedensel mutasyonlar saptanmıştır (2, 78-80). NGS hem pediatrik hem de yetişkin KBH kohortlarında bir teşhis aracı olarak umut verici sonuçlar göstermektedir. Ne yazık ki, Türkiye'de NGS'in klinik tanıdaki etkisine yönelik çalışmalar henüz yetersiz düzeydedir. Yurt dışındaki çalışmalar da, özellikle pediatrik hastalarda sınırlıdır. Bu sebeple, klinik pratikte hedef spesifik NGS'in tanı koyma başarısını belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Renal hastalıkların genetik özelliklerinin ortaya konması ve yeni genlerin bulunması ile, NGS kullanımı nefroloji pratiğinde her geçen gün daha da artacaktır. Özellikle genetik heterojeniteye sahip kalıtsal geçişli renal hastalıklarda hedef spesifik dizayn edilmiş NGS güçlü bir tanı aracı olarak kullanılabilir. Hızlı, non-invaziv ve diğer NGS yöntemlerine göre daha ucuz olması bu yöntemin önemini daha da arttırmaktadır. Hedefe yönelik olan yaklaşımı sayesinde sonuçların yorumlanmasını basitleştirir. Eksik kalan diğer gen dizilimindeki yanlış negatiflikleri minimize eder ve tesadüfi bulguları azaltır. Fakat, yeni genler keşfedildikçe bu gen kütüphanesi sürekli olarak güncellenmeli ve klinisyen tarafından klinik bağlamda yorumlanmalıdır.

Nefroloji pratiğinde hedef spesifik NGS başarısı için asıl kritik olan, klinisyenin hasta kliniğini iyi değerlendirerek, uygun genetik testlerle bu verileri birleştirebilmesi ve aynı zamanda çıkan genetik sonuç ile bu kliniğin uyumunu iyi yorumlayabilmesidir. Klinisyenin NGS için uygun hastaları seçmesi, genetikçilerin ve immünologların uygun fenotipleri belirleyebilmesi de oldukça önemlidir. Klinisyen, immünolog ve genetikçi iş birliği içerisinde olmalıdır. Bu da multidisipliner uzman çalışması olan merkezler ile mümkün olabilmektedir. Ancak bu tür bir iş birliği ile NGS uygulaması optimal hasta bakımını mümkün kılacaktır.

Genetik testler literatürde, SRNS hastalarında, ekstrarenal bulguları olan çocuklarda, herediter geçişten şüphelenilen kist, tübül ve CAKUT hastalarında önerilmektedir (78, 81). Yalnız, ayrıntılı bir fenotip olmadan tek başına bu genetik testler, nadiren doğrulayıcı bir tanı verir. Bu nedenle klinisyenler tarafından hasta öyküsü, aile öyküsü, fizik muayene, biyokimyasal testler, radyolojik testler ve gerekirse patolojiyi kapsayan dikkatli, kesin ve kapsamlı bir değerlendirme esastır.

Hastaların uzun süreli takip edilmesi ve renal panelimizde yüksek sayıda gen taranabiliyor olması ve bu konuda ülkemizde yapılmış en kapsamlı çalışma olması, çalışmamızın güçlü yanlarını oluşturmaktadır. Ancak çalışmamızın kısıtlılıklarının da farkındayız. Tek merkezli bir çalışma olması, panelimizde çalışılmayan genlerin oluşu, gruplar arasındaki hasta sayılarının daha da arttırılabilir olması ve genetik olarak çözülmemiş tam ekzon dizinlemesinin olması çalışmamızın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır. Tahmin ediyoruz ki, ileriki

yıllarda renal hastalıkların genetik özelliklerinin ortaya konması ve yeni genlerin bulunması ile, hereditör geçişli renal hastalarda hedef spesifik NGS'in kullanımı daha da yaygınlaşacaktır.



6. SONUÇLAR

Bu çalışmada Çocuk Nefroloji polikliniğimizde takip edilen, Ocak 2018-Ekim 2022 tarihleri arasında renal panel çalışılmış 225 hasta retrospektif olarak incelenerek aşağıdaki sonuçlara varıldı:

1. Çalışmaya 112 (%50)'si erkek, 113 (%50)'ü kız olan toplam 225 hasta dahil edildi. Kızların erkeklere oranı 1 olarak bulundu. Toplam 3 hastayı takip sürecinde hayatını kaybeden hastalar oluşturmaktaydı.

