

Genetik Yönüyle Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı

Genetics of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease

Kıvanç Çefle

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Tıbbi Genetik BD, İstanbul

2007;16 (Ek / Supplement 1) 1-8

Böbreğin Kalıtsal Kistik Hastalıkları

Böbrek kistleri, edinsel olarak ortaya çıkabileceği gibi, tek gen defektine bağlı kalıtsal hastalığın klinik spektrumunda da yer alabilir. Bunlara örnek olarak otozomal dominant geçişli Von Hippel-Lindau hastalığı (retinal anjiyomlar, serebellar hemanjiyoblastomlar, berrak hücreli renal karsinom) ve tüberöz skleroz kompleksi (merkezi sinir sisteminde dev hücreli astrositomalar, retinal astrositoma, fasiyal anjiyofibromlar, subungual fibrom, renal anjiyomiyolipom) gösterilebilir (sırasıyla MIM 193300 ve MIM 191100) (1).

Bunların dışında, böbrek kistlerinin klinik tablonun en önemli özelliği, hatta morbiditenin esas nedeni olduğu mendeliyen geçişli bir grup hastalık vardır. Bunlardan otozomal resesif polikistik böbrek hastalığı, 6. kromozomdaki **fibrokistin** kodlayan *PKHD1* genindeki mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Otozomal resesif geçişli nefronofitizis'in, juvenil, infantil ve adolesan formları vardır. Otozomal dominant geçişli medüller kistik böbrek hastalığından sorumlu *MCKD1* ve *MCKD2* genleri sırasıyla 1 ve 16. kromozoma lokalize edilmişlerdir (2). Bu hastalıklardan sorumlu genlerin kromozomal yerleşimi ve kodladıkları proteinler Tablo 1'de görülebilir.

Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı: Genel Özellikler

Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ODPBH), kalıtsal böbrek hastalıkları arasında en sık görülenidir (3). Toplumda görülme sıklığı 1:600-1:1000 arasında değişmektedir (4). Amerika Birleşik Devletleri'nde son dönem böbrek hastalığı (SDBH) olgularının %7-10'undan sorumludur (2). Hastalık otozomal dominant kalıtlamakla birlikte ekspresyonu son derece değişkendir; yine de, 70 yaşına kadar yaşayabilen taşıyıcılarda penetransı %90'a ulaşmaktadır. En çok yaşamın 3.-4. dekadlarında ortaya çıkmaktadır. ODPBH, adı öyle düşündürse bile, yalnızca böbreklerle sınırlı değildir; hepatik kistler, intrakranyal anevrizma, mitral valve prolapsusu ve inguinal herni gibi böbrek dışı organ tutulumunun da morbiditeye önemli katkısı vardır (3). Bu nedenle, özellikle genetik danışma sırasında bu sistemlerin hem indeks olgu hem de diğer aile fertlerinde sorgulanması önem taşır.

Genetik Özellikler

ODPBH, otozomal dominant olarak kalıtılmaktadır. Yani hastalığın "manifest" hale gelebilmesi için hastalıktan sorumlu genin, biri anneden, diğeri de babadan kalıtılan iki allelinden yalnızca birinde mutasyon olması yeterlidir. Başka otozomal dominant genetik bozukluklarda olduğu gibi, aile ağacında kalıtım paterni "dikey" özellik gösterir; hem kadınlar hem de erkekler hastalığa yakalanabilir ve hastalığı çocuklarına (%50 olasılıkla) geçirebilirler (5).

Bağlantı analizi çalışmaları, ODPBH'den en az üç genin sorumlu olduğunu göstermiştir. Bunlardan

Yazışma Adresi: Dr. Kıvanç Çefle
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD,
Tıbbi Genetik BD, 34390 Çapa, İstanbul
Tel: 0 (212) 414 23 22
Faks: 0 (212) 532 42 08
E-posta: ceflek@istanbul.edu.tr

Tablo I. Böbreğin kalıtsal kistik hastalıkları.

