

# GENETİK HASTALIKLARDA TÖM EKZOM ANALİZ SONUÇLARIMIZ

Duran Canatan<sup>1,3</sup>, Abdullah im<sup>1</sup>, Peter Bauer<sup>2</sup>,  
Emel Altunsoy<sup>1</sup>, G6zde G6vercin Aldemir<sup>1</sup>

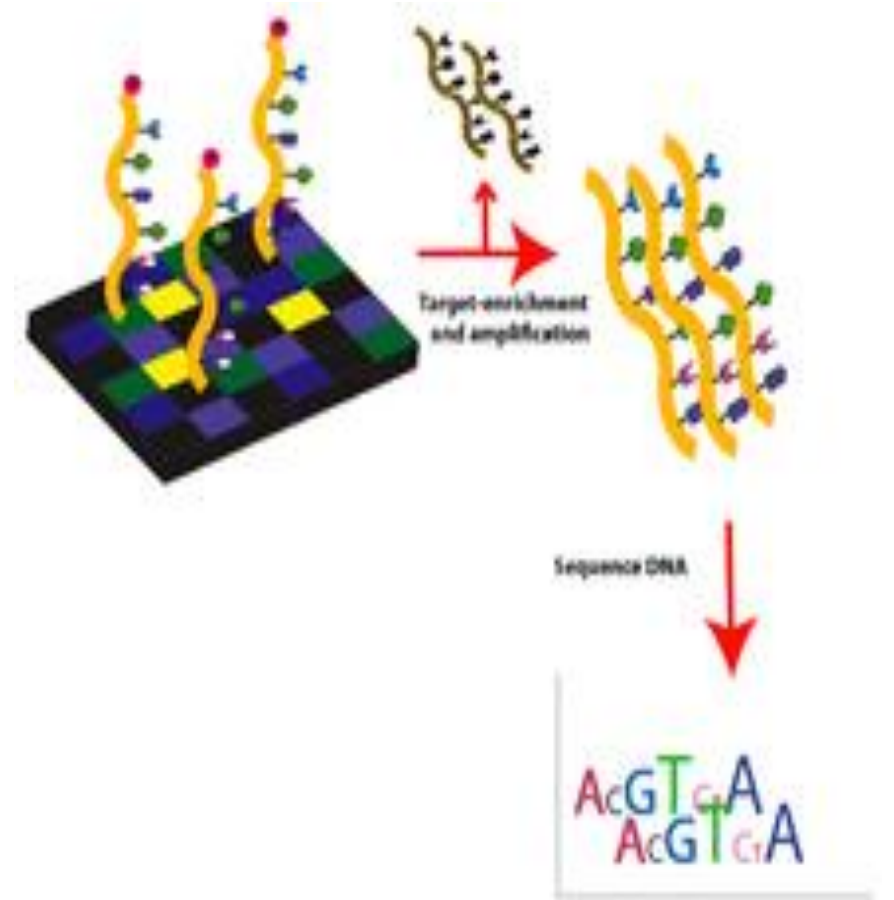
1. Antalya Genetik Hastalıklar Deęerlendirme Merkezi  
Antalya