2. Olguların yaş ortalaması $8,63 \pm 5,55$ yıl olup, yaşları 17 gün ile 18 yıl arasında değişmekteydi.

3. Bu hastalar etiyolojik tanılara göre kronik böbrek hastalığı, glomerüler ve tübüler ilişkili hastalıklar, renal taş ve kist hastaları olmak üzere toplam 5 farklı gruba ayrıldı. Böylelikle 57 (%22) hasta KBH, 97 (%37) hasta glomerüler, 43 (%16) hasta renal kistik, 23 (%9) hasta renal tübüler ve 43 (%16) hasta da renal taş hastası olarak dağılım gösterdi. Bu KBH hastalarının 5 (%8,7)'ini renal transplantasyon yapılmış olan hastalar oluşturmaktaydı.

4. 57 KBH hastasının 31 (%54,4)'inde klinik ile ilişkili, 15 (%26,3)'inde klinik ile ilişkisiz gen mutasyonu saptandı. 11 (%19,3) hastada mutasyon saptanmadı.

5. 97 glomerüler hastanın 51 (%52,6)'inde klinik ile ilişkili, 20 (%20,6)'sinde klinik ile ilişkisiz gen mutasyonu saptanırken, 26 (%26,8)'sında mutasyon saptanmadı.

6. 43 renal kist hastasının 30 (%69,8)'unda klinik ilişkili, 6 (%14)'sında klinik ilişkisiz gen mutasyonu saptanırken, 7 (%16,3)'sinde bir mutasyon saptanmadı.

7. 23 renal tübüler hasta grubunda, 19 (%82,6) hastada klinik ilişkili, 3 (%13) hastada klinik ilişkisiz gen saptanırken, 1 (%4,3) hastada mutasyon saptanmadı.

8. 43 renal taş hastasının 22 (%51,2)'sinde klinik ilişkili, 15 (%34,9)'inde klinik ilişkisiz gen mutasyonu saptanıp, 6 (%14) hastada bir mutasyon saptanmadı.

9. Etiyolojik gruplardaki bu oranlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilerek, hedef spesifik NGS'in kalıtsal renal hastalık düşünülen hastalarda klinik tanıdaki önemini göstermektedir.

10. Ailesinde renal hastalık öyküsü bulunan hastalar dikkate alındığında 31 KBH hastanın 22 (%70,9)'sinde, 36 glomerüler hastanın 23 (%63,8)'ünde, 10 tübül ilişkili hastanın 8 (%80)'inde, 23 renal kist hastasının 17 (%73,9)'inde ve 17 renal taş hastanın 8 (%47)'inde ilişkili mutasyon saptanmıştır. Bu veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ailede renal hastalık öyküsü bulunan hastalarda, hedef spesifik NGS ile tanı koyma başarısı artmaktadır.

11. Hedef spesifik NGS ile klinik ilişkili genlerin saptanma oranları birbirleriyle karşılaştırıldığında KBH, glomerül ve renal taş hastalarında oranlar benzerken; renal tübül ve renal kist hastasında bu oranın belirgin arttığı görülmüştür.

12. Ailesinde renal kist olan 17 renal kist hastasının tamamında kist ile ilişkili mutasyon saptanmıştır. Ailede kist öyküsü bulunan renal kist hastalarında hedef spesifik NGS ile tanı koyma oranı daha yüksektir.

13. Çalışmamızda renal taş hastaları yaş ortalamasını 5,61 yıl olarak hesapladık. Ailesel olan ve klinik ilişkili mutasyon saptanan 8 (%47) renal taş hastasının da yaş ortalaması 4,96 yıl olarak düşük saptanmıştır. Renal taş hastalarının başlangıç yaşı ne kadar erken olursa, ailesel olma ve konjenital özellik gösterme oranının o kadar yüksek olduğu düşünülmektedir.

14. Ailesinde renal hastalık öyküsü bulunan hastalarda hedef spesifik NGS'te klinik ile ilişkili gen saptanma oranları tübül ve renal taş grubunda benzerken; diğer gruplarda arttığı dikkat çekmiştir.

15. Akraba evliliği bulunan hastalar dikkate alındığında, 17 KBH hastasının 10 (%58,8)'unda, 28 glomerül ilişkili hastanın 17 (%60,7)'sinde, 13 tübüler hastanın 11 (%84,6)'inde, 15 renal taş hastasının 7 (%46,6)'sinde ve 6 renal kist hastasının 4 (%66,6)'ünde ilişkili mutasyon saptanmıştır. Akraba evliliği ile klinik ilişkili gen mutasyon saptama başarısında genel popülasyona göre belirgin bir değişiklik izlenmemiştir. Ancak, akraba evliliği bulunan renal hastalarda hedef spesifik NGS, klinik tanı koymada oldukça önemlidir.