Hastalık		Kalıtım şekli	Bulunduğu kromozomun sayısı	Gen	Protein
Polikistik böbrek hastalığı		OR	6	PKHD1	Fibrokinin
		OD	16	PKD1	Polikistin-1
			4	PKD2	Polikistin-2
Nefronoftizis	Juvenil	OR	2	NPHP1	Nefrokinin
			1	NPHP4	Nefrokinin 4 (Nefroretinin)
	İnfanitil	OR	9	NPHP2	İnversin
	Adolesan	OR	3	NPHP3	Nefrokinin 3
Medüller kistik böbrek		OD	1	MCKD1	?
			16	MCKD2	Tam-Horsfall proteini (Uromodulin)

OR: otozomal resesif; OD: otozomal dominant.

PKD1 (OMIM 60313) geni 16. kromozomun kısa kolunda (16p13.3) bulunmaktadır ve tüm ODPBH olgularının %85-90'ından bu gen sorumludur (tip 1 ODPH). Geriye kalan ailelerin tamamına yakınından 4q21-23'te bulunan *PKD2* (OMIM 173910) geni mutasyonları sorumludur (tip 2 ODPH). Bazı ailelerde hastalık fenotipi ile ne 4 ne de 16. kromozom arasında bağlantı gösterilebilmektedir. Bu da ODPBH'nin bir üçüncü formu olduğunu, ancak bu üçüncü form ile herhangi bir kromozomal bölge arasında hâlâ bir bağlantı saptanamamış olması multifaktöriyel kalıtımı ya da bu formun genetik açıdan heterojen olduğunu düşündürmektedir (2,6).

***PKD1* Geninin Keşfi**

1985 yılında *PKD1* geninin alfa-globin lokusu ile yakın bağlantı gösterdiği bulunmuştur (7). Genin klonlanmasında iki gözlemin büyük rolü olmuştur: birincisi, otozomal dominant geçişli tüberöz skleroz kompleksi (TSC) ile *PKD1* aday bölgesi arasında bağlantı olduğunun gösterilmesidir (8). İkincisi, klasik ODPBH bulguları gösteren Portekizli bir ailede hem tüberöz sklerozu hem de böbrek kistleri olan bir erkek çocuğun saptanmasıdır. Sitogenetik incelemede, ODPBH'li anne ve kızında 16 ve 22. kromozomlar arasında dengeli bir translokasyon olduğu, tüberöz sklerozlu erkek çocukta ise translokasyonun dengesiz olup 22. kromozomun bir parçası (22pter-

q11) ve 16. kromozomun kısa kolunun telomerik bir parçasının (16pter-p13.3) kayıp olduğu görülmüştür. Ortaya atılan hipotezde klasik ODPBH'li bireylerde dengeli translokasyonun *PKD1* genini kesintiye uğrattığı iddia edilmiştir. Tüberöz skleroz'lu çocuk ise translokasyonu annesinden "dengeli" olarak kalıtmamış, mayoz bölünme sırasındaki kromozomal segregasyon esnasında TSC aday bölgesinin de (ve dolayısıyla TSC'den sorumlu genin) kaybolduğu düşünülmüştür. İlginç olarak, 16. kromozomdaki kırık noktasının, daha önceki çalışmalarda ODPBH ile bağlantı gösteren bölgeden geçtiği saptanmıştır. Translokasyonun, bu bölgede bulunan ve ilk önce "*PBP*" (**polycystic breakpoint**) olarak adlandırılan bir geni kesintiye uğrattığı anlaşılmış, daha sonra *PKD1* olarak tanımlanan genin başka ODPBH'li hastalarda da mutasyona uğradığı gösterilmiştir (9).

