

# *Kistik Fibröz Genetiği*

# KİSTİK FİBROZ

- Batı toplumlarında en sık görülen tek gen hastalığı
  - Sıklığı:1/2500
  - Taşıyıcılık 1/25
- OR
- Çocukluk çağında bulgu verir
  - %7 erişkin
- Kronik hastalık

## Kistik Fibrozis için taşıyıcılık etnik gruplara göre değişir

- Beyaz ırkda 1/25
- Musevilerde 1/25
- İspanyol kökenlilerde 1/46
- Afrika kökenli Amerikalılarda 1/65
- Asya kökenlilerde 1/90

## Etnik gruplara göre Kistik Fibrozis sıklığı (1/canlı doğum)

- Beyaz ırk 1/2500-3000
- Musevilerde 1/2500-3000
- İspanyol kökenli 1/8000-9000
- Afrika kökenli Amerikalı 1/15300
- Asya kökenlilerde 1/32100

# KİSTİK FİBROZ - Tarihçe

- 7. Yüzyıl: “Öpüldüğünde alnında tuz tadı olan çocuk çok geçmeden ölü” (İsviçre’den Almanca bir çocuk oyun şarkısı)
- 1938 - CF de pankreas tutulumu Dr. Dorothy Andersen (patalog)
- 1943 - Mukovisidozis Dr. Sydney Farber (patalog)
- 1948 - Hyponatremic dehydration – CF
- 1953 - Terde Cl artışının tanı testi olması Dr. Paul di Sant’Agnese

# KİSTİK FİBROZ - Tarihçe

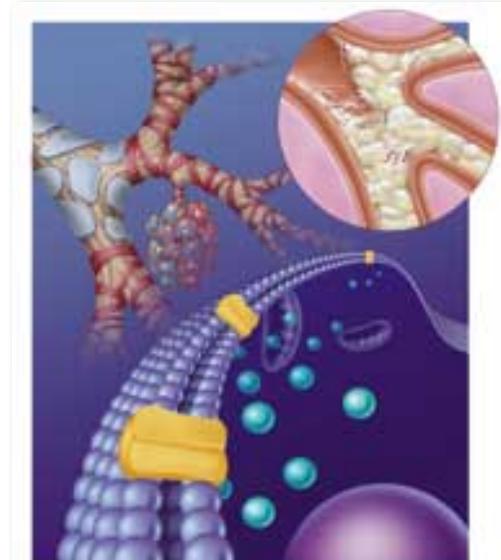
- 1980 - Tedavi ile yaşam süresinin uzaması
  - Pankretik enzimler
  - Vitamin desteği, semptomatik tedavi
- 1989 – CFTR geninin klonlanması ve 7. kromozomda olduğunun belirlenmesi, Delta F508 in tanımlanması
  - Reverse genetik
- 2015 – 1950 'den fazla mutasyonun tanımlanması



Lap-Chee Tsui

# Kistik Fibrozda Temel Patoloji

- \* Mukus üreten organların kanallarında koyu mukus toplanması
- ↓
- \* Kanallarda dilatasyon
- ↓
- \* Bu kanalların bulunduğu organlarda ilerleyici bozukluk



# Kistik Fibrozda Tutulan Organlar

## Manifestations of Cystic Fibrosis

General  
-Growth failure (malabsorption)  
-Vitamin deficiency states (vitamins A, D, E, K)

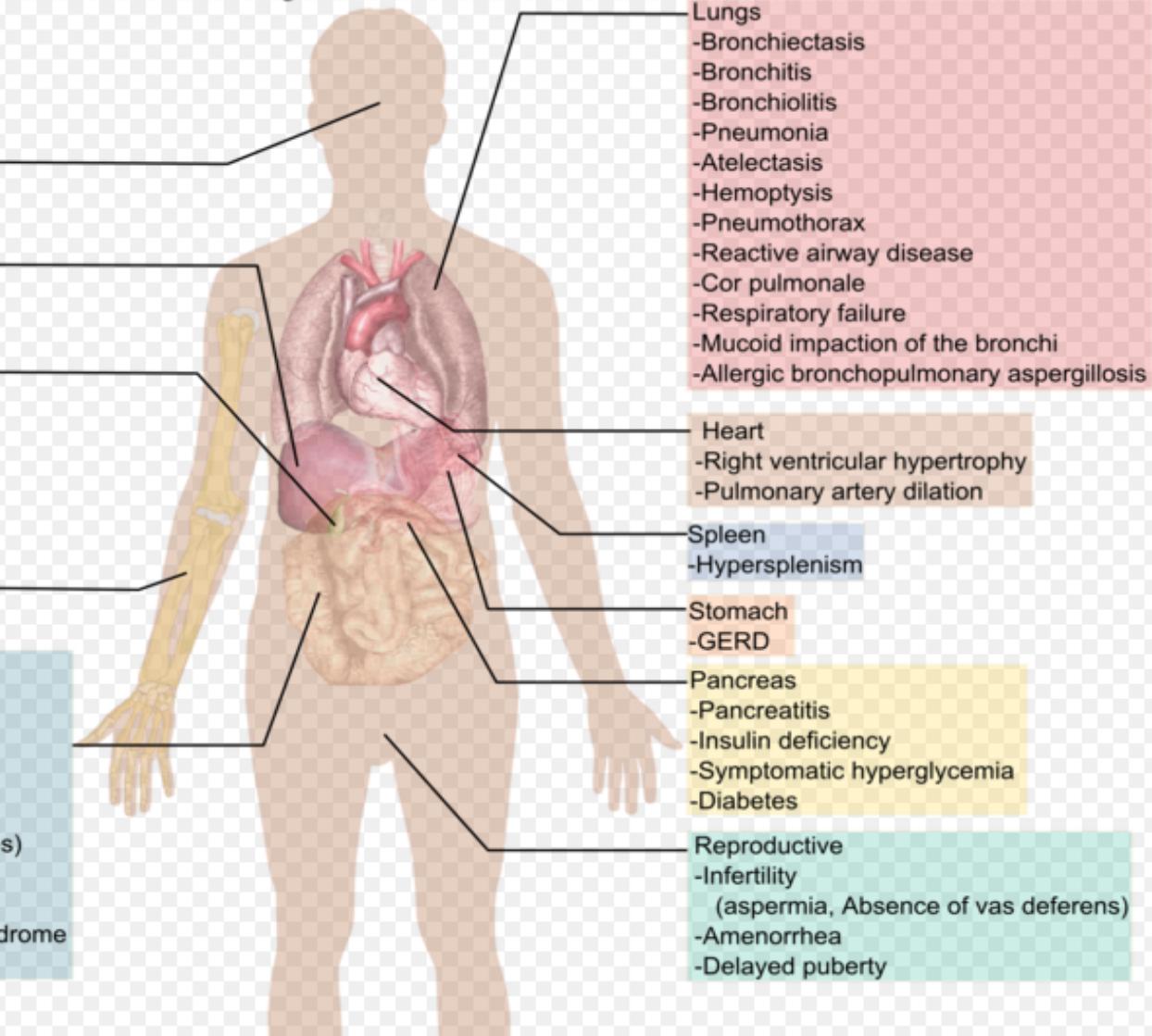
Nose and sinuses  
-Nasal polyps  
-Sinusitis

Liver  
-Hepatic steatosis  
-Portal hypertension

Gallbladder  
-Biliary cirrhosis  
-Neonatal obstructive jaundice  
-Cholelithiasis

Bone  
-Hypertrophic osteoarthropathy  
-Clubbing  
-Arthritis  
-Osteoporosis

Intestines  
-Meconium ileus  
-Meconium peritonitis  
-Rectal prolapse  
-Intussusception  
-Volvulus  
-Fibrosing colonopathy (strictures)  
-Appendicitis  
-Intestinal atresia  
-Distal intestinal obstruction syndrome  
-Inguinal hernia



# KİSTİK FİBROZ

## PROGNOZ GİDEREK İYİLEŞMEKTE

>%38 hasta → 18 yaşın üstünde

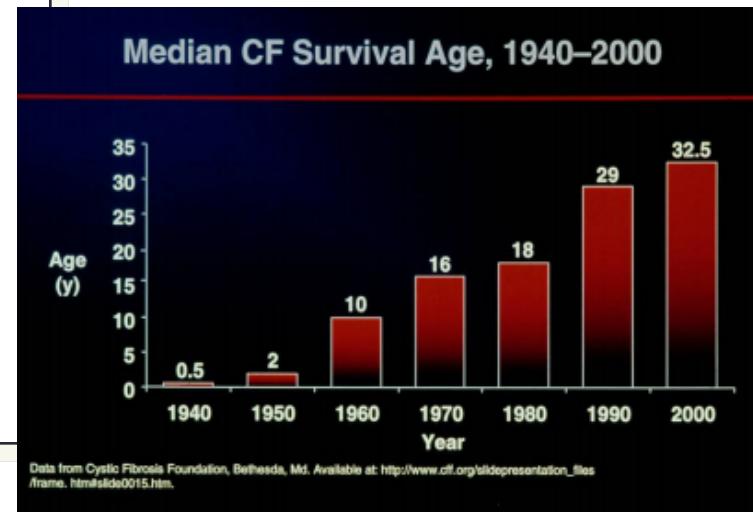
%13 hasta → 30 yaşın üstünde

## ORTALAMA YAŞAM

E → 32 yaş

K → 29 yaş

\* Erkeklerin %85'i sterildir



# KİSTİK FİBROZİSTE EN SIK SEMPTOMLAR

- \* öksürük/hışıltı
- \* infeksiyonlar/ pnömoni
- \* nazal polipler
- \* GIS problemleri
- \* büyümeye geriliği
- \* tuzlu cilt
- \* infertilite