2. Centogene Genetik Tanı Merkezi –Rostock  
Almanya

3. Antalya Bilim Üniversitesi-Antalya

# Giriş ve Amaç

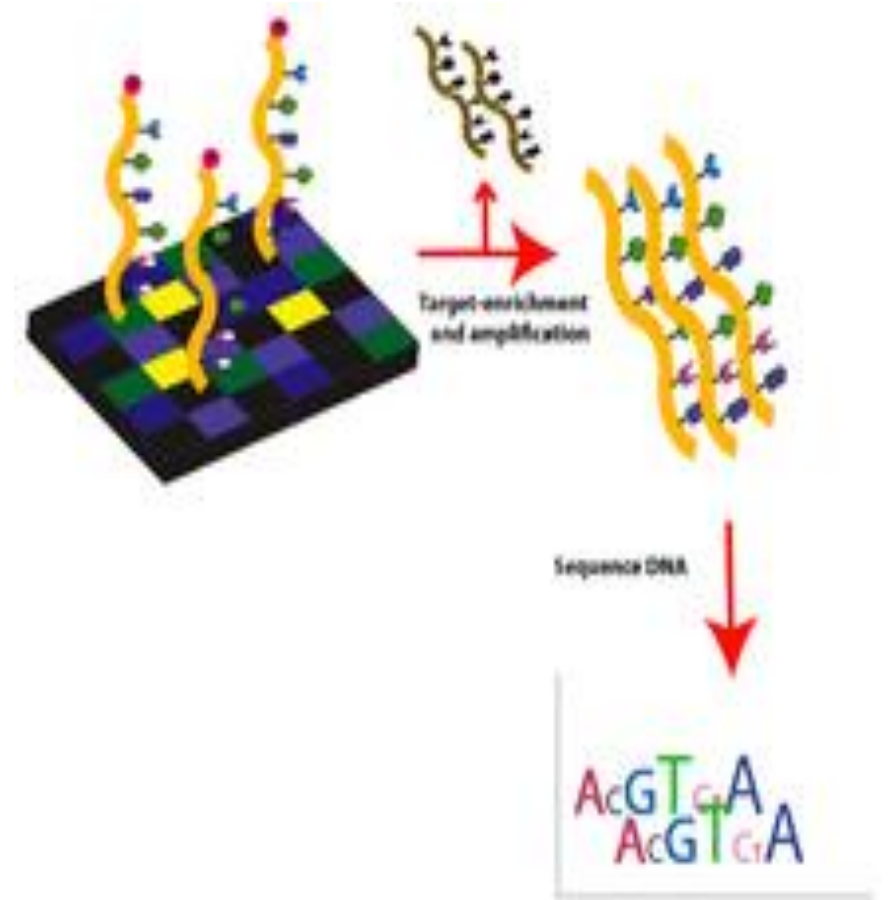
- ✓ **Tüm Ekzom Analizi (TEA)**
- ✓ **Genetik hastalıkların tanısında yüksek düzeyde sağladığı bilgi sebebiyle son yıllarda klinisyenler tarafından tercih edilen test dir.**
- ✓ **TEA**
  - ✓ fenotipik gruplar arasındaki moleküler tanı oranını,
  - ✓ hastalığa katkıda bulunan genetik değişikliklerin spektrumunu ve mutasyonlarını saptamak amacı ile giderek daha fazla kullanılmaktadır.



Yang Y, Muzny DM, Xia F. et.al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. JAMA. 2014 Nov 12;312(18):1870-9. doi: 10.1001/jama.2014.14601