***PKD1* Geninin Özellikleri**

Genin ayrıntılı yapısı bir yıl sonra tanımlanabilmiştir (10). *PKD1*, 53 kb'lik bir genomik bölgeye yayılmış olup 46 eksondan oluşmaktadır; mRNA'sı (haberci RNA) 14 kb uzunluğundadır. Bazı yapısal özellikleri *PKD1* geninin incelenmesinde teknik güçlükler yaratmaktadır: birincisi, genin neredeyse %70'ine yakın bir bölümünün (1-34. eksonlar) 16. kromozomun değişik lokuslarında üç ya da dört kez tekrarlanmasıdır (homolog diziler). Bu homolog dizilerin biyolojik

bir önemi olup olmadığı bilinmemektedir; en az üçünden mRNA transkripsiyonu yapıldığı saptanmakla birlikte protein ürünü gösterilememiştir. İkincisi, 21. intronda bulunan insan genomunun en uzun polipirimidin dizisidir. Bu dizinin işlevsel bir önemi olup olmadığı anlaşılamamıştır. Bu yapısal özelliklerin yarattığı teknik güçlükler nedeni ile yakın zamana kadar mutasyon incelemesi yalnızca 36-46. eksonlar arasındaki bölümlerle (genin tekrarlanmayan bölümü) sınırlı kalmıştır. Bu zorluk ancak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniklerindeki gelişmelerle aşılabilmektedir (11,12) ("longe-range PCR" ve RT-PCR).

PKD1 Mutasyonları

Genin klonlandığı tarihten beri saptanabilmiş mutasyonların gen üzerinde kısmen gelişigüzel olarak dağıldığı görülmüştür; tekrarlanan bölümde mutasyonların nispeten daha yoğun olduğu dikkati çekmiştir (13). *PKD1* genindeki mutasyonların bir diğer özelliği hemen daima saptandıkları aileye özgü olmalarıdır; yani bir ailede saptanan mutasyon nadiren başka bir ailede daha gösterilebilmektedir. Hastalığın oldukça sık olduğu da dikkate alınarak bu durum gendeki yüksek mutasyon hızı ile açıklanmıştır. *De novo* mutasyonların sık görülmesi de bu görüşü desteklemektedir (3).

Bildirilen mutasyonların %80'i nokta mutasyonu ya da güdük bir protein oluşumuna yol açan küçük intragenik delesyon/insersiyonlar şeklindedir. Yani çoğu inaktive edici tiptedir (14). Mutasyon analizinden beklenen önemli bir sonuç, belli mutasyonların hastalığın belli bazı özellikleri (böbrek dışı manifestasyonlar, böbrek yetersizliğinin ilerleme hızı, vs) ile ilişkili olup olmadığıdır. Ancak, elde edilen sonuçlar bu beklentileri karşılamamıştır. Yalnızca, hem ağır renal kistik hastalığı, hem de tüberöz sklerozu olan az sayıdaki ODPBH'li hastada *PKD1* ve *TSC2* genlerinin birlikte kaybı ile sonuçlanan geniş delesyonlar saptanmıştır (15). Dikkate değer bir başka ilişki, intrakranyal anevrizmalı ve çok erken başlangıçlı hastalığı olan 3 ailede 15. eksonda aynı iki bazlık delesyonun bulunmuş olmasıdır (16). Bu seyrek gözlemler dışında belirgin bir genotip-fenotip ilişkisi olmadığı anlaşılmaktadır. Bir defa, *PKD1* genindeki çok çeşitli pozisyonlardaki mutasyonların hepsinde ağır hastalık görülebilmektedir. İkincisi, aynı ailede, yani hepsi de aynı mutasyonla etkilenmiş bireylerde fenotip büyük değişkenlik gösterebilmektedir. Hatta, aynı mutasyonun saptandığı dizigotik ikizlerde fenotipik diskordans gözlenmektedir (17). Burada "mo-

difiye edici" genlerin ve çevresel faktörlerin rolü üzerinde durulmaktadır.