Bronşektazi  
Pnömotoraks  
Müküs tıkacı

**Semptomların çeşidi ve ağırlığı  
kişiden kişiye değişir.**

**Ter testi kistik fibrozis tanısında  
altın standart olarak kabul  
edilmektedir**

**Terde Cl -**



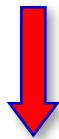
**60mEq/lt**



## **TRANSEPİTELİAL NAZAL POTANSİYEL FARKI (NPD) ÖLÇÜMÜ 6 YAŞIN ÜSTÜNDE DEĞERLİ BİR TANI KRİTERİDİR.**

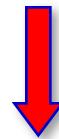
- Kistik fibrozda normallerle kıyaslandığında basal NPD↑
- Cl geçirmeyen membranda → artmış Na reapsorpsiyonunu gösterir.

# Kistik Fibrozun Klinik Sınıflaması



## Klasik Kistik fibroz

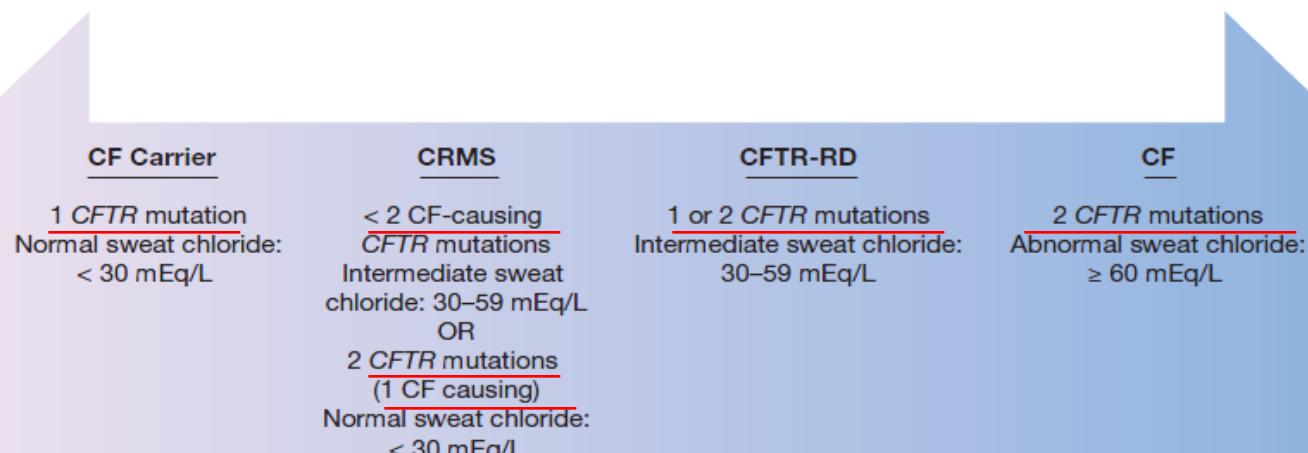
- Terde Cl $>60$  Meq/lt
- Hızlı-progresif
- Heriki allelede Kistik Fibroza neden olduğu bilinen mutasyon
- Akciğer tutulumu  
± Pankreas



## Non-Klasik Kistik fibroz

- Terde Cl $<30$  veya 30-60 Meq/lt
- Hafif hastalık tablosu
- En az bir veya daha fazla semptom
- NPD de artma
- En az bir allelede Kistik Fibroz mutasyonu

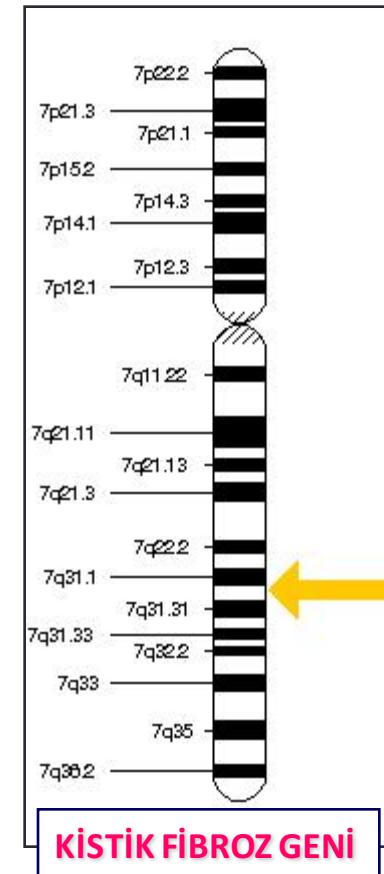
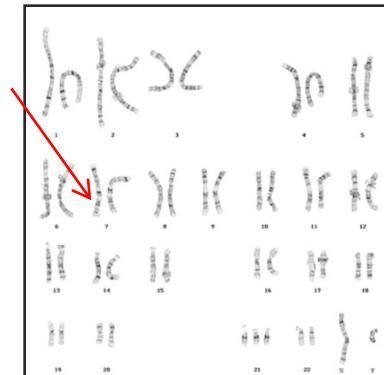
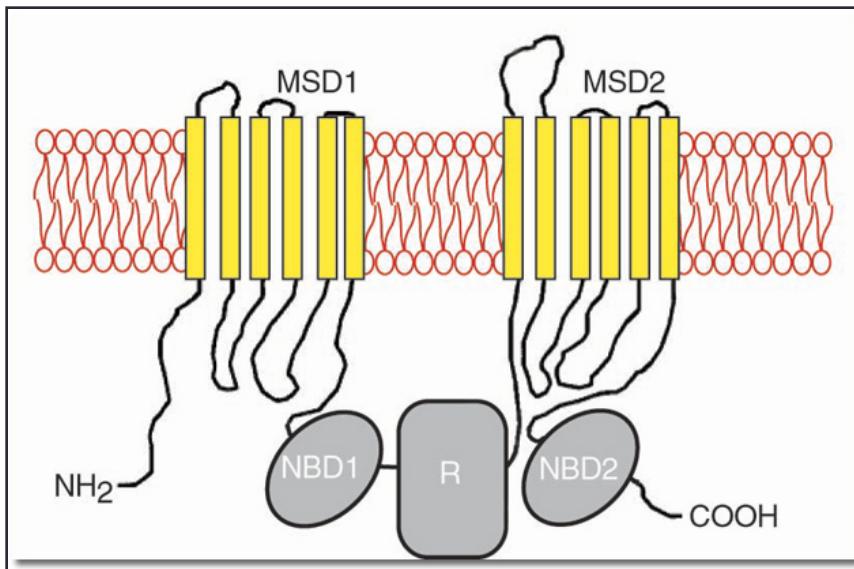
# Kistik Fibrozda Klinik Spektrum