# Giriş ve Amaç

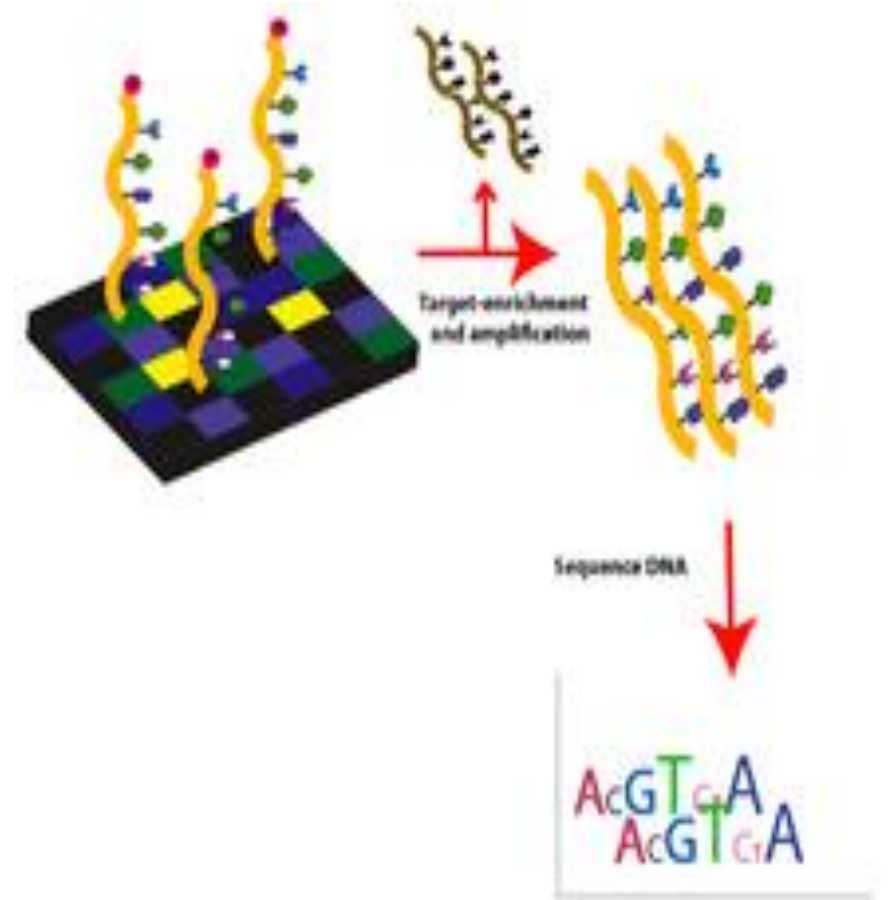
- ✓ **Tüm Ekzom Analizi (TEA)**
- ✓ **Genomun protein kodlayan bölgelerindeki patojenik varyantları tanımlamak için kapsamlı ve uygun maliyetli bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır.**
- ✓ **Bununla birlikte, ekzom dizilemenin patojenik bir varyantı tanımlayamadığı kişiler için, tanı sorunu devam etmektedir.**



Laure Frésard<sup>1</sup> and Stephen B. Montgomery<sup>1,2</sup> Diagnosing rare diseases after the exome. Cold Spring Harb Mol Case Stud.. 2018 Dec 17;4(6):a003392. doi: 10.1101/mcs.a003392. Print 2018 Dec.

# Giriş ve Amaç

- ✓ **Tüm Ekzom Analizi (TEA)**
- ✓ Mendel hastalıklarına neden olan yeni genlerin ve mekanizmaların keşfedilmesinde etkili olmuştur.
- ✓ Bu teknoloji şu anda birçok klinikte, özellikle nadir görülen hastalıklara tanı koymak için başarıyla uygulanıyor olsa da, bir dizi etik, yasal ve sosyal sorunu da gündeme getirmektedir.



Gabrielle Bertier 1 2, Karine Sénécal 1, Pascal Borry 3, Danya F Vears 3 4 Unsolved challenges in pediatric whole-exome sequencing: A literature analysis Crit Rev Clin Lab Sci. 2017 Mar;54(2):134-142. doi: 10.1080/10408363.2016.1275516. Epub



# Giriş ve Amaç

- ✓ **Bu çalışmada amacımız;**
- ✓ **Merkezimizin TEA sonuçlarını retrospektif olarak değerlendirmek ve literatür ile karşılaştırmaktır.**

# Hastalar ve Yöntem

- ✓ Merkezimize **2016 ve 2022** yılları arasında başvuran,
- ✓ Yaşları **1-56 (Ortalama  $\pm$  SD:  $12,4 \pm 15,4$ )** yıl olan,
- ✓ **207** hastaya (Kadın:103, Erkek:104) **TEA** uygulanmıştır.
- ✓ Hasta veya ebeveynlerden **bilgilendirilmiş onam formu** alındıktan sonra **5 cc EDTA** lı kan örneği alınmıştır.
- ✓ Kan örnekleri özel kartlara işlendikten sonra **Almanya'ya** gönderilmiş ve bir ay içinde raporlanmıştır.