PKD1 gen analizi halen rutin bir tetkik olarak kullanılmamaktadır. Genin uzun olması, homolog dizilerin varlığı ve uzun polipirimidin dizisine ek olarak, gendeki çok yüksek GC (guanin-sitozin) içeriği *single strand conformation analyse* gibi mutasyon tespit yöntemlerinin uygulanmasını ve dizilemeyi güçleştirmektedir. Dahası, bazı *missense* mutasyonların protein işlevi üzerindeki etkisini kestirmek kolay olmayıp bunların pekala "masum" varyantlar olması da mümkündür. Bu zorluğun aşılması için daha geniş serilerde mutasyon analizi yapılması ve belli toplumlara özgü patojenik olmayan mutasyonların tanımlanması gereklidir (3).

PKD1 Gen Ürünü: Polikistin-1

PKD1'in kodladığı **polikistin-1** hücre membranında yerleşmiş bir protein olup 4303 aminoasitten oluşmaktadır; 11 "transmembran" domain'i vardır (18). Hücre dışında bulunan amino tarafında sırasıyla iki adet lösinden zengin dizi (LRR), bu ikisinin arasında bulunan hücre duvarı bütünlüğünde ve stres yanıtında rol alan "WSC" domain'i, bir C tipi lektin domain'i, LDL-A benzeri bir domain, 16 adet Ig benzeri *PKD1* domain'i ve denizkestanesi sperminde saptanmış bir reseptör ("*sea urchin sperm egg jelly receptor*"; suREJ) ile büyük benzerlik gösteren 1000 aminoasitlik bir bölge. Bunlardan LRR'nin kolajen, fibronektin ve laminin; WSC'nin ve C-tipi lektin domain'inin karbonhidrat; ve Ig benzeri PKD domain'lerini protein bağlayabilme özelliği vardır. Diğer yandan, suREJ proteinin ise hücre içine kalsiyum akışını tetiklediği gösterilmiştir. Sitoplazmadaki kısa karboksil tarafının ise birçok fosforilasyon bölgesi vardır ve sinyal iletiminde işlev gördüğü sanılmaktadır (2,19).

Polikistin-1, tubulus epitelinde başlıca üç bölgede bulunmaktadır: hücre ile hücre dışı matriks arasındaki fokal adhezyon kompleksi; hücreler arası bağlantı noktalarında ve hücrenin lümenal yüzündeki siliyumda. Bütün bunlar, polikistin-1'in birçok protein, karbonhidrat ve lipidi bağlama yeteneği olan ve fosforilasyon yolu ile hücre içi birtakım mekanizmaları harekete geçiren ve bir membran reseptörü olduğunu göstermektedir. Bir "mekanosensör" gibi davranan polikistin-1, hücre dışında değişik lokalizasyonlardan aldığı birçok uyarıları hücre içine aktararak gen transkripsiyonu ile sonuçlanan sinyal iletimini başlatmaktadır. Bu özellikleri ile katyon

transportunda ve normal tubulus morfolojisi için gerekli olan hücre proliferasyonu, adhezyonu, göçü, farklılaşma ve olgunlaşmasında düzenleyici rol aldığı düşünülmektedir. Gerçekten de, polikistin-1 aşırı ekspresyonunun deney hayvanı böbrek hücrelerinde tübülogenezi uyardığı ve apoptozisi baskıladığı gösterilmiştir (2,19,20).

PKD2 Geninin Keşfi ve Analizi

PKD2 geni, yapısının daha basit olması sebebiyle PKD1 genine göre çok daha kolay klonlanmıştır. Tarihsel olarak, ODPBH'den sorumlu ikinci bir genin varlığının ilk kanıtlarından biri Newfoundland'de yaşayan iki ailede 16. kromozom ile bağlantı kurulamaması olmuştur (21). Daha sonraki bağlantı analizi çalışmaları ile bu hipotetik gen 4. kromozomun uzun koluna lokalize edilmiş ve aday bölge daha da daraltılarak 1996 yılında, 4q22'de, PKD1 ile kısmi bir benzerliği olan PKD2 geni klonlanmıştır (22,23). Gen 15 eksondan oluşmaktadır; transkripti (mRNA'sı) yaklaşık 5.4 kb uzunluğundadır (24).

