

**Prof. Dr. Müge Sayitoğlu**

### **Primer İmmün Yetersizlikte Tanısal Süreçler: Tanıda Kullanılan Genetik İncelemeler**

Primer immün yetersizlikler (PİY), nadir genetik hastalıklar grubunda yer alan, Mendel tipi kalıtımla sonraki kuşaklara aktarılan, genetik ve klinik heterojenite gösteren hastalık grubudur. Hastaların tanısında fizik muayene, birinci aşama laboratuvar testleri, immunfenotipik testler ile birlikte genetik testler önemli bir yer tutmaktadır. Günümüzde PİY fenotipleri ile ilişkilendirilmiş 400'den fazla gen bulunmaktadır ve fenotipe dayalı yaklaşım ile çok sınırlı sayıda gen için doğrudan test istemi (tek gen-tek fenotip) mümkündür. Klinik heterojenitenin yanı sıra PİY hastalarının sahip oldukları genetik heterojenite, PİY hastalıklarının genetik tanısını zorlaştıran en önemli faktördür. Net bir genotip-fenotip ilişkisinin olmaması ve hastalıktan sorumlu tutulan çok sayıda genin varlığı rutinde PİY hastalarının genetik tanısında ve bulguların raporlamasında güçlükler neden olmaktadır. Oysa ki genetik testler tedavi yönlendirdiği gibi, ailedeki riskli bireylerin saptanmasında ve sağlıklı çocuk sahibi olunmasında da çok büyük öneme sahiptir. PİY genetik tanısını yapan uzmanlaşmış merkez sayısının az olmasının nedenleri arasında çok sayıda analiz edilecek gen olması, test maliyetleri ve sosyal güvenlik sisteminin bu maliyetleri karşılamadaki kısıtlılıkları, klinik ve laboratuvar standardizasyon ve raporlama sürelerinin uzunluğu söylenebilir. Güncel yeni nesil dizileme (YND) yaklaşımları, hem PİY tanısına ve hem de PİY ile ilişkili yeni gen ve varyasyonların tanımlanmasına farklı bir ivme kazandırmıştır.

Klinik fenotipten yola çıkarak kuvvetli bir aday genin tamamının ya da kodlayan bölgelerinin (ekzonlar) polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılıp klasik dizileme yöntemi (Sanger dizileme) ile dizilmesi klasik aday gen yaklaşımıdır. Yeni Nesil Dizileme (YND) yaklaşımları arasında klinik kullanıma en uygun yaklaşım hedeflenmiş gen dizilemesidir. PİY hastalarında en sık varyasyona uğrayan genlerden oluşturulan ve içinde farklı sayıda gen barındıran paneller ile hızlı ve ekonomik olarak aday genlerin taraması mümkündür. PİY ilişkili gen varyasyonlarının araştırılmasında genişletilmiş gen panelleri ile taranan ve hastalıkla ilişkili herhangi bir varyasyon saptanmayan olgularda ve ailelerinde tüm ekzom dizileme yaklaşımı bilgi verici olabilmektedir. Tüm ekzom dizilemesinin en büyük kısıtlılığı sadece kodlama yapan genomik bölgelerin analizini mümkün kılmasıdır. Genomun kodlama yapmayan (%98) ve gen anlatımlarını düzenleyen regülatör bölgelerinden kaynaklı genomik değişiklikler ve kopya sayısı değişimleri ("*copy number variations*")

CNVs) de hastalıklardan sorumlu tutulmaktadır. Ekzom dizileme ile hastalıkla ilgili herhangi bir aday gene ulaşılmaması durumunda tüm genom dizileme analizlerine başvurulabilir. Ancak bu yaklaşım da ciddi biyoenformatik analizler içeren ve genetik, biyoenformatik uzmanları ve hekimlerin bir arada çalışmasını gerektiren bir yaklaşımdır. Ekzom dizilemede olduğu gibi bilinen genlerdeki yeni varyasyonlar ya da henüz hastalıkla ilişkilendirilmemiş yeni aday genler, mutlaka ileri fonksiyonel analizler ve araştırmalar gerektirmektedir. Transkriptom dizileme (RNA dizileme) ise bir genin anlatıma giren tüm kırılma ürünlerinin dizilenmesidir. Sadece gen varyasyonlarının saptanması değil, doku spesifik gen anlatım düzeylerinin belirlenmesi, alternatif kırılma ürünlerinin analizi, füzyon genlerin tespiti ve kodlama yapmayan küçük RNA'lar ile ilgili bilgi verici bir yaklaşımdır.