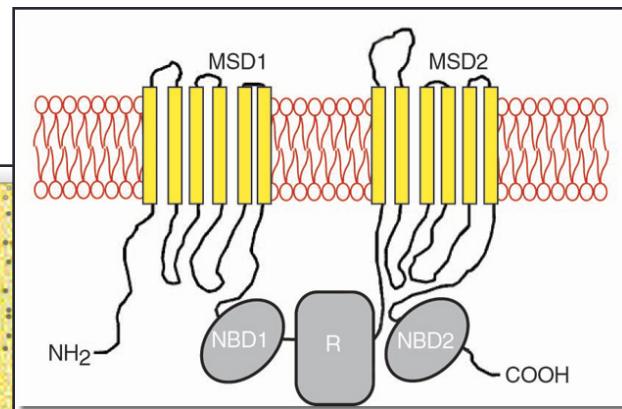
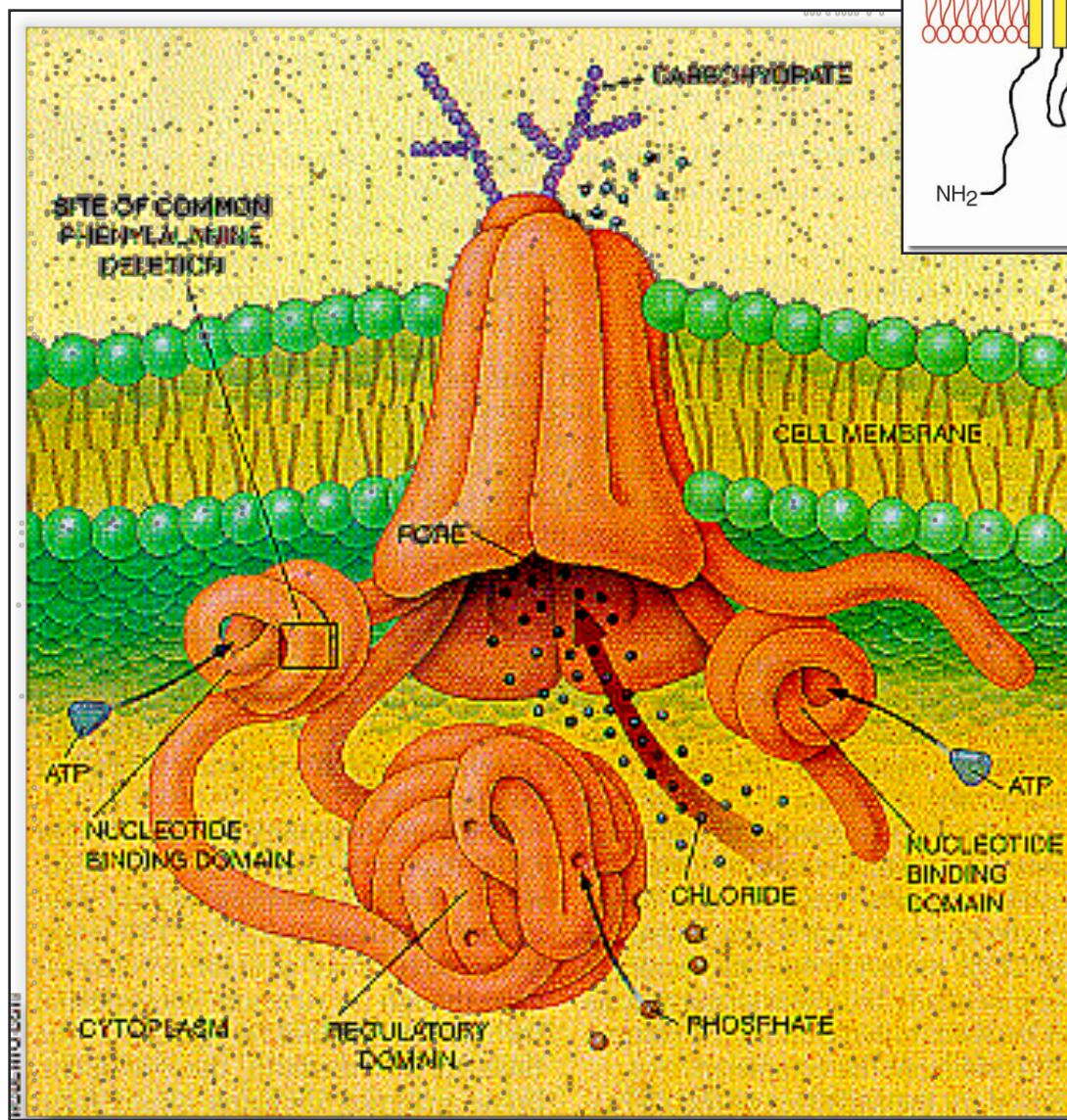
**Figure 3.** The Cystic Fibrosis Diagnostic Spectrum.<sup>10, 15, 21, 22</sup> CF = cystic fibrosis; CFTR = cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; CFTR-RD = CFTR-related disease; CRMS = CFTR-related metabolic syndrome.

# KİSTİK FİBROZ GENİ

- \* 7q31.2
- \* 190 Kb uzunlukta- 27 ekzon
- \* 6129 baz transkripsiyona +
- \* 1480 aa-CFTR proteini



# CFTR Proteini

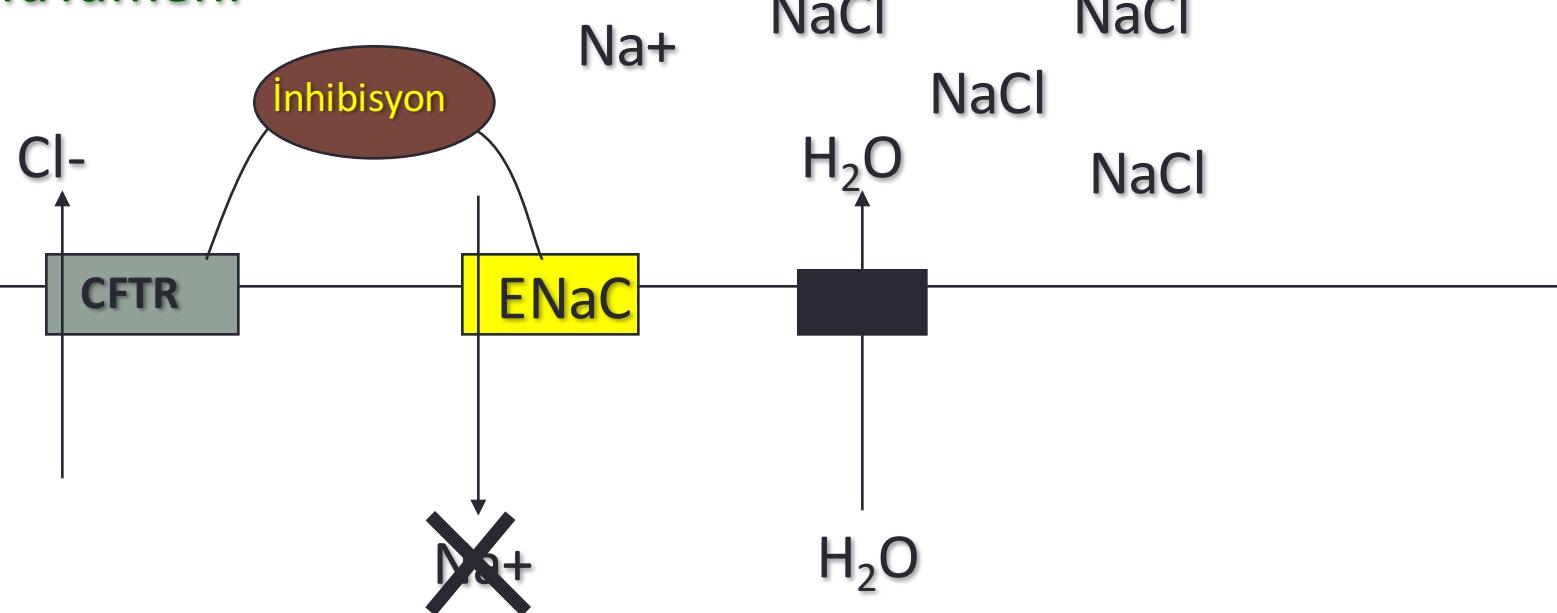


# CFTR Fonksiyonu ve Kistik Fibroz

## NORMAL FONKSİYON

CFTR cAMP ye bağımlı,  $\text{Cl}^-$  kanalı oluşturan ve  $\text{Cl}^-$  un hücreden dışarı çıkışını sağlayan bir proteindir. Bunu hücreden ATP kullanarak yapar.