PKD2 Mutasyonları

PKD1 geni gibi, PKD2 mutasyonları da saptandıkları aileye özgü olma eğilimindedir ve bir mutasyon nadiren birden fazla ailede gösterilebilmektedir. Birkaç ailede insersiyon ya da delesyonların belirlendiği on birinci eksondaki poliadenozin dizisi hariç mutasyon eğilimi gösteren "sıcak bölgeler" (*hot spots*) yoktur (25).

İstisnalar hariç, PKD2 mutasyonları ya genin tümüyle kaybına (*null allele*) ya da güdük (*truncated*) bir protein sentezlenmesine, yani gen inaktivasyonuna yol açan insersiyon, delesyon ya da "anlamsız" (*nonsense*) mutasyonlar tipindedir (14). Seyrek görülen "yanlış anlamlı" (*missense*) mutasyonların protein işlevi üzerindeki etkisini kestirmek ise daha zordur; bunlardan biri olan D511V mutasyonu 511. kodona karşılık gelen aspartik asidin valinle yer değiştirmesine yol açmakta ve polikistin-2'nin üçüncü transmembran bölgesini etkilemektedir (26) (aşağıya bakınız). Polikistin-1 ile yapısal benzerlik gösteren proteinler üzerindeki çalışmalar, benzer konumdaki substitüsyonun işlev kaybına yol açtığını göstermiştir, dolayısıyla D511V'nin de inaktivasyona yol açtığı düşünülmektedir (27).

PKD2 genindeki mutasyonların fenotiple olan ilişkisi, PKD1'dekinden de zayıftır. Ancak, genel olarak, geç başlangıçlı ve böbrek yetersizliğine gidişin daha yavaş olduğu ailelerde PKD2 mutasyonlarına

daha sık rastlanmaktadır (28). Bu bilginin, mutasyon analizi rutin bir tetkik haline geldiğinde uygun testin seçilmesinde (PKD1 analizi? PKD2 analizi?) yol gösterici rolü olabilir.

PKD2 Gen Ürünü: Polikistin-2

Polikistin-2, tıpkı polikistin-1 gibi hücre membranıyla bütünleşik, ama 968 aminoasitli daha kısa bir proteindir. Hem amino, hem de karboksil ucu sitoplazmada bulunmakta ve membranı 6 kez kat etmektedir (23). Daha önce de ifade edildiği gibi polikistin-1 ve -2'nin amino asit dizilimleri arasında kısmi bir benzerlik vardır. Yapısı, voltajla aktive olan L tipi kalsiyum kanallarının bir alt ünitesi ile benzerlik göstermektedir. Bunlardan "kalsiyum kanalı $\alpha 1E$ "de ($VACCA1$), polikistin-2'de olduğu gibi bir "EF-hand" motif bulunmaktadır. Bu yapının kalsiyum bağlayıcı özelliği olduğu bilinmektedir. İşlevi kesin olarak anlaşılamamakla birlikte, polikistin-2'nin kalsiyum kanalı aktivitesi olduğu düşünülmektedir (29).