16. Renal biyopsisi normal olarak raporlanan 4 KBH hastasının 3'ünde, 12 glomerül hastasının 7'sinde kliniği açıklayan ilişkili gen mutasyonu saptandı. Bu durum hedef spesifik NGS'in sebebi belirlenemeyen etiyolojilerde tanı koyma başarısının önemini vurgulamaktadır.

17. Renal transplant yapılan 5 hastanın tamamında da hedef spesifik NGS sonucunda klinik ilişkili gen saptandı. 1 renal transplant adayı hastanın donör seçiminde ailesi taranarak annesi, babası, kardeşlerinde de aynı hastalık yapıcı mutasyon saptandı ve donör olarak seçilmediler. Amcasında mutasyon görülmeyerek renal donör adayı olarak seçildi.

18. 2 hastanın primer tanısı genetik test sonucunda lupus nefriti olarak değiştirilmiştir. Özellikle klinik prezantasyonu ve renal biyopsilerini birbirinden ayırmanın güç olduğu renal hastalıkların tanısı, hedef spesifik NGS ile daha kolay ve hızlı bir şekilde koyulabilmektedir.

19. 3 hastada klinik bulgu olmadığı halde ailesinde Alport Sendromu olması sebebiyle genetik istenmiş ve 2'sinde klinik ilişkili gen saptanarak genetik danışmanlık verilmiştir. 1 hastamızın da kardeşinde renal kist olması sebebiyle taranmış ve ultrasonografide renal kist gözlenmemiştir. Sadece idrarda proteinüri saptanmış, gönderilen genetik testte de renal kist ile ilişkili mutasyon saptanarak hasta renal kist açısından takibe alınmıştır. Hedef spesifik NGS, erken tanı koymada ve hastalara genetik danışmanlık verilmesinde önemli bir yeri bulunmaktadır.

20. 12 renal kist hastasının aynı zamanda KBH grubunda da olduğu görülmüştür. Bu hastaların 6 (%50)'sında KBH durumunu açıklayan mutasyon yokken, sadece renal kist ilişkili mutasyon görülmüştür. Bu da, hedef spesifik NGS ile bu hastaların KBH'ya ilerlemeden önce saptanabileceğini göstermektedir.

21. Saptanan genler dikkate alındığında 58 adet ‘benign’ karakterli mutasyonun 15 (%25,8)’i, 33 ‘likely benign’ mutasyonun 11 (%33,3)’i klinik ilişkili saptanmıştır. NGS temelli genetik çalışmalar arttıkça, bu ‘benign’ ve ‘likely benign’ karakterli mutasyonların önem kazanarak, patojenitesinin artabileceği unutulmamalıdır.

22. Çalışmamızdaki toplam 179 adet ‘VUS’ patojenitesine sahip mutasyonun 120 (%67)’si hastaların kliniği ile ilişkili olarak yorumlanmıştır. ‘VUS’ mutasyonlarının önemli bir bölümünün anlamlı patojenitelere sahip olduğunu göstermektedir.

23. 25 ‘likely patojenik’ mutasyonun 15 (%60)’i ve 46 ‘patojenik’ mutasyonun 37 (%80,4)’si klinik ile ilişkili olarak saptanmıştır. Klinik ile ilişkisiz saptanan ‘patojenik’ ve ‘likely patojenik’ bu mutasyonların, ilerleyen dönemlerde hastalık oluşturabileceği, bu klinik bağlamda hastaların yakından takip edilmesi gerektiği akılda tutulmalıdır.