Havayolu lumeni



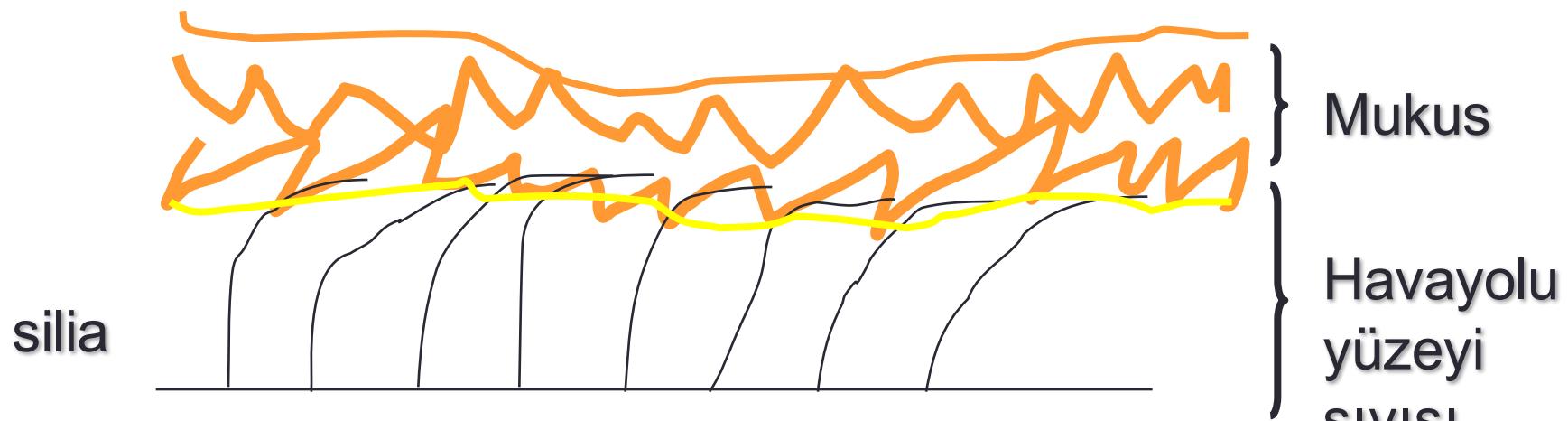
Şekil: Rebekah F. Brown, MD

Center Director, Cystic Fibrosis Center at  
Vanderbilt

intraselüler

# NORMAL

## Havayolu lumeni



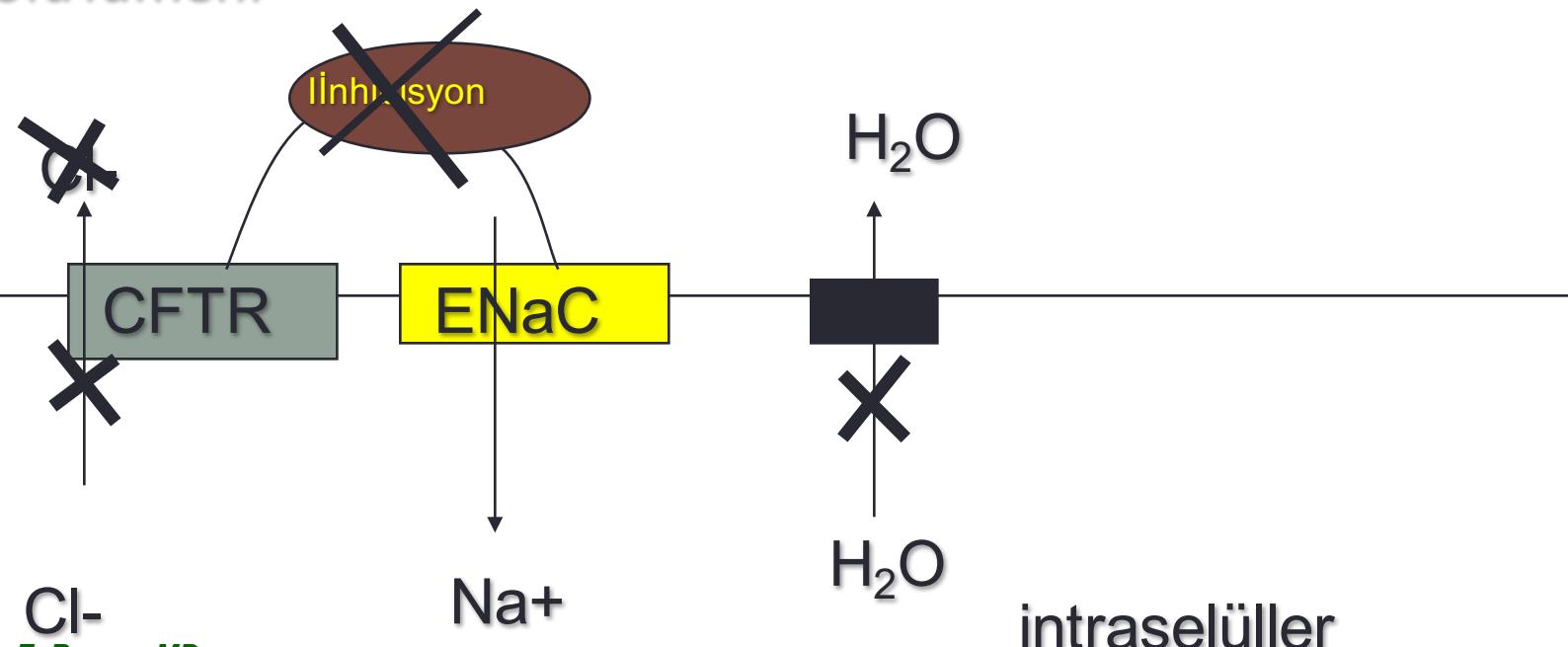
Silia kolaylıkla hareket edecek ortam bulur ve havayoulunu partiküller ve bakterilerden temizler

Çok miktarda sıvı inflamatuvar hücrelere uygun ortam sağlar, bakteri ve virusları vs. bularak yok olmalarını sağlar

# CFTR Fonksiyonu ve Kistik Fibroz

## KİSTİK FİBROZ

Havayolu lumeni

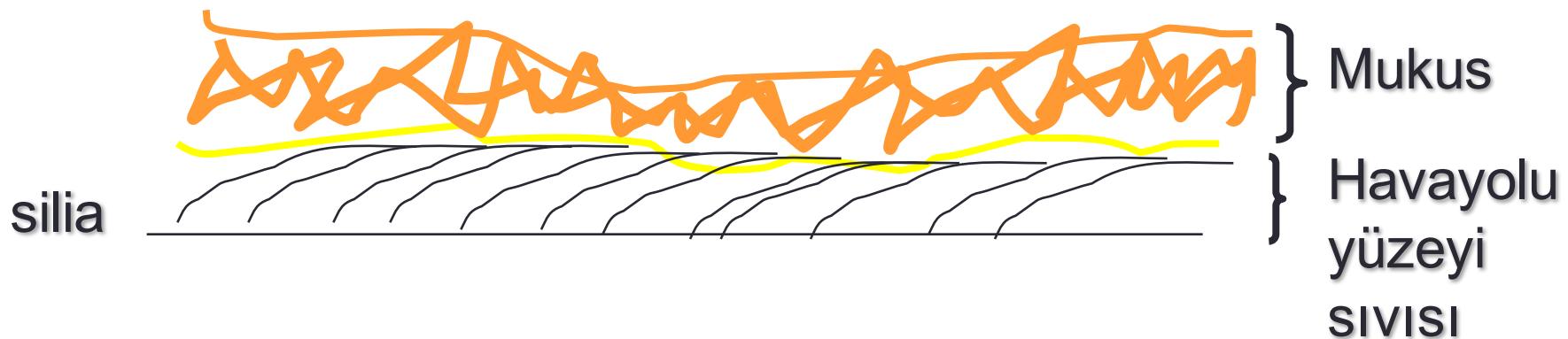


Şekil: Rebekah F. Brown, MD

Center Director, Cystic Fibrosis Center at  
Vanderbilt

# Kistik Fibroz

Havayolu lumeni



Silia kalın mukus nedeniyle hareket edemez, partikülleri vs dışarı atamaz..

Nötrofillerin nekrozu sonucu DNA ve aktin, mukusa geçer mukus koyulaşır

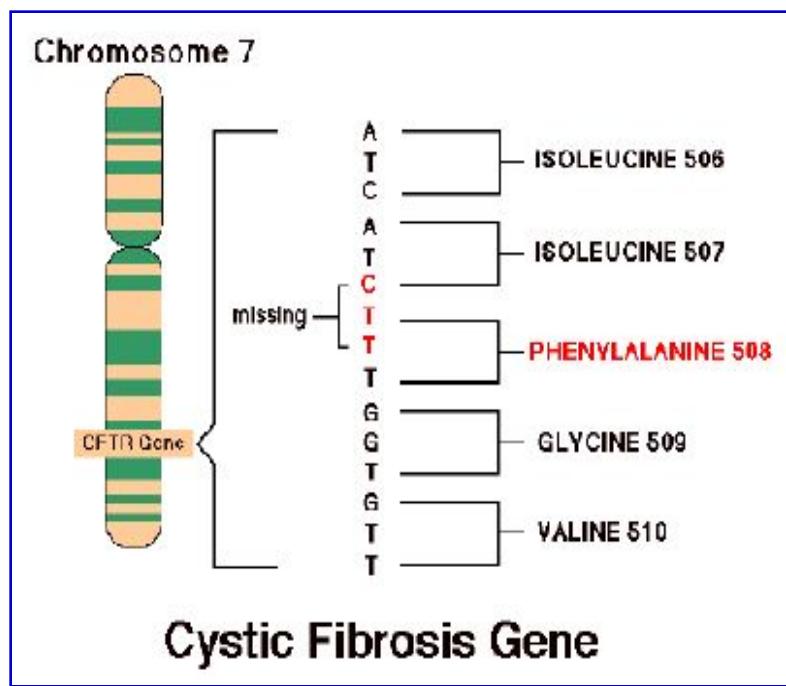
Şekil: Rebekah F. Brown, MD

Center Director, Cystic Fibrosis Center at  
Vanderbilt

## **CFTR FONKSİYONU HASTALIK TABLOSU İLİŞKİSİ**

- **fonksiyon % 50 var = Hastalık yok**
- **fonksiyon % 10 to 49 = KF tablosu yok, fakat fertilité ve sterilite problemleri var**
- **fonksiyon % 5 = “Hafif” KF, geç tanı**
- **fonksiyon % 4 den az= progresif pulmoner hastalık**
- **fonksiyon %1 den az= Pulmoner hastalık ve Pankreatik yetmezlik**