Polikistin-1'in bir reseptör, polikistin-2'nin de muhtemelen bir kalsiyum kanalı olarak işlev görmesi ve PKD1 ve PKD2 mutasyonlarının aynı fenotipe yol açması, her ikisinin de normal tubulus fonksiyonu ve morfogenezinde rol oynayan aynı sinyal iletim yolu içinde yer aldığını düşündürmektedir. Ancak, immünohistokimyasal çalışmalar, polikistin-2'nin esas olarak endoplazmik retikulumda yerleşimli olduğunu göstermiştir (30). Bu da, polikistin-1'in yukarıda tanımlanan hücre içi dağılımı ile (siliyer, bazal ya da lateral) diskordans göstermektedir; yani, aynı sinyal iletim yolunda olsalar bile, polikistin-1 ve 2 arasındaki etkileşimin dolaylı olduğu akla gelmektedir. Bununla birlikte son zamanlarda immüno floresans tekniğine dayalı çalışmalar iki proteinin hücre içindeki yerleşiminin büyük ölçüde örtüştüğünü ortaya koymuştur. Hatta tubulus epiteli hücresi lateral membranında birbirlerine bağlı bir *beterodimer* kompleksi halinde bulunduklarını düşündüren sonuçlar elde edilmiştir (19). Daha yeni olarak, her iki proteinin renal epitelyal hücrelerin primer siliyumunda karboksil uçları aracılığıyla birbirlerine bağlandığını gösterilmiştir (31). Deneyisel çalışmalar, siliyumda bulunan polikistin-1 ve polikistin-2 kompleksinin tubulus içindeki akışa duyarlı bir tür "mekanosensör" gibi işlev gördüğünü düşündürmektedir. Tubulus içindeki sıvı akışına gelişen duyarsızlığın (PKD1-2 mutasyonları) ise epitelyal transportu etkileyerek kist oluşumuna yol açabileceği iddia edilmektedir (32).

ODPBH'de "İki Vuruş" Hipotezi

ODPBH, *PKD1* ve *PKD2* genlerindeki *germline* mutasyonlarla ortaya çıkmaktadır. O halde, vücudun tüm hücrelerinde ve doğal olarak her iki böbrekteki nefronları oluşturan hücrelerin de hepsinde aynı mutasyon *heterozigot* halde doğuştan itibaren mevcuttur. O halde, ODPBH'de neden nefronların yalnızca %1-5'inde kist gelişmektedir? (14) Bu soruya verilen cevaplar arasında en çok üzerinde durulanı "iki vuruş" hipotezi olmuştur (33). "İki vuruş" hipotezi, aslında, ailevi retinoblastoma gibi otozomal dominant geçişli bazı herediter kanser sendromlarını açıklamak için ortaya atılmıştır. Buna göre, bir tümör süpresör geninin (ailevi retinoblastoma örneğinde *Rb* geni) tek bir allelindeki mutasyonun *germline* ile anne ya da babadan çocuğa aktarılması tümör oluşumu için yeterli değildir; tümör süpresör geninin ikinci kopyasının da *somatik* bir mutasyonla yaşamın herhangi bir döneminde kaybedilmesi gereklidir. İşte, bu hipoteze göre *germline* mutasyon *birinci*, somatik mutasyon da *ikinci* vuruşa karşılık gelmektedir (34).

Gerçekten de, *germline* mutasyon taşıyıcısı bireylerde gelişen retinoblastoma tümör dokusunda, *Rb* lokusunda *heterozigozite* kaybı (Loss of heterozygosity; LOH) saptanmaktadır, yani sağlıklı ebeveyniden kalıtılan normal (*wild type*) allel de kaybedilmiştir (35). Ancak, bu bireylerde ikinci vuruşun gelişmesi tümüyle şansa bağlı olduğu için tümör hiç gelişmeyebilir (penetrans yokluğu). Yine de tümör gelişimi riski genel popülasyona göre çok daha yüksektir. Hatta tümörler beklenenden daha erken yaşta ve çok odaklı ve/veya bilateral olarak ortaya çıkar.

Bu hipotezin ODPBH'ye uyarlanmış halinde ise, kistleri döşeyen epitel hücrelerinde *PKD1* (ya da *PKD2*) geninin ikinci allelinin somatik bir mutasyonla kaybedilmiş olması gerekir. Gerçekten de, *PKD1* mutasyonuna bağlı ODPBH'li hastaların kist epitelinden ayrıştırılan DNA'nın moleküler analizi, bu epitel hücrelerinin monoklonal olduğunu ve *PKD1* lokusunda heterozigozite kaybının varlığını göstermiştir (36). Bu sonuç, incelenen kistlerin %17'sinde saptanabilmiştir. *PKD2* mutasyonuna bağlı ODPBH'de de benzer şekilde, %40'a varan oranlarda kistlerde intragenik mutasyon ve LOH bildirilmiştir (37).