PİY hastalıklarının erken tanısı ve insidanslarının belirlenmesi için popülasyonlara özgü yenidoğan ve toplum taramaları kullanılmaya başlanmıştır. T ve B hücre gelişimi somatik rekombinasyonları esnasında oluşan '*TREC*' (*T cell reseptör excision circle*) ve '*KREC*' (*kappa-deleting excision circle*), T ve B hücrelerinin replikasyon yapmayan halkasal DNA parçalarıdır. Bu halkasal DNA parçalarının miktarsal analizi T ve B hücre gelişimi açısından bilgi vericidir. *TREC/KREC* kopya sayısı analizleri hızlı sonuç alınabilen, düşük maliyetli ve yüksek hassasiyette testler olup, toplum tarama çalışmalarına iyi bir adaydır.

Etkilenmiş olgularda (indeks olgu) sorumlu genetik varyasyonun saptanması durumunda doğum öncesi tanı mümkündür. Bu sayede PİY'li bir çocuğa sahip ebeveynler mevcut riskleri tanımlamak ve sağlıklı çocuk sahibi olmak için genetik danışma alabilir. Uygun zamanlarda alınan amniyon sıvısı/hücreleri ya da koryon villus örneklerinden elde edilecek DNA ve klasik Sanger dizileme ile doğrudan mutasyon analizi yapılabilir. X'e bağlı kalıtım gösteren hastalıklar için (örn: X'e bağlı agamaglobulinemi) maternal kontaminasyon riski dışlandıktan sonra erkek fetüslerde mutasyon taraması yapılabilir. Pre implantasyon genetik tanı ise, indeks olguda sorumlu genetik varyasyon tespit edildikten sonra, in vitro fertilize embriyoların uterusu yerleştirilmeden evvel (blastomer ya da blastosist aşamasında) genetik testlere tabi tutulup sağlıklı olanların (mutasyon taşımayan) seçilip yerleştirilmesine imkan tanıyan bir tanı seçeneğidir.

Doğru genetik yaklaşımın seçilmesi ve sonuçların doğru yorumlanabilmesi için klinik ve immünolojik testlerin yönlendirmesi önemlidir. Yüksek düzeydeki genetik ve klinik heterojenite nedeni ile tek gen-tek fenotip yaklaşımı PİY hastalarının genetik tanısında çok başarılı sonuçlar ortaya koymamaktadır. Yeni nesil teknolojiler sayesinde tek seferde çok sayıda aday geni ve hatta tüm

kodlayan genomik bölgeleri analiz etmek mümkün olmaktadır. Genetik testlerin uygulanmasında kısıtlayıcı üç önemli etmen bulunmaktadır; maliyet, testlere erişim ve bulguların klinik yorumu. Genetik testlere ulaşımın mümkün olduğu yerlerde genetik testlerin yapılması, tanının kesinleşmesi, ailesel risklerin belirlenmesi, hızlı bir şekilde tedavi planlaması için çok önemlidir.

#### *Kaynaklar*

1. Picard C, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, Conley ME et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. J Clin Immunol 2015; 35(8): 696-726.
2. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? Arch Dis Child Educ Pract Ed 2013; 98(6): 236-238.
3. Pabinger S, Dander A, Fischer M, Snajder R, Sperk M, Efremova M et al. A survey of tools for variant analysis of next-generation genome sequencing data. Brief Bioinform 2014; 15(2): 256-278.
4. Morra M, Geigenmuller U, Curran J, Rainville IR, Brennan T, Curtis J et al. Genetic Diagnosis of Primary Immune Deficiencies Immunol Allergy Clin N Am 28 (2008) 387-412.
5. Al-Mousa H, Abouelhoda M, Monies DM, Al-Tassan N, Al-Ghonaium A, Al-Saud B et al. Unbiased targeted next-generation sequencing molecular approach for primary immunodeficiency diseases. J Allergy Clin Immunol 2016; 137(6): 1780-1787.
6. Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, Tabor HK, Emond MJ, Nickerson DA et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. Nat Rev Genet 2011; 12(11): 745-755.