# Kistik fibrozis geninde en sık rastlanılan mutasyon → Delta F508 → F508del



## CFTR Sequence:

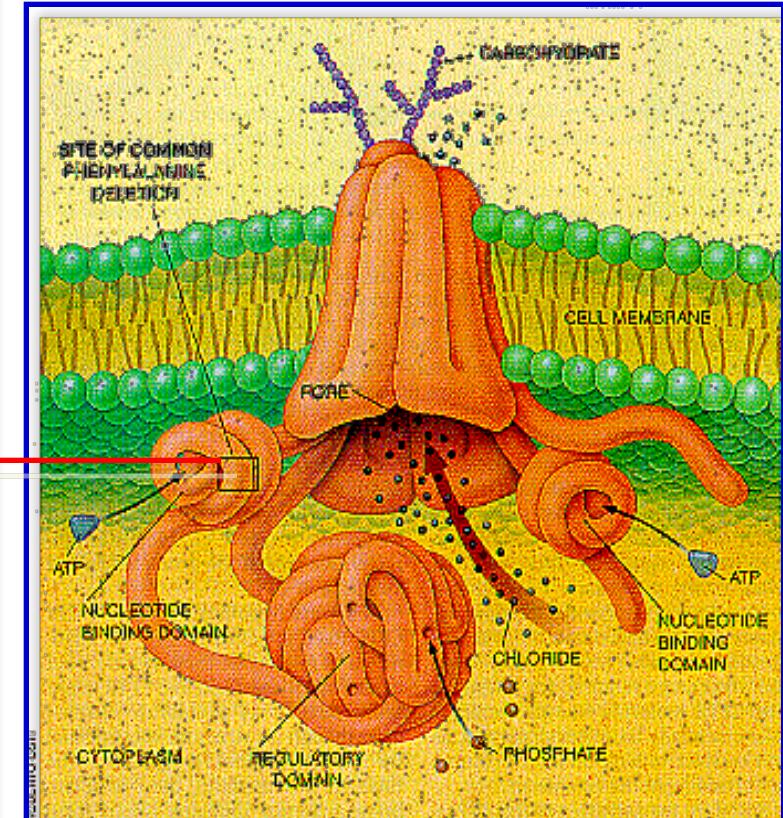
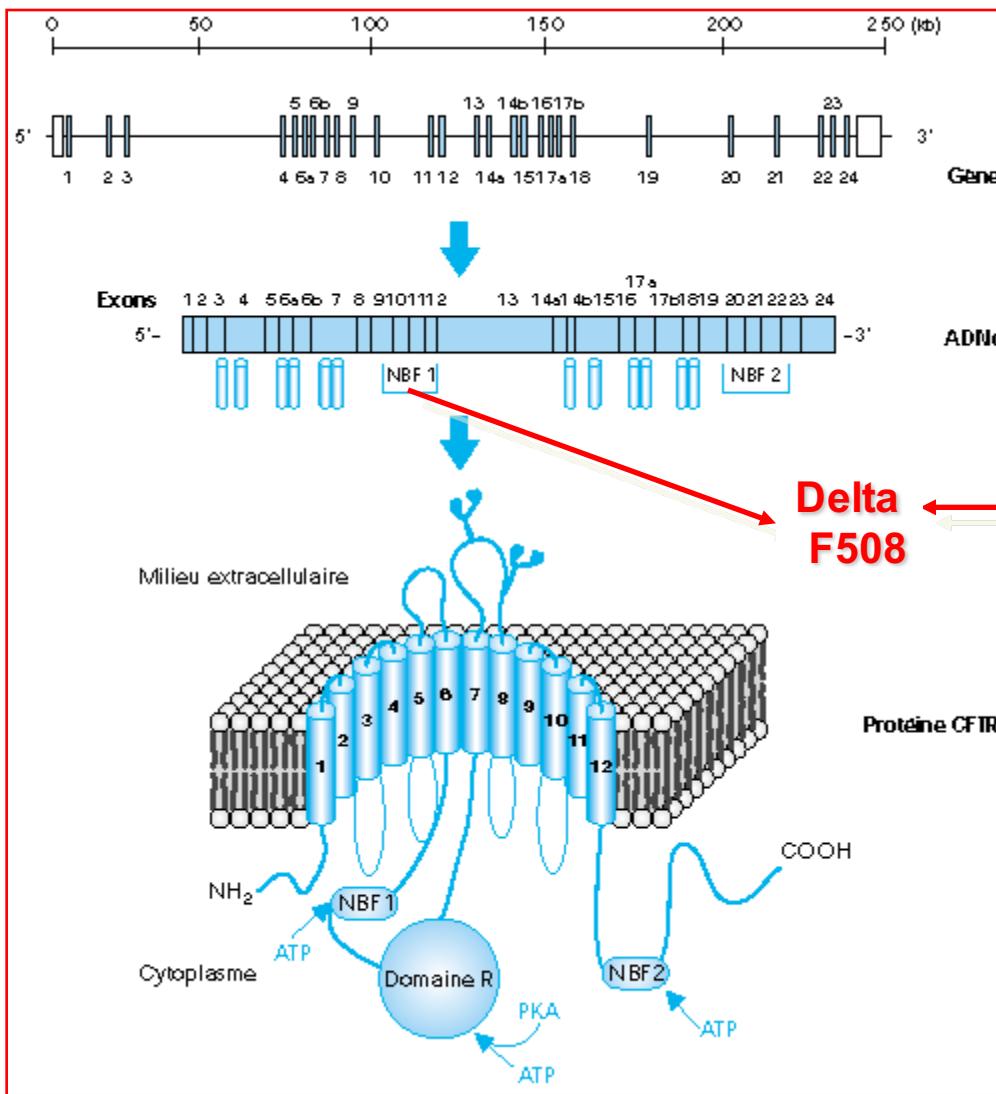
Nucleotide	ATC	AT	C	TTT	GGT	GTT
Amino Acid	Ile	Ile	Phe	Gly	Val	
506			508		510	

Deleted in ΔF508

## ΔF508 CFTR Sequence:

Nucleotide	ATC	ATT	GGT	GTT
Amino Acid	Ile	Ile	Gly	Val
506				

# F508del mutasyonu 10. ekzonda 1. Nükleotid bağlayıcı bölgededir



**CFTR PROTEİNİ**

## Delta F508 mutasyonu sıklığı etnik gruplara göre değişir

Etnik grup	Delta F508 %	Diğer sık rastlanılan mutasyonlar %
• Beyaz ırk	70	13
• Musevilerde	30	67
• İspanyol kökenli	46	11
• Afrika kökenli Amerikalı	48	4
• Asya kökenlilerde	30	?
• TÜRKLER	18-30	?