# Bulgular

✓ Toplam 207 hastanın

✓ **120 sinde (%58) TEA pozitif, 87 sinde negatif (%42) bulunmuştur.**

ACMG sınıflandırması*	Tüm Ekzom Dizileme (%)
Sınıf 1 değişiklik	51(42,5)
Sınıf 2 değişiklik	14 (11,7)
Sınıf 3 değişiklik	53 (44,1)
Risk faktörü tespiti	2 (1,7)
<b>Toplam</b>	<b>120 (100)</b>

# Bulgular

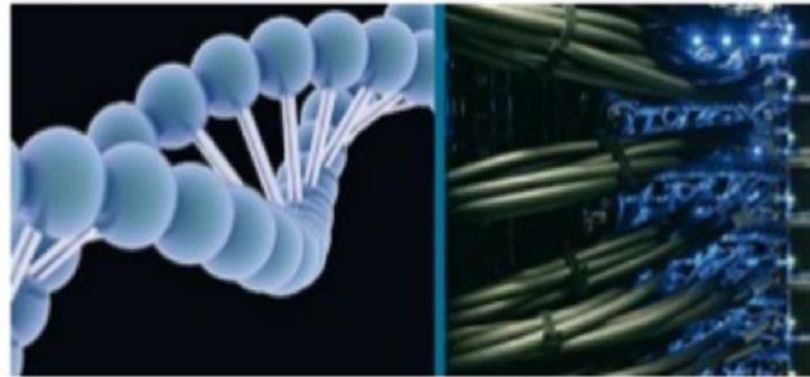
## ✓ Toplam 207 hastanın Hastalıklara göre dağılımı

Hastalıklar	Ekzom Dizileme (%)
Nörolojik Hastalıklar	124 (60)
Hematolojik Hastalıklar	17 (8,2)
İmmunolojik hastalıklar	16 (7,8)
Metabolik Hastalıklar	13 (6,3)
Nefrolojik Hastalıklar	9 (4,3)
Dermatolojik Hastalıklar	2 (1)
Göz Hastalıkları	1 (0,4)
Diğer	25 (12)
<b>Toplam</b>	<b>207 (100)</b>

# Tartışma

✓ **Yeni nesil dizileme (YND) teknolojilerinin ortaya çıkışı, patojenik genetik varyasyonların tanımlanmasında genomik araştırma ve tanıda devrim yaratmıştır.**

- Mutation discovery
- Transcriptome Analysis – RNA-Seq
- Sequencing clinical isolates in strain-to-reference mechanisms.
- Enabling Metagenomics
- Defining DNA-Protein interactions – CHIP-Seq
- Discovering non-coding RNAs
- Molecular diagnostics for Oncology & Inherited Disease study.
- Gene Regulation Analysis
- Whole Genome Sequencing
- Exploring Chromatin Packaging