24. KBH hastalarında en sık tekrarlayan gen mutasyonları incelendiğinde ise, 97 tane KBH hastasında; 13 (%13,4) hastada PKD1, 6 (%6,1) hastada PLCE1, 4 (%4,1) hastada PKHD1, 4 (%4,1) hastada LAMB2, 4 (%4,1) hastada CPLANE1, 4 (%4,1) hastada COL4A5, 3 (%3,1) hastada UMOD, 3 (%3,1) hastada NPHP4, 3 (%3,1) hastada FRAS1, 3 (%3,1) hastada NPHP3, 3 (%3,1) hastada COL4A3, 3 (%3,1) hastada CEP290, 1 (%1) hastada da OSGEP mutasyonu saptanmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Renkema KY, Stokman MF, Giles RH, Knoers NV. Next-generation sequencing for research and diagnostics in kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*. 2014;10(8):433-44.
2. 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 international*. 2018;94(2):363-71.
3. De Haan A, Eijgelsheim M, Vogt L, Knoers NV, De Borst MH. Diagnostic yield of next-generation sequencing in patients with chronic kidney disease of unknown etiology. *Frontiers in genetics*. 2019;10:1264.
4. Sinha R, Sarkar S, Mandal K, Tse Y. Uptake of next-generation sequencing in children with end-stage renal disease secondary to focal segmental glomerulosclerosis and parental decision for kidney transplantation—Experience from a low resource setting: A Retrospective Cohort Study. *Pediatric Transplantation*. 2021;25(5):e13960.
5. Obeidova L, Seeman T, Fencel F, Blahova K, Hojny J, Elisakova V, et al. Results of targeted next-generation sequencing in children with cystic kidney diseases often change the clinical diagnosis. *PloS one*. 2020;15(6):e0235071.
6. Yirmibeş Karaoğuz M. İnsandaki genetik hastalıklar. *MİSED (Türk Eczacılar Birliği Yayını/Meslek*. 2007:19-20.
7. Sağlık SBAÇ, Müdürlüğü APG. Genetik hastalıklar. Ankara; 2002.
8. Connaughton DM, Hildebrandt F. Personalized medicine in chronic kidney disease by detection of monogenic mutations. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2020;35(3):390-7.
9. McClellan WM, Satko SG, Gladstone E, Krisher JO, Narva AS, Freedman BI. Individuals with a family history of ESRD are a high-risk population for CKD: implications for targeted surveillance and intervention activities. *American Journal of Kidney Diseases*. 2009;53(3):S100-S6.

10. Connaughton DM, Bukhari S, Conlon P, Cassidy E, O'Toole M, Mohamad M, et al. The Irish Kidney Gene Project-prevalence of family history in patients with kidney disease in Ireland. *Nephron*. 2015;130(4):293-301.
11. Rasouly HM, Groopman EE, Heyman-Kantor R, Fasel DA, Mitrotti A, Westland R, et al. The burden of candidate pathogenic variants for kidney and genitourinary disorders emerging from exome sequencing. *Annals of internal medicine*. 2019;170(1):11-21.
12. Yosypiv IV. Congenital anomalies of the kidney and urinary tract: a genetic disorder? *International journal of nephrology*. 2012;2012.
13. Shakya R, Watanabe T, Costantini F. The role of GDNF/Ret signaling in ureteric bud cell fate and branching morphogenesis. *Developmental cell*. 2005;8(1):65-74.
14. Takeichi M. Morphogenetic roles of classic cadherins. *Current opinion in cell biology*. 1995;7(5):619-27.
15. Stark K, Vainio S, Vassileva G, McMahon AP. Epithelial transformation of metanephric mesenchyme in the developing kidney regulated by Wnt-4. *Nature*. 1994;372(6507):679-83.
16. Carroll TJ, Park J-S, Hayashi S, Majumdar A, McMahon AP. Wnt9b plays a central role in the regulation of mesenchymal to epithelial transitions underlying organogenesis of the mammalian urogenital system. *Developmental cell*. 2005;9(2):283-92.
17. Bruening W, Pelletier J, editors. Denys-Drash syndrome: a role for the WT1 tumour suppressor gene in urogenital development. *seminars in DEVELOPMENTAL BIOLOGY*; 1994: Elsevier.
18. Patterson LT, Pembaur M, Potter SS. Hoxa11 and Hoxd11 regulate branching morphogenesis of the ureteric bud in the developing kidney. 2001.
19. Yu T, Scully S, Yu Y, Fox GM, Jing S, Zhou R. Expression of GDNF family receptor components during development: implications in the mechanisms of interaction. *Journal of Neuroscience*. 1998;18(12):4684-96.
20. Gubler MC. Inherited diseases of the glomerular basement membrane. *Nature clinical practice Nephrology*. 2008;4(1):24-37.