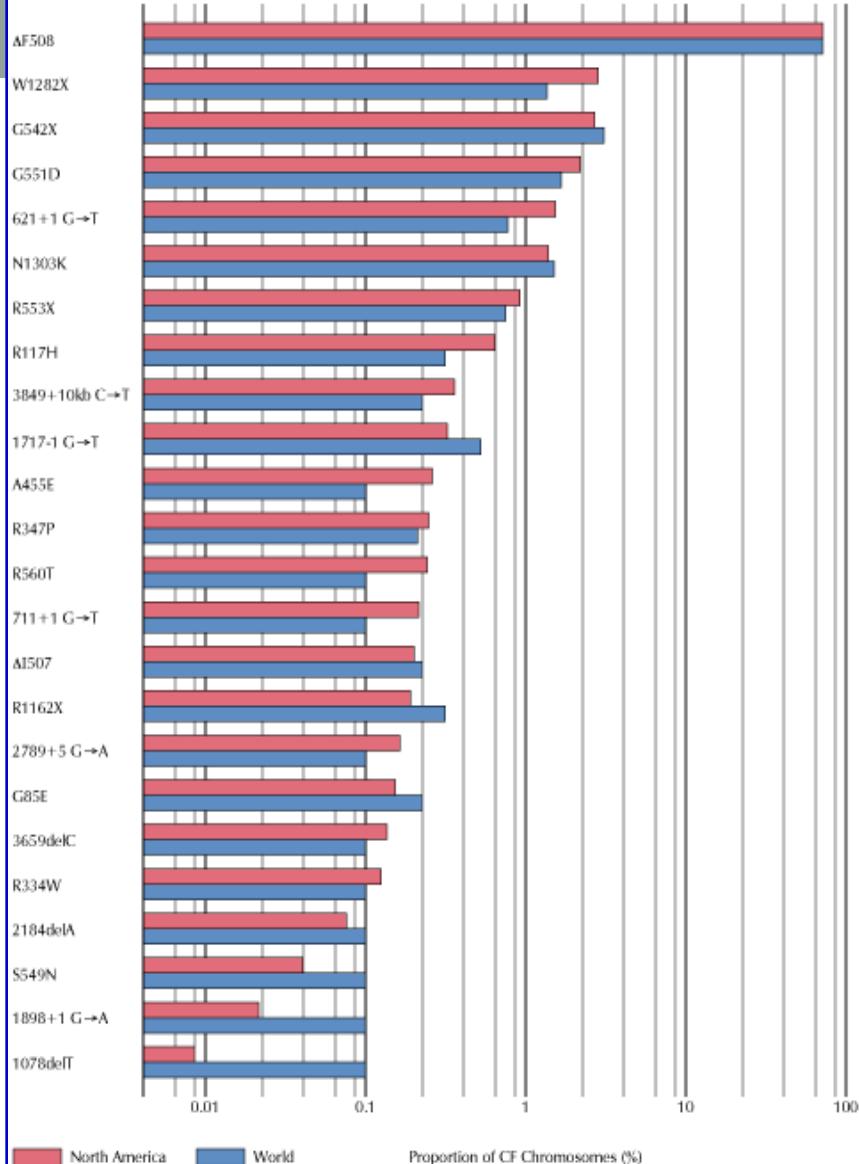
# CFTR Mutasyon Tipleri-2012

## CFMDB Statistics

There are currently **1910** mutations listed in this CFTR mutation database.

Statistics by mutation type:

Mutation Type	Count	Frequency %
Missense	773	40.47
Frameshift	305	15.97
Splicing	226	11.83
Nonsense	161	8.43
In frame in/del	37	1.94
Large in/del	49	2.57
Promoter	15	0.79
Sequence variation	269	14.08
Unknown	75	3.93



2015- 1950 den fazla CFTR mutasyonu tarif edilmiştir.

International Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium (CFGAC) CFTR1  
(<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>)

“Clinical and Functional Translation of CFTR”, CFTR2 (<http://www.cftr2.org/>).

10483 kromozomda çalışılan 24 KF mutasyonunun dağılımı

## Batı toplumlarında yaygın kullanılan tarama testine bulunan 23 mutasyon

**Table 2**

ACMG recommended panel of 23 classic CF-causing mutations. These mutations include missense, stop, splicing and frameshift mutations.

### 23 ACMG recommended panel of classic CF-causing mutations

G85E	I507del	R560T	621 + 1G > T	2789 + 5G > A
R117H	F508del	R1162X	711 + 1G > T	3120 + 1G > A
R334W	G542X	W1282X	1717 – 1G > A	3659delC
R347P	G551D	N1303K	1898 + 1G > A	3849 + 10kbC > T
A455E	R553X		2184delA	

**CFTR dizi analizi ile  
tüm toplumlarda  
mutasyon saptama  
yüzdesi**

**% 93- 98.7**

**Bu test ile etnik gruplara göre  
mutasyon saptama yüzdesi**

**Beyaz ırk %90**

**İspanyol kökenli %57**

**Afrika kökenli Amerikalı %69**

**Asya kökenlilerde ?**

# Klinik sonuçlara göre mutasyonların sınıflaması

Classification of CFTR mutations according to their clinical consequences. Examples of each of the four groups of mutations are given.

Group A	Group B	Group C	Group D
Classic-CF CF-causing mutations	Non-classic CF CFTR-related disorder associated mutations	No clinical consequence	Unknown clinical relevance
All mutations in Table 2 and 711+3A>G*, R117H-T5*, D1152H*, L206W*, TG13-T5*	TG13-T5 <sup>a</sup> , R117H-T5 <sup>a</sup> , D1152H <sup>a</sup> , L206W <sup>a</sup> , L997F, M952I, D565G <sup>a</sup> , TG11-T5 <sup>b</sup> , R117H-T7 <sup>b</sup> , D443Y-G576A- R668C, R74W- D1270N, R75Q <sup>b</sup>	TG11-T5 <sup>b</sup> , R117H-T7 <sup>b</sup> , R75Q <sup>b</sup> , 875+40A/G, M470V, T854T, P1290P, I807M, I521F, R74W, F508C, I506V, I148T	All mutations (mostly missense) not yet analyzed or undergoing functional analysis

<sup>a</sup> Mutations that may belong either to Group A or to Group B.

<sup>b</sup> Mutations that may belong either to Group B or to Group C.

# Kistik Fibroziste Genotip-Fenotip İlişkisi

Genotip-Fenotip korelasyonu  
**en yüksek düzeyde,**

\* pankreatik fonksiyonlar ve azospermİ ile

**en düşük düzeyde,**

\* akciğer fonksiyonları ile olduğu gözlenir

**AKCİĞER HASTALIĞININ PROGNOZU İÇİN GENOTİP İYİ  
BİR GÖSTERGE DEĞİLDİR**

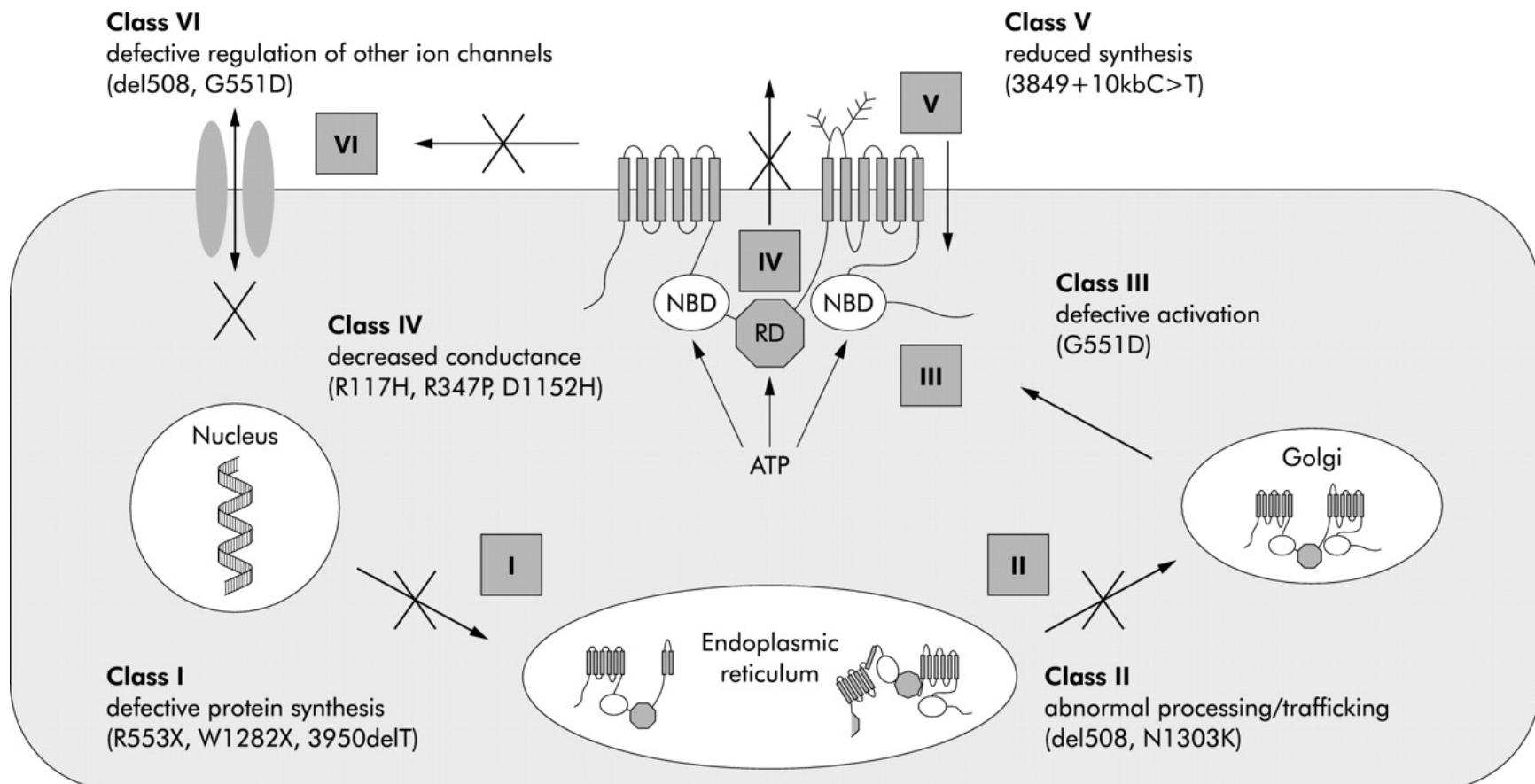
**Homozigot Delta F508 mutasyonlu hastalarda akciğer bulguları oldukça değişkenlik gösterir.**