Bütün bunlarla birlikte kistogeneizde iki vuruş mekanizmasının rolü ile ilgili eleştiriler vardır (38): birincisi, yukarıda da ifade edildiği gibi kistlerin yalnızca bir bölümü bu mekanizmadan etkilenmiş görünmektedir. Bu eleştiriye, ilk çalışmalarda teknik güçlükler nedeni ile *PKD1* ve *PKD2* genlerinin tü-

müyle incelenememiş olması ile açıklama getirilmiştir; örneğin daha yakınlardaki bir çalışmada *PKD2*'nin tüm uzunluğu boyunca mutasyon taraması yapılabilmiş ve bu kez kistlerin %75'inde somatik mutasyon bulunmuştur (39). İlginç olarak, aynı çalışmada *PKD2*'de somatik mutasyon tesbit edilemeyen bazı kistlerde, *PKD1* geninde somatik mutasyon saptanmıştır. "*Transheterozigot mutasyon*" olarak adlandırılan bu durum, kist gelişimi için ikinci vuruşun *PKD2*'nin sağlam allelini etkilemesinin şart olmadığını, *PKD1* gen mutasyonunun da "aynı işi görebileceğini" düşündürmektedir. Bunu doğrulayan bir gözlem, *germline* transheterozigot mutasyon saptanmış ODPBH'li hastaların varlığıdır; bunlarda hastalığın seyri de daha ağırdır (40). Kistogeneizde iki vuruş hipotezine yöneltülen bir başka eleştiri, kistik epitelyal hücrelerde çoğu kez polikistin proteinlerinin saptanabilmesidir (41). İmmünohistokimyasal boyama, kistlerin az bir kısmında protein yokluğunu göstermektedir. Bu da, somatik mutasyonların, polikistinlerin antijenik özelliğini ortadan kaldırmayan, ama işlevini de engelleyebilen *missense* tipte mutasyonlar olabileceği ile açıklanmaya çalışılmıştır (37). Ancak, bunların da çoğu kez çerçeve kayması tipinde (*frameshift*) mutasyonlar olduğu anlaşılmıştır (39). *PKD2*'nin fare homoloğu olan *PKD2*'nin genetik mühendisliği yöntemleri ile manipüle edilerek kararsız bir yapı kazandırıldığı (*PKD2^{WS25} alleli*) bir transgenik fare çalışmasında ise, kist oluşumu için *germline* mutasyona ilaveten somatik bir mutasyonun gerekli olduğuna dair kuvvetli kanıtlar elde edilmiştir. Bu çalışmanın önemli bir yönü, yukarıdaki çalışmaların aksine kist içinde polikistin-2 ekspresyonunun saptanamayışdır (42).

Bütün bunlar birleştirildiğinde (daha hassas mutasyon tarama yöntemleri ile kistlerde daha yüksek oranda somatik mutasyon saptanması, immünohistokimyasal olarak protein "varlığı" gösterilebilse bile somatik mutasyonun büyük olasılıkla polikistinlerin inaktivasyonu ile sonuçlanan çerçeve kayması tipinde olması ve transgenik fare modelleri), iki vuruş hipotezi, kistogeneizde önemli bir mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu mekanizma ODPBH'deki ekspresyon çeşitliliğine de açıklık getirebilir. İkinci vuruşun gerçekleşmesi şansa bağlı olduğuna göre, aynı mutasyonu taşıyan aile bireylerinde hastalığın kendini ifadesi değişik "şiddetlerde" (kistlerin sayısı, başlangıç yaşı, vs) olabilir. *PKD2* mutasyonuna bağlı ODPBH'nin nispeten daha hafif olması da aynı şekilde açıklanmak istenmiştir; bu genin doğal mutas-

yon hızının *PKD1*'e göre daha yavaş olması, ikinci vuruşun daha az sayıda hücrede ve daha geç olarak ortaya çıkmasına neden olabilir.