21. Dreyer SD, Zhou G, Baldini A, Winterpacht A, Zabel B, Cole W, et al. Mutations in LMX1B cause abnormal skeletal patterning and renal dysplasia in nail patella syndrome. *Nature genetics*. 1998;19(1):47-50.
22. Looij B, Te Slaa R, Hogewind B, Van de Kamp J. Genetic counselling in hereditary osteo-onychodysplasia (HOOD, nail-patella syndrome) with nephropathy. *Journal of medical genetics*. 1988;25(10):682-6.
23. Sim JJ, Batech M, Hever A, Harrison TN, Avelar T, Kanter MH, et al. Distribution of Biopsy-Proven Presumed Primary Glomerulonephropathies in 2000-2011 Among a Racially and Ethnically Diverse US Population. *American Journal of Kidney Diseases*. 2016;68(4):533-44.
24. Pollak MR, editor *The genetic basis of FSGS and steroid-resistant nephrosis*. *Seminars in nephrology*; 2003: Elsevier.
25. Rodríguez-Iturbe B, Johnson RR, Herrera-Acosta J. Tubulointerstitial damage and progression of renal failure. *Kidney International*. 2005;68:S82-S6.
26. Liu Y, Shi Y, Ren R, Xie J, Wang W, Chen N. Advanced therapeutics in focal and segmental glomerulosclerosis. *Nephrology*. 2018;23:57-61.
27. Rajasekaran A, Julian BA, Rizk DV. IgA nephropathy: an interesting autoimmune kidney disease. *The American journal of the medical sciences*. 2021;361(2):176-94.
28. Kim J-K, Kim JH, Lee SC, Kang EW, Chang TI, Moon SJ, et al. Clinical features and outcomes of IgA nephropathy with nephrotic syndrome. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2012;7(3):427-36.
29. Lai KN, Lai FM-M, Chan KW, Ho CP, Leung AC, Vallance-Owen J. An overlapping syndrome of IgA nephropathy and lipoid nephrosis. *American journal of clinical pathology*. 1986;86(6):716-23.
30. Woo KT, Lau YK, Choong HL, Tan HK, Foo MW, Lee EJ, et al. Genomics and disease progression in IgA nephritis. *Ann Acad Med Singap*. 2013;42:674-80.
31. Sweeney WE, Avner ED. Diagnosis and management of childhood polycystic kidney disease. *Pediatric nephrology*. 2011;26(5):675-92.

32. Rodriguez MM. Congenital anomalies of the kidney and the urinary tract (CAKUT). *Fetal and Pediatric Pathology*. 2014;33(5-6):293-320.
33. Hahn H. Genetics of kidney development: pathogenesis of renal anomalies. *Korean Journal of Pediatrics*. 2010;53(7):729.
34. Tisher CC. Renal pathology with clinical and functional correlations. JB LIPINCOTT Company. 1989;1.
35. Ordonez NG RJ. Cystic diseases of the kidney. . In *Surgical Pathology* (10th ed), . 2011;vol 1.(Mosby Elsevier 2011):1169-72.
36. Luo F, Tao YH. Nephronophthisis: A review of genotype–phenotype correlation. *Nephrology*. 2018;23(10):904-11.
37. Stokman M, Lilien M, Knoers N. Nephronophthisis. 2016.
38. Israel GM, Bosniak MA. An update of the Bosniak renal cyst classification system. *Urology*. 2005;66(3):484-8.
39. Karmazyn B, Tawadros A, Delaney L, Marine M, Cain M, Rink R, et al. Ultrasound classification of solitary renal cysts in children. *Journal of pediatric urology*. 2015;11(3):149. e1-. e6.
40. Bleyer AJ, Knoch S. Autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease: of names and genes. *Kidney International*. 2014;86(3):459-61.
41. Moro F, Ogg C, Simmonds H, Cameron J, Chantler C, McBride M, et al. Familial juvenile gouty nephropathy with renal urate hypoexcretion preceding renal disease. *Clinical nephrology*. 1991;35(6):263-9.
42. Chen C-P. Meckel Syndrome: Genetics, Perinatal Findings, and Differential Diagnosis. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2007;46(1):9-14.
43. Elumalai V, Pasrija D. Zellweger Syndrome. 2020.
44. Adamo L, Kassif E, Jacobson JM, Achiron R. Prenatal Diagnosis of Jeune Syndrome by Whole-Exome Sequencing in a Case With Mild Skeletal Changes. *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine*. 2020;39(9):1869-71.
45. Forsyth R, Gunay-Aygun M. Bardet-Biedl syndrome overview. *GeneReviews®*[Internet]. 2020.