\*Sigara içme, malnütrisyon gibi çevresel faktörler

\*Modifiye edici genler klinik varyasyonda önemli

\*Tedavi şekli ve başlama zamanı

# CFTR yapısı ve fonksiyonuna göre mutasyonların sınıflaması



# **CFTR proteininde meydana getirdikleri fonksiyon bozukluğuna göre mutasyonlar sınıflara ayrılır**

- **Sınıf I** : Protein sentezi yok. Nonsense, frameshift, veya splicing mutasyonlar
- **Sınıf II** : Proteinin işlenmesinde, yanlış katlanmadan dolayı, bozukluk. Missense mutasyonlar, amino asit delesyonları
- **Sınıf III**: Klor kanalı düzenlenmesinde blok yapanlar. Missense mutasyonlar (ATP bağlayıcı bölgelerde)
- **Sınıf IV**: Klor iletimini değiştirenler. Missense mutasyonlar (Membran yapıcı bölgede)
- **Sınıf V** : Fonksiyonel protein sentezini azaltanlar. Nonsense, frameshift, veya splicing mutasyonlar
- **Sınıf VI** : Proteinin yarılanma ömrünü kısaltanlar. Diğer iyon kanallarındaki defektif durum kaynaklı

**Table 3.** Classification of Cystic Fibrosis<sup>8,11-14, a</sup>

Classification	Mechanism of dysfunction	Worldwide frequency in CF population	Example of a mutation	CFTR protein production	Chloride transport	Clinical presentation
Class I	Little to no protein is produced	5%–10%	G542X	Little or none	None	Typical CF symptoms
Class II	Defective protein is destroyed before it reaches cell membrane	40%–50%	F508del <sup>b</sup>	Very limited	Almost none	Typical CF symptoms
Class III	Protein cannot be turned on to conduct chloride (gating defect)	5%	G551D	Normal/reduced	Greatly reduced	Typical CF symptoms
Class IV	Protein conducts chloride less effectively	Unknown	R117H	Normal	Diminished	Mild symptoms or delayed onset of typical symptoms
Class V	Abnormal RNA splicing results in decreased functional protein	Unknown	3849+10kbC->T	Reduced	Diminished	Mild symptoms or delayed onset of typical symptoms
Class VI	Functional protein present at membrane for a shorter than normal period	Unknown	Q1412X	Normal	Diminished	Mild symptoms or delayed onset of typical symptoms

CF = cystic fibrosis; CFTR = cystic fibrosis transmembrane conductance regulator.

<sup>a</sup> The authors acknowledge Patrick Sosnay, MD, of Johns Hopkins University for reviewing this table on behalf of the CFTR2 project.

<sup>b</sup> Most common CFTR mutation; at least one copy is found in approximately 90% of CF cases worldwide.

## **CFTR Mutasyon Sınıflarına Göre Klinik Bulgular**

**Sınıf IV mutasyonlarında pankreatik yetmezlik, diyabet ve karaciğer hastalığı görülmemekte, akciğer bulguları hafif**

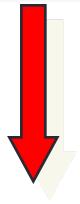
**Sınıf V mutasyonlarında da akciğer bulguları hafif  
olmaktadır.**

**Her iki sınıfın mutasyonlarda *P. aeruginosa*  
kolonizasyonu geç görülmektedir.**



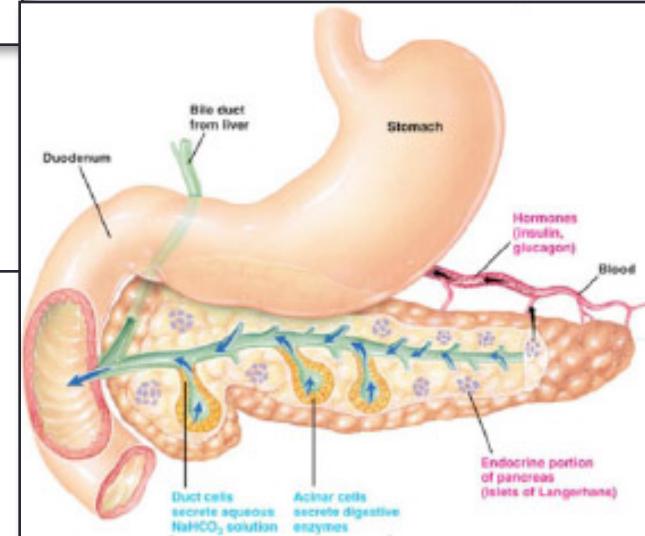
European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis (ERCF): Comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations  
Pediatr Pulmonol. 2001; 31:1-12.

Klasik KF hastalarının %85inde pankreatik yetmezlik vardır



ağır klinik tablo yapan mutasyonlar (sınıf I, II, III) homozigot veya bileşik heterozigot olarak bulunur

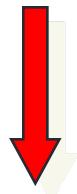
Delta F508/ Delta F508  
Delta F508/ N1303K



**CBAVD**

**(congenital bilateral absence of vas deferens)**

**olan hastaların %80 inde en az bir allelde  
CFTR mutasyonu bulunur.**



**Sadece CBAVD bulunanlarda, hafif tablo yapan  
sınıf IV, V mutasyonları vardır.**

# **CFTR geni dışındaki bazı genlerdeki polimorfizmler de klinik tabloyu etkilemektedir**

- \* HLA clas II抗原
- \* mannoz-bağlayan lektin
- \* alfa(1)-antitripsin ve alpha(1)-antikimotripsin
- \* glutatyon-S-transferaz
- \* nitrik oksit sentetaz type I
- \* TNF-alfa,
- \* TGF-beta,
- \* IL-1beta
- \* IL-1Ra

Acton JD, Wilmott RW. Phenotype of CF and the effects of possible modifier genes. .Paediatr Respir Rev. 2001 Dec;2(4):332-9.

## Mortalite CFTR mutasyon çeşidi ile yakından ilgilidir

Homozigot DeltaF508e göre,

- DeltaF508/R117H
- DeltaF508/DeltaI507
- DeltaF508/3849+10kbC-->T
- DeltaF508/2789+5G-->A

daha düşük mortalite gösterirken

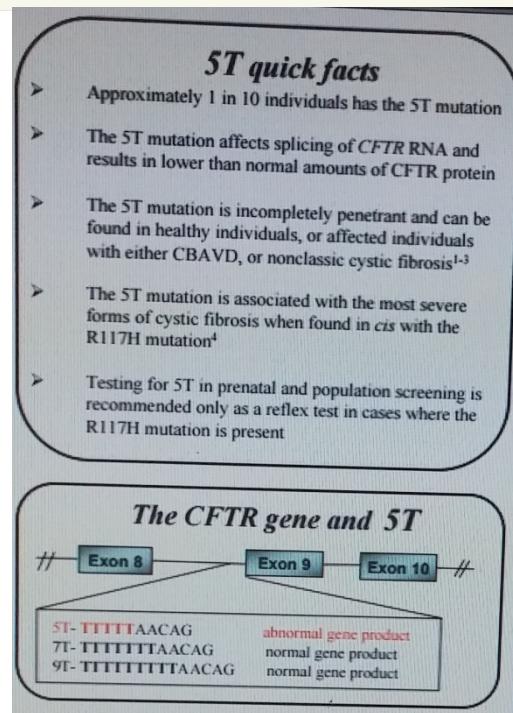
**\*Sınıf IV ve V mutasyonlarında mortalite daha düşüktür.**

**Kistik Fibroz dışında bazı hastalıklarda da  
CFTR mutasyonlarının etkisi vardır**

**İdiyopatik pankreatit, bronşiyektazi, aspergiloz,  
kronik sinüzit, astım, sklerozan kolanjit gibi hastalıklarda  
CFTR mutasyonları ve 5T alleli sıklığı artmıştır.**

**- Delta F508 taşıyıcılarında astım sıklığı iki kat  
artmıştır**

# CFTR geninde kompleks alleler ve çok sınıflı mutasyonlar olabilir.



One mutation:	Second mutation: R117H + ?	Predicted outcome:
CF-causing mutation, such as F508del	R117H and 5T	R117H will likely act as a disease-causing mutation. Most patients with this combination of mutations and the 5T form of the poly-T tract will have elevated sweat chloride and clinical symptoms of CF. Symptoms for these patients may be variable. There is an increased risk for male infertility.
CF-causing mutation, such as F508del	R117H and 7T	R117H is unlikely to act as a disease-causing mutation (particularly for females), but may result in male infertility. However, a person with this combination of mutations and this form of the poly-T tract may have borderline or elevated sweat chloride and mild clinical symptoms of CF.
CF-causing mutation, such as F508del	R117H and 9T	R117H is highly unlikely to act as a disease-causing mutation. The vast majority of individuals will not have CF. Male fertility is typically not affected by R117H and 9T.