# Tartışma

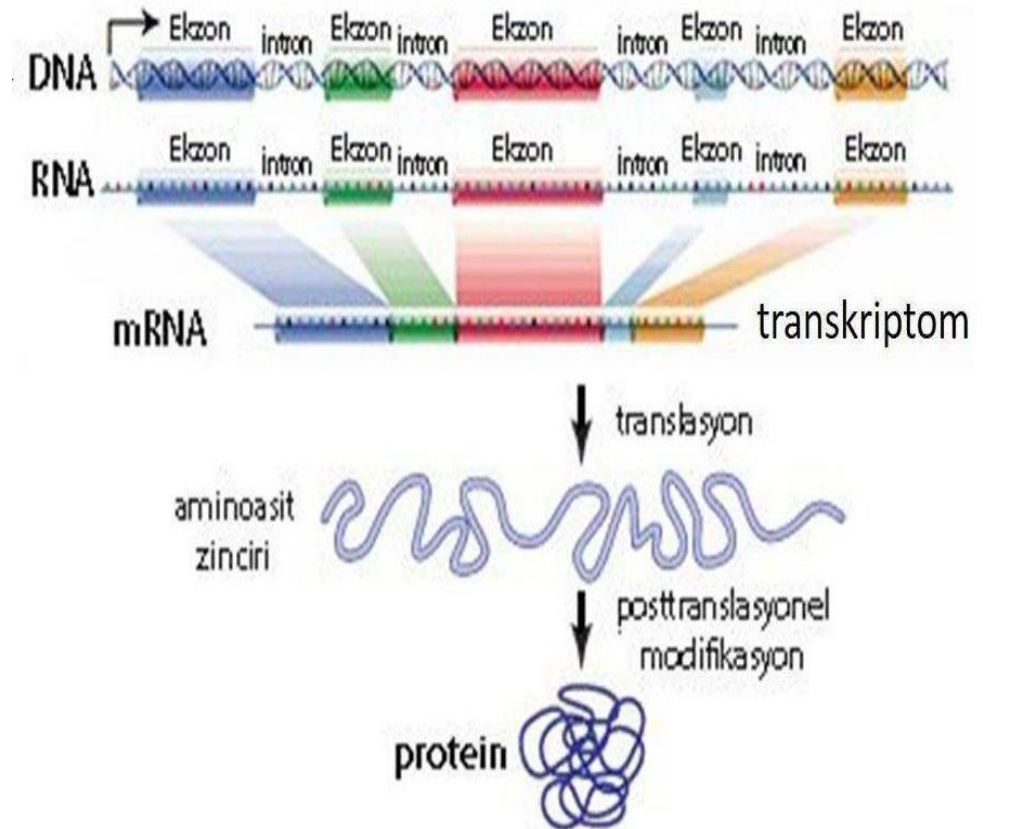
KLİNİK EKZOM

TÜM EKZOM ANALİZİ

MİTOKONDRIAL GENOM

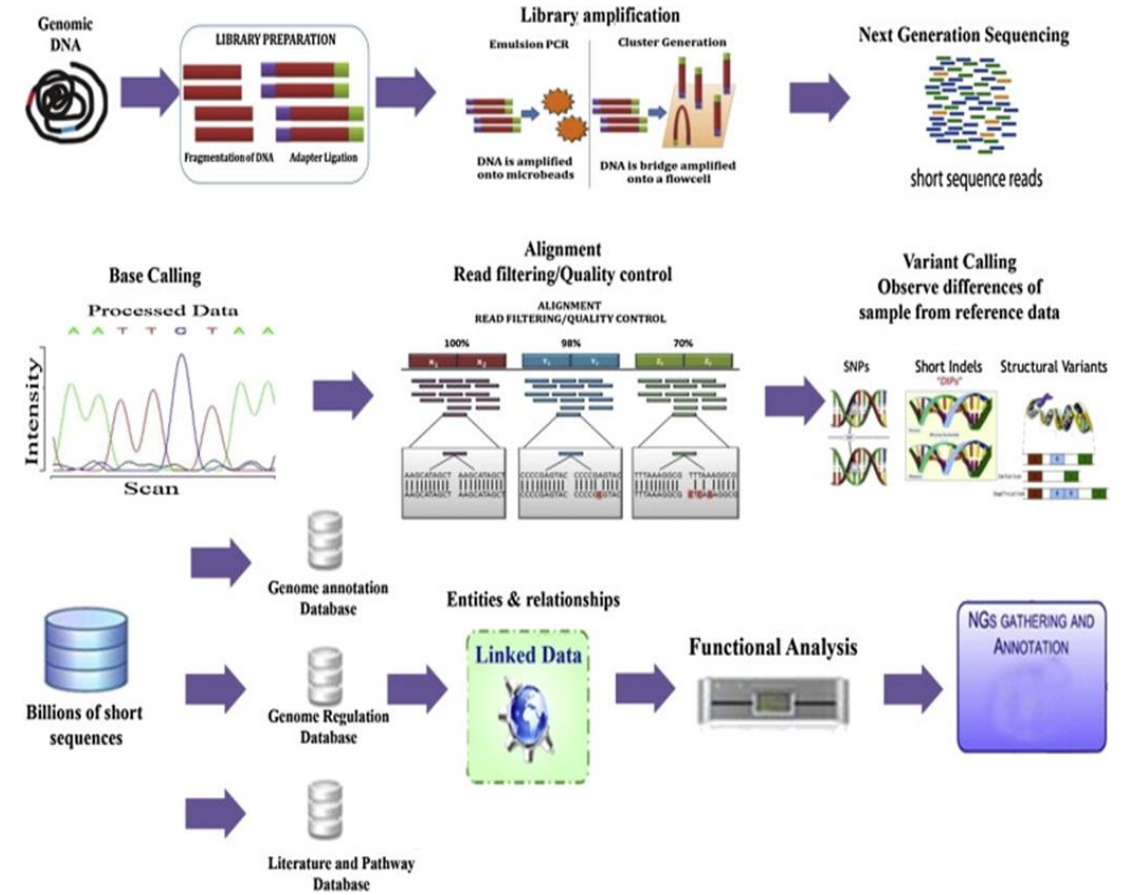
TÜM GENOM ANALİZİ

## NGS UYGULAMA ALANLARI



# Tartışma

- ✓ Dünya çapında **yaklaşık 400 milyon kişinin**, ağırlıklı olarak tek bir gendeki mutasyonun neden olduğu nadir hastalıkları olduğu tahmin edilmektedir.
- ✓ Bu amaçla yapılan çalışmalarda
- ✓ **TEA** mevcut moleküler tanı oranı, **%50** civarında olduğu yayınlanmıştır.



Laure Frésard 1, Craig Smail 2, Nicole M Ferraro 2, Nicole A Teran 3, Identification of rare-disease genes using blood transcriptome sequencing and large control cohorts. Nat Med. 2019 Jun;25(6):911-919. doi: 10.1038/s41591-019-0457-8. Epub 2019 Jun 3.

# Tartışma

- ✓ **TEA** verimini optimize etme ve maliyetleri ve kesin tanıya ulaşma süresini en aza indirme bağlamında, fenotip odaklı olarak yalnızca **TEA** stratejisi uygulanan çalışmada;
- ✓ Etiyolojisi bilinmeyen bozuklukların genetik analizi için 400 hastanın 3 yıllık bir deneyim sunulmuş.
- ✓ Tanı yüzdesi **%53'e** ulaşmış ve 210 olguda, 85'i yeni ve 148'i bilinen olmak üzere 233 patojenik varyant tanımlanmış.
- ✓ Klinisyenler ve laboratuvarlar arasındaki etkin multidisipliner işbirliği bağlamında **TEA**, birinci kademe genomik analiz için verimli ve uygun bir tanı yöntemi olduğu yayınlanmıştır.

Nikolaos M Marinakis et.al. Phenotype-driven variant filtration strategy in exome sequencing toward a high diagnostic yield and identification of 85 novel variants in 400 patients with rare Mendelian disorders. Am J Med Genet A. 2021 Aug;185(8):2561-2571. doi: 10.1002/ajmg.a.62338. Epub 2021 May 19.