46. Jordan P, Arrondel C, Bessi eres B, Tessier A, Atti  -Bitach T, Guterman S, et al. Bi-allelic pathogenic variations in DNAJB11 cause Ivemark II syndrome, a renal-hepatic-pancreatic dysplasia. *Kidney International*. 2021;99(2):405-9.
47. Chittiboina P, Lonser RR. Chapter 10 - Von Hippel–Lindau disease. In: Islam MP, Roach ES, editors. *Handbook of Clinical Neurology*. 132: Elsevier; 2015. p. 139-56.
48. Gana S, Serpieri V, Valente EM, editors. Genotype–phenotype correlates in Joubert syndrome: A review. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*; 2022: Wiley Online Library.
49. Konrad M, Nijenhuis T, Ariceta G, Bertholet-Thomas A, Calo LA, Capasso G, et al. Diagnosis and management of Bartter syndrome: executive summary of the consensus and recommendations from the European Rare Kidney Disease Reference Network Working Group for Tubular Disorders. *Kidney International*. 2021;99(2):324-35.
50. Bokhari SRA, Zulfiqar H, Mansur A. Bartter syndrome. *StatPearls [Internet]: StatPearls Publishing*; 2021.
51. Kurtz I, Cohen JJ, Harrington JT, Madias NE, Zusman CJ. Molecular pathogenesis of Bartter’s and Gitelman’s syndromes. *Kidney international*. 1998;54(4):1396-410.
52. S uleymanlar G. Kronik böbrek hastalığı ve yetmezliğı: tanımı, evreleri ve epidemiyolojisi. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci*. 2007;3(38):1-7.
53. Muratoğlu A. Çocukluk  ağı kronik böbrek hastalarında eser element düzeylerinin değerlendirilmesi.
54. Kerecuk L, Schreuder MF, Woolf AS. Renal tract malformations: perspectives for nephrologists. *Nature Clinical Practice Nephrology*. 2008;4(6):312-25.
55. Zurowska A, Zagozdzon I, Bałasz I, Boguszevska A, Prokurat C, Pietrzyk J, et al. Congenital and genetic related causes of end-stage renal disease--data from Polish Registry of Renal Rreplacement Therapy in Children 2000-2004. *Przegl d Lekarski*. 2006;63:57-9.

56. Murray SL, Fennelly NK, Doyle B, Lynch SA, Conlon PJ. Integration of genetic and histopathology data in interpretation of kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2020;35(7):1113-32.
57. Jayasinghe K, Quinlan C, Stark Z, Patel C, Mallawaarachchi A, Wardrop L, et al. Renal genetics in Australia: kidney medicine in the genomic age. *Nephrology*. 2019;24(3):279-86.
58. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*. 2016;17(6):333-51.
59. McCarthy HJ, Bierzynska A, Wherlock M, Ognjanovic M, Kerecuk L, Hegde S, et al. Simultaneous sequencing of 24 genes associated with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2013;8(4):637-48.
60. Artuso R, Fallerini C, Dosa L, Scionti F, Clementi M, Garosi G, et al. Advances in Alport syndrome diagnosis using next-generation sequencing. *European Journal of Human Genetics*. 2012;20(1):50-7.
61. Otto EA, Ramaswami G, Janssen S, Chaki M, Allen SJ, Zhou W, et al. Mutation analysis of 18 nephronophthisis associated ciliopathy disease genes using a DNA pooling and next generation sequencing strategy. *Journal of medical genetics*. 2011;48(2):105-16.
62. 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. *Genetics in medicine*. 2015;17(5):405-23.
63. Mann N, Braun DA, Amann K, Tan W, Shril S, Connaughton DM, et al. Whole-exome sequencing enables a precision medicine approach for kidney transplant recipients. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2019;30(2):201-15.

64. Yao X-d, Chen X, Huang G-y, Yu Y-t, Xu S-t, Hu Y-l, et al. Challenge in pathologic diagnosis of Alport syndrome: evidence from correction of previous misdiagnosis. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2012;7(1):1-8.
65. Adam J, Connor TM, Wood K, Lewis D, Naik R, Gale DP, et al. Genetic testing can resolve diagnostic confusion in Alport syndrome. *Clinical kidney journal*. 2014;7(2):197-200.
66. Braun DA, Schueler M, Halbritter J, Gee HY, Porath JD, Lawson JA, et al. Whole exome sequencing identifies causative mutations in the majority of consanguineous or familial cases with childhood-onset increased renal echogenicity. *Kidney international*. 2016;89(2):468-75.
67. Andrassy KM. Comments on 'KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease'. *Kidney international*. 2013;84(3):622-3.
68. Ruidiaz-Gómez KS, Higueta-Gutiérrez LF. Impact of chronic kidney disease on health-related quality of life in the pediatric population: meta-analysis. *Jornal de pediatria*. 2021;97:478-89.
69. Hoekstra T, Hemmelder M, Van Ittersum F. RENINE annual report 2015. *Nederlandse Federatie voor Nefrologie*[Google Scholar]. 2017.
70. Vivante A, Hildebrandt F. Exploring the genetic basis of early-onset chronic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*. 2016;12(3):133-46.
71. Ashton E, Bockenhauer D. Diagnosis of uncertain significance: can next-generation sequencing replace the clinician? *Kidney international*. 2020;97(3):455-7.
72. Devuyst O, Knoers NV, Remuzzi G, Schaefer F. Rare inherited kidney diseases: challenges, opportunities, and perspectives. *The Lancet*. 2014;383(9931):1844-59.
73. Mallett AJ, McCarthy HJ, Ho G, Holman K, Farnsworth E, Patel C, et al. Massively parallel sequencing and targeted exomes in familial kidney disease can diagnose underlying genetic disorders. *Kidney international*. 2017;92(6):1493-506.