# Kistik Fibrozda Tedavi

- Havayolunu temizleme (fizik tedavi, bronkodilatör, pulmozyme, kortikosteroid, vs)
- Enfeksiyonları önleme ve tedavi (antibiyotikler vs)
- Antinflamatuarlar
- Pankreas enzimleri
- İyi beslenme
- Transplantasyon
- Gen Tedavisi
- Mutasyon hedefli tedavi



## Kistik Fibrozda Tedavisinde Hedef



CFTR  
fonksiyonunu  
%25 e  
çıkarmak

3 çeşit mutasyon hedefli tedavi var

Fonksiyon  
arttırıcıları  
(Potentiators)

Onarıcılar  
(Correctors)

mRNA erken stop  
kodonları düzelterek  
okuma  
(Read Through  
mRNA Premature  
Stop Codons)

# FONKSİYON ARTTIRICILAR- Potentiators

- Membranda var olan ancak yeterince aktif olmayan Cl kanalının aktivitesini artırırlar
- FDA onaylı ivacaftor (**VX-770**) tarih: 2/2012
  - 6 yaşın üstünde ve G551D mutasyonu taşıyanlarda
  - Sınıf III ve IV mutasyonları için uygun, Delta F508 de denenmekte (fazIII çalışmaları)
  - Pulmoner fonksiyonlarda düzelleme, kiloda artma, ter klorunda ve pulmoner ataklarda azalma saptanmıştır.

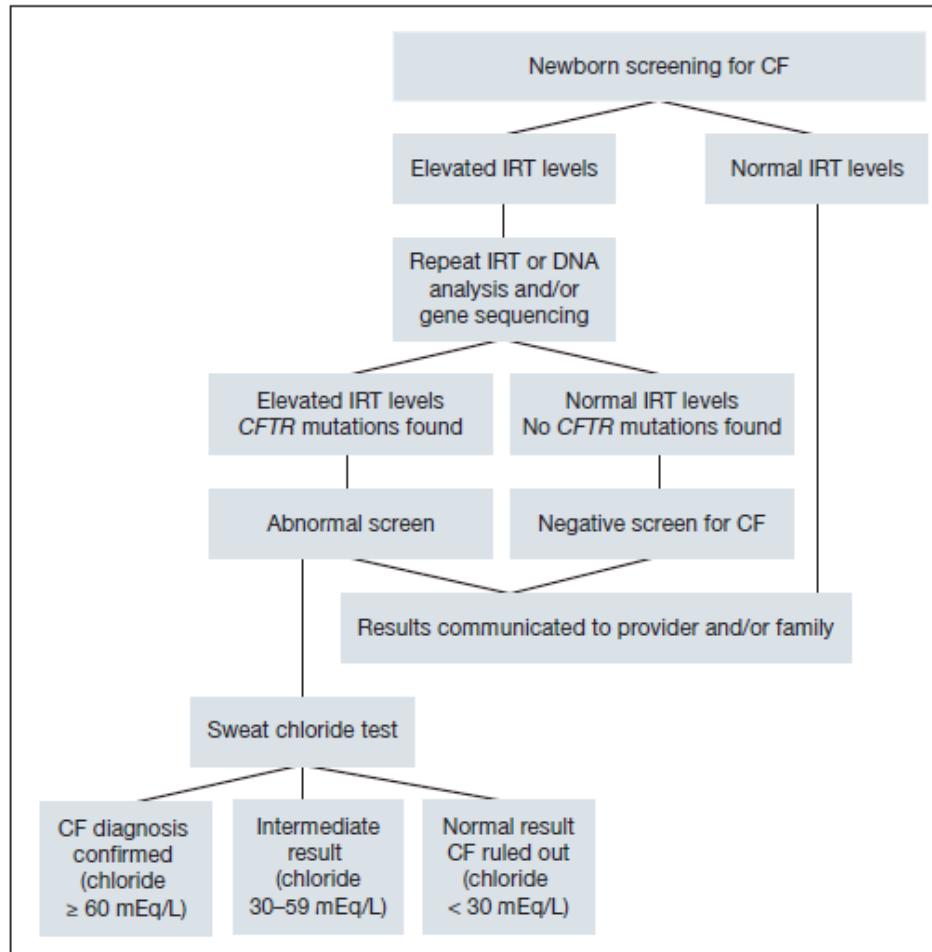
# ONARICILAR-Correctors

- CFTR proteininin kanal oluşturmak üzere hücre yüzeyine göçünü sağlar
  - Delta F508 için uygun
- VX-809 – çalışmalar sürüyor
- ivacaftor/VX-770 ile kombine çalışmalar var
- Faz II çalışmaları
  - Terde Klorda azalma var
  - Akciğer fonksiyonlarında iyileşme yeterli değil

## mRNA Erken Stop Kodonları Düzelterek Okuma

- Duchenne MD gibi diğer genetik hastalıklarda denenmekte
- Gentamisin- toksik
- Ataluren (PTC-126) çalışmaları sürüyor
  - CFTR fonksiyonunda ve NPD de iyileşme
  - Pulmoner fonksiyonlarda iyileşmeye eğilim (NPD)
  - Kiloda artmaya eğilim

# Kistik Fibrozis İçin Neonatal Tarama



**Figure 2.** A Cystic Fibrosis Newborn Screening Algorithm.<sup>5,10,17,18</sup> CF = cystic fibrosis; CFTR = cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; IRT = immunoreactive trypsinogen.

## **Kistik fibrozis için neonatal tarama**

- Erken tanı özellikle klinik önlemlerin alınmasını sağlayarak прогнозu iyileştirdiği için önerilmekte
- Neonatal tarama, yapılan çalışmalarla geleneksel tanı ile kıyaslandığında karlı bulunmuştur.
- ABD, İngiltere, Avustralya'da neonatal tarama programları başlatılmıştır.

# EÜTF-36 Mutasyonluk Hızlı Test

Mutasyon paneli



F508del, 3849+10kbCT, G542X, 2184delA, 621+1GT, I507del, 1717-1GA, R334W, 3659delC, G551D, 1078delT, R1162X, R117H, G85E, R560T, A455E, 711+5GA, R553X, R347P, 2789+5GA, W1282X, N1303K, Q552X, 394delTT, E60X, 2143delT, 2183AA-G, 3905insT, CFTRdele2,3(21kb), 711+1G-T, 3272-26A-T, 1898+1G-A, I148T, 3199del6, 3210+1G-A, Tn

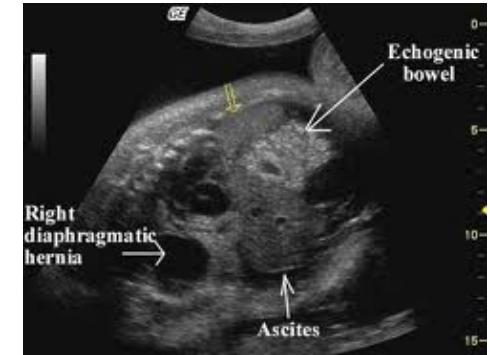


%53

# **Türkiye 'de**

- 1- %18-30 F508del
- 2- 1677delTA
- 3- G542X ve 2183AA→G

# Hiperekojen barsak



Outcome of 682 cases of echogenic bowel					
Outcome	N (%)	Termination of pregnancy (N)	IU	Fetal Demise (N)	Neonatal death (N)
Normal healthy newborn	447 (65.5)	—	—	—	—
Chromosomal abnormality	29 (4.3)	21	2	0	0
Trisomy 21	17 (2.5)	15	1	0	0
Other	12 (1.8)	6	1	0	0
Severe	7 (1)	6	1	0	0
Less severe (a)	5 (0.7)	0	0	0	0
Cystic fibrosis	21 (3.1)	16	0	0	0
Infectious diseases	19 (2.8)	12	1	0	0
Cytomegalovirus	15 (2.2)	12	1	0	0
Parvovirus	4 (0.6)	0	0	0	0
Toxoplasmosis	0 (0)	—	—	—	—
Rubella	0 (0)	—	—	—	—
Intrauterine Growth Restriction	28 (4.1)	0	2	0	0
Intra-amniotic bleeding	21 (3.1)	NS	NS	NS	NS
Unexplained IUFD	13 (1.9)	—	13	—	—
Associated structural abnormalities	47 (6.9)	17	2	3	—
Gastrointestinal abnormalities	20 (2.9)	3	1	0	0
Multiple visceral abnormalities	12 (1.8)	4	1	1	—
Cardiac abnormalities	5 (0.7)	2	0	1	—
Other	10 (1.5)	8	0	1	—

(a) - Less severe includes Klinefelter syndrome, Robertsonian translocation, and mosaic trisomy X.



Teşekkürler