# Tartışma

- ✓ ABD de bir klinik genetik laboratuvarında; geniş bir seride yapılan çalışmada, **TEA ile olguların (%25.2) moleküler tanı** rapor edilmiş.
- ✓ Olguların 1756 Çocuk, 1101 Erkek, 888 Kadın ve 11 Fetüs olmak üzere toplam 3756 olguya TEA uygulanmış.
- ✓ **527 moleküler tanının Mendel hastalığı paternleri:**
- ✓ 280 (%53,1) otozomal dominant,
- ✓ 181 (%34,3) otozomal resesif (uniparental dizomili 5 dahil),
- ✓ 65 (%12,3) X'e bağlı ve
- ✓ **1 (%0,2) mitokondriyal içeriyordu.**

Yang Y, Muzny DM, Xia F. et.al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. JAMA. 2014 Nov 12;312(18):1870-9. doi: 10.1001/jama.2014.14601

# Tartışma

- ✓ **Boy Kısalığı** olan olgularda yapılan bir çalışmada **%24,1** oranında tanı konmuş.
- ✓ Bu çalışmada, 4 yıllık bir süre içinde Çin'deki iki merkezden kısa boylu 561 kişiyi incelemişler.
- ✓ Tüm hastalar ve mevcut ebeveynler için **TEA** uygulanmış.
- ✓ Tüm hastalar geriye dönük olarak iki gruba ayrılmış:
  - ✓ izole bir kısa boy grubu (grup I, n = 257) ve
  - ✓ görünüşte sendromik bir kısa boy grubu (grup II, n = 304).
- ✓ **561 hastanın 135'inde (%24,1) nedensel varyantlar** tespit edilmiş.

Xin Fan 1, Sen Zhao 2, Chenxi Yu 2, et.al. Exome sequencing reveals genetic architecture in patients with isolated or syndromic short stature. J Genet Genomics.. 2021 May 20;48(5):396-402. doi: 10.1016/j.jgg.2021.02.008. Epub 2021 Mar 22.



# Tartışma

- ✓ İzole Boy kısalığında **%11.3**, Sendromik **olgularda %34.9** oranında tanı konmuş.
- ✓ Grup I'de 257 hastanın 29'u (%11,3) 24 gendeki varyantlarla çözülmüş.
- ✓ Grup II'de 304 hastanın 106'sı (%34.9) 57 gendeki varyantlarla çözülmüş.
- ✓ Temel hücresel süreçte yer alan genler, sendromik boy kısalığının genetik mimarisinde önemli bir rol oynamıştır.
- ✓ Farklı genetik mimariler ve patofizyolojik süreçler, izole ve sendromik kısa boyların altında yatmaktadır.

Xin Fan 1, Sen Zhao 2, Chenxi Yu 2, et.al. Exome sequencing reveals genetic architecture in patients with isolated or syndromic short stature. J Genet Genomics.. 2021 May 20;48(5):396-402. doi: 10.1016/j.jgg.2021.02.008. Epub 2021 Mar 22.



# Tartışma

✓ **Nörogenetik** hastalıklarda yapılan bir çalışmada **%39 pozitif** bulunmuş

✓ Çocukluk çağı başlangıçlı olguların %59'u ve Geç başlangıçlı olguların %27'si olmak üzere 26 olguda (**%39**) moleküler tanıya ulaşılmış.

✓ Genel olarak,

✓ Miyopatinin **%37'sine** (10/27),

✓ Nöropatinin **%41'ine** (9/22),

✓ Müsküler Nöropati Hastalığının **%22'sine** (2/9) ve

✓ Kompleks fenotiplerin **%63'üne** (5/8) genetik tanı konulmuş.

Christopher Grunseich 1, Nathan Sarkar 2, Joyce Lu et.al. Improving the efficacy of exome sequencing at a quaternary care referral centre: novel mutations, clinical presentations and diagnostic challenges in rare neurogenetic diseases. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2021 Nov;92(11):1186-1196. doi: 10.1136/jnnp-2020-325437. Epub 2021 Jun 8.

# Tartışma

- ✓ **Yenidoğan yoğun bakımda** yatan hastaların **%46,6** sına **TEA** ile tanı konulmuş.
- ✓ Bu çalışmada, kritik hastalık durumunda olan veya net bir etiyolojisi olmadan kısa sürede ölen **58 Yeni Doğan Yoğun Bakım ünitesinde yatan hastalar** (39 ölü ve 19 hayatta) araştırılmış.
- ✓ Ailelerinden alınan 103 DNA örneğinden TEA yapılmış.
- ✓ Toplam **27 (%46,6)** hastaya genetik tanı konulmuş.
- ✓ Solunum, çoklu konjenital anomaliler, nöromusküler veya metabolik bozukluklarla ilişkili fenotipler en yaygın olarak yayınlanmıştır.