74. Ashton EJ, Legrand A, Benoit V, Roncelin I, Venisse A, Zennaro M-C, et al. Simultaneous sequencing of 37 genes identified causative mutations in the majority of children with renal tubulopathies. *Kidney international*. 2018;93(4):961-7.
75. Braun DA, Lawson JA, Gee HY, Halbritter J, Shril S, Tan W, et al. Prevalence of monogenic causes in pediatric patients with nephrolithiasis or nephrocalcinosis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2016;11(4):664-72.
76. Halbritter J, Baum M, Hynes AM, Rice SJ, Thwaites DT, Gucev ZS, et al. Fourteen monogenic genes account for 15% of nephrolithiasis/nephrocalcinosis. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2015;26(3):543-51.
77. Daga A, Majmundar AJ, Braun DA, Gee HY, Lawson JA, Shril S, et al. Whole exome sequencing frequently detects a monogenic cause in early onset nephrolithiasis and nephrocalcinosis. *Kidney international*. 2018;93(1):204-13.
78. Ahn YH, Lee C, Kim NK, Park E, Kang HG, Ha I-S, et al. Targeted exome sequencing provided comprehensive genetic diagnosis of congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Journal of clinical medicine*. 2020;9(3):751.
79. Sen ES, Dean P, Yarram-Smith L, Bierzynska A, Woodward G, Buxton C, et al. Clinical genetic testing using a custom-designed steroid-resistant nephrotic syndrome gene panel: analysis and recommendations. *Journal of medical genetics*. 2017;54(12):795-804.
80. Park E, Lee C, Kim NK, Ahn YH, Park YS, Lee JH, et al. Genetic study in Korean pediatric patients with steroid-resistant nephrotic syndrome or focal segmental glomerulosclerosis. *Journal of clinical medicine*. 2020;9(6):2013.
81. Aymé S, Bockenhauer D, Day S, Devuyst O, Guay-Woodford LM, Ingelfinger JR, et al. Common elements in rare kidney diseases: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney international*. 2017;92(4):796-808.

8. ÖZET

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

Kalıtsal böbrek hastalıkları, çocuklarda kronik böbrek hastalığının önde gelen nedenlerinden biri olup, çocukluk renal patolojilerinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Renal patolojilerin genetik ilişkisi, kompleks kalıtım paterni, multigenik etyolojisi belirgin olarak görülebilmektedir. Bu genetik bozukluklar için kesin moleküler tanı testleri kullanılabilir hale gelmiştir. Bu çalışmada etiyolojisi bilinmeyen, genetik heterojeniteye sahip renal hastalıkların tanısının belirlenmesinde, erken tanı konulmasında, klinik prezantasyonun genetik sonuçlar ile karşılaştırılmasında hedef spesifik yeni nesil sekanslama yönteminin non-invaziv, hızlı ve uygun maliyetli sonuçlara ulaşılabileceğini göstermeyi amaçladık.

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Nefroloji Bilim Dalına başvuran, genetik test istenmiş 225 hasta dahil edildi. Hastaların dosyaları ve genetik test sonuçları retrospektif olarak incelendi.

Çalışmamıza Ocak 2018- Ekim 2022 tarihleri arasında 112 (%50)'si erkek, 113 (%50)'ü kız, toplam 225 hasta dahil edildi. Hastalar etiyolojik tanılarına göre KBH, glomerüler, tübüler, taş ve kist hastaları olmak üzere yeniden gruplandırıldı. 57 (%22) hasta KBH, 97 (%37) hasta glomerüler, 43 (%16) hasta kistik, 23 (%9)

hasta tübüler ve 43 (%16) hasta taş hastası olarak dağılım gösterdi. Genetik test sonucunda, KBH hastalarının 31 (%54,4)'inde, glomerüler hastaların 51 (%52,6)'inde, kist hastalarının 30 (%69,8)'unda, tübüler hastaların 19 (%82,6)'unda taş hastalarının 22 (%51,2)'sinde ilişkili gen mutasyonu saptandı. Ailesinde renal hastalık öyküsü bulunma durumunda ise ilişkili gen saptanma oranları tübül ve taş grubunda benzerken, diğer gruplarda arttığı dikkat çekmiştir. Saptanan genler dikkate alındığında 58 adet 'benign' karakterli mutasyonun 15 (%25,8)'i, 33 'likely benign' mutasyonun 11 (%33,3)'i, 179 'VUS' patojenitesine sahip mutasyonun 120 (%67)'si, 25 'likely patojenik' mutasyonun 15 (%60)'i ve 46 'patojenik' mutasyonun 37 (%80,4)'si klinik ile ilişkili olarak saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yeni Nesil Sekanslama, Kalıtsal Renal Hastalık, Renal Genetik