Juan Liu , Yu Zheng, Jiaotian Huang et.al. Expanding the genotypes and phenotypes for 19 rare diseases by exome sequencing performed in pediatric intensive care unit. Hum Mutat.. 2021 Nov;42(11):1443-1460. doi: 10.1002/humu.24266. Epub 2021 Aug 15.

# Tartışma

- ✓ **Renalgenetik hastalıklarda** yapılan çok merkezli çalışmada **%56,5** oranında tanı konmuş
- ✓ İtalya'da 13 farklı Nefroloji ve Genetik Biriminden **138 hasta** incelenmiş.
- ✓ Çalışmaya alınan 138 hastanın 52'si (%37.7) çocuk ve 86'sı (%62.3) yetişkin, %48 kadarında böbrek hastalığı için pozitif bir aile öyküsü varmış.
- ✓ Hastaların **78 inde (%56,5)** fenotipi potansiyel olarak açıklayan genetik varyantların tanımlanması yapılmış.

Tiziana Vaisitti 1, Monica Sorbini 1, Martina Callegari 2, et.al. Clinical exome sequencing is a powerful tool in the diagnostic flow of monogenic kidney diseases: an Italian experience J Nephrol.. 2021 Oct;34(5):1767-1781. doi: 10.1007/s40620-020-00898-8. Epub 2020 Nov 23.



# Tartışma

- ✓ Bir merkezde, Dismorfik hastalıkların tanısında da **TEA** ve bilgisayar tabanlı yeni nesil fenotipleme (**Face2Gene**) ile tanı konmuş.
- ✓ **Face2Gene** uygulaması ile **25 hastanın fotoğrafları** taranarak bu teknolojinin nadir görülen genetik hastalıkların tanısındaki başarısı araştırılmış. Bunlardan **12 (%48)** olguya doğru tanı konmuş.
- ✓ Hastalarda en sık görülen hastalık grubu **nörolojik hastalık (%96)** olarak rapor edilmiş.
- ✓ **TEA ile birlikte, Face2Gene** gibi uygulamalar klinik bir ön tanı koymaya ve daha büyük bir veri tabanı oluşturmaya yardımcı olur diye yayınlanmış.

Muhsin Elmas 1, Basak Gogus 1. Success of Face Analysis Technology in Rare Genetic Diseases Diagnosed by Whole-Exome Sequencing: A Single-Center Experience Mol Syndromol. 2020 Feb;11(1):4-14. doi: 10.1159/000505800. Epub 2020 Feb 1.



# Sonuç

✓ Literatür ile karşılaştırdığımızda, merkezimizde **%58** gibi yüksek pozitiflik nedeni, **klinisyen-genetik uzmanı** iş birliği ile, **genotip ve fenotip ilişkisinin** iyi karşılaştırılmasıdır.

## GENETİK TEST İSTEMİ ÖNCESİ İŞLEMLER



- **Hastadan örnek alınmadan önce;**

- Hastanın bulgularının dikkatlice tanımlanması,

- Etkilenmiş bireylerin tanımlanması, Aile soyağacının çıkarılması

- Biyokimyasal ve görüntüleme yöntemlerinin sonuçlarının eklenmesi,

- Varsa Genetik ön tanılarının belirlenmesi,

**Dizileme sonuçlarının analizini kolaylaştıracak ve başarı oranını arttıracaktır**



# Dikkatiniz için teşekkürler...

✓ AGTC merkezimizde **Antalya Bilim Üniversitesi öğrencilerimiz ve ekibimizle 25 Nisan Dünya Günün de** birlikteyiz...