9. SUMMARY

Determining the Importance of a Target-Specific Design New Generation Sequencing Method in the Clinical Diagnosis of Inherited Renal Diseases in Children

Hereditary kidney diseases are one of the leading causes of chronic kidney disease in children and constitute an important part of childhood renal pathologies. The genetic relation, complex inheritance pattern and multigenic etiology of renal pathologies can be clearly seen. Certain molecular diagnostic tests for these genetic disorders have become available. In this study, we aimed to show that non-invasive, rapid and cost-effective results of target-specific next generation sequencing method can be achieved in the diagnosis of renal diseases with unknown etiology and genetic heterogeneity, early diagnosis and comparison of clinical presentation with genetic results.

In the study, 225 patients who applied to Gazi University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Nephrology and requested genetic testing were included. The files and genetic test results of the patients were retrospectively reviewed.

A total of 225 patients, 112 (50%) male and 113 (50%) female, were included in our study between January 2018 and October 2022. Patients were regrouped according to their etiological diagnosis as CKD, glomerular, tubular, stone and cyst patients. 57 (22%) patients were CKD, 97 (37%) glomerular, 43 (16%) cystic, 23 (9%) tubular and 43 (16%) stone patients. As a result of genetic

testing, in 31 (54.4%) CKD patients, 51 (52.6%) glomerular patients, 30 (69.8%) cyst patients, 19 (82.6%) tubular patients and 22 (51.2%) of the stone patients a related gene mutation was detected in. In the presence of a family history of renal disease, it was noted that while the associated gene detection rates were similar in the tubule and stone group, it increased in other groups. Considering the detected genes, 15 (25.8%) of 58 'benign' mutations, 11 (33.3%) of 33 'likely benign' mutations, 120 (67%) of 179 'VUS' mutations, 15 (60%) of 25 'likely pathogenic' mutations and 37 (80.4%) of 46 'pathogenic' mutations were clinically associated.

Key Words: Next Generation Sequencing, Hereditary Renal Disease, Renal Genetics

10. EKLER

Evrak Tarih ve Sayısı: 04.11.2021-E.205775



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Etik Komisyonu**

Sayı : E-77082166-604.01.02-205775
Konu : Değerlendirme ve Onay

04.11.2021

Sayın Doç. Dr. Kibriya FİDAN
Çocuk Nefroloji Bilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Tez danışmanı olduğunuz, araştırmacı grubu Kibriya FİDAN, Murat ÇETİN'den oluşan, Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Nefroloji Bilim Dalı **Araş.Gör.Dr.Murat ÇETİN**'in uzmanlık tez çalışması olan **"Çocukluk Çağı Genetik Geçişli Renal Hastalıklarında Hedef Spesifik Dizayn Edilmiş Yeni Nesil Sekanslama Yönteminin Klinik Tanı ve Tedavideki Öneminin Belirlenmesi"** başlıklı tez çalışması ile ilgili araştırma önerisi Komisyonumuzun **02.11.2021** tarih ve **17** sayılı toplantısında görüşülmüş olup,

Çalışmanın, yapılması planlanan yerlerden izin alınması koşuluyla yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmadığına oybirliği ile karar verilmiş ve karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Araştırma Kod No: 2021 - 977

21-E.205775

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
ETİK KOMİSYONU KATILIM LİS

İ : 02.11.2021

SOYADI	
RAKAYA	<i>F</i>
EMEL	<i>1</i>
ÖDÜR	<i>1</i>
N	<i>8</i>
MEL GENCER	<i>f</i>
GEL	<i>1</i>
ÖNENÇ	<i>1</i>
RAMOĞLU	<i>K</i>
EZMEN KARADAĞ	<i>M</i>
MEN BAYKARA	<i>1</i>
	<i>1</i>
	<i>K</i>
h ŞAHİN	<i>1</i>

ile imzalanmıştır.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Murat

Soyadı : ÇETİN

Doğum Yeri ve Tarihi :

Eğitimi :

- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
- Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi
- Eskişehir Kılıçoğlu Anadolu Lisesi
- Eskişehir Ziya Gökalp İlköğretim Okulu

Yabancı Dili : İngilizce (B2), Almanca (A2)

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar : -

Bilimsel Etkinlikleri : -