İkinci vuruşu kolaylaştıran "modifiye edici" genlerin varlığından da söz edilmiştir; sitokrom P450 enzimi olan CYP2D6 ve N-asetiltransferaz genlerindeki polimorfizmler, maruz kalınan karsinojenik maddelerin metabolizmasında değişikliklere yol açarak somatik mutasyonlara yatkınlık yaratabilir (37, 43). Demek ki hem çevresel faktörler, hem de bireyin modifiye edici genlerdeki polimorfizmler yönünden durumu hastalık ekspresyonunu etkileyebilir.

ODPBH: Ayırıcı Tanıya Giren Monogenik Hastalıklar

Böbreklerde multipl kistlerin görülebildiği bazı genetik sendromlar mevcuttur. Bunlar arasında otozomal resesif polikistik böbrek hastalığı (ORPBH), X'e bağlı dominant kalıtmı oral-fasiyal dijital sendrom, bazı ailelerde otozomal dominant kalıtım paterni gösteren glomerüler kistik hastalık, Hajdu-Cheney sendromu, von Hippel-Lindau sendromu, tüberöz skleroz kompleksi ve otozomal dominant polikistik karaciğer hastalığı sayılabilir.

Oral-fasiyal dijital sendrom erkeklerde letal olup kızlardaki renal tutulum ODPBH'den ayırt edilemez. Ağız (hiperplastik frenulum, yarı dil, yarı damak veya dudak, diş anomalileri), yüz (geniş burun kökü, burun kanadı hipoplazisi) ve parmak anomalileri yol gösterici olmalıdır (44). Kortikal ve medüller kistlerin görülebildiği nadir bir otozomal dominant hastalık olan Hajdu-Cheney sendromunda ek bulgu olarak boy kısalığı, proptozis, hirsutizm ve parmaklarda distal falankslarda akro-osteoliz görülebilmektedir (45).

ORPBH'de, bilateral renal kistik tutulumla konjenital hepatik fibrozis eşlik etmektedir. Böbreklerde toplayıcı kanalların füziform dilatasyonu söz konusudur. ODPBH'de çoğu kez ebeveynlerden birinin etkilenmiş olmasına karşılık ORPBH'de ebeveynler normaldir (2).

Otozomal dominant kalıtmı tüberöz skleroz kompleksi (MIM 193300), *TSC1* ya da *TSC2* (sırasıyla *hamartin* ve *tuberin* isimli proteinleri kodlamaktadır) gen mutasyonlarına bağlı ortaya çıkmaktadır. Böbreklerde anjiyomiyolipom ve kistler gelişebilir; nadiren renal hücre karsinomu görülebilmektedir. Anjiyomiyolipomların eşlik etmediği kistik tutulum 1 yaş öncesinde özellikle ayırıcı tanıda sorun yaratabilir. Ayrıca, *TSC2*'nin 16. kromozomda *PKD1*'in yakın komşuluğunda bulunduğu ve bazen

bu iki genin birlikte delesyona uğrayabileceği de unutulmamalıdır (46). ODPBH tanısı konmuş hastalarda tüberöz skleroz kompleksinin böbrek dışı bulguları (retinal astrositom, fasiyal anjiyofibrom, sütlü kahve lekeleri, derialtı nodülleri) dikkatle aranmalıdır (1).

Otozomal dominant kalıtmı von Hippel-Lindau sendromu (MIM 191100) *VHL* gen mutasyonuna bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Retinal ve/veya merkezi sinir sistemi hemanjiyoblastomları, böbrek ve pankreas kistleri, böbrek tümörü, feokromasitoma, epididimde papiller kistadenomlar başlıca özellikleridir. Böbrek kistlerine çoğu kez multipl solid tümörler eşlik etmekle birlikte, tümörlerin yokluğunda ODPBH'yi taklit edebilir (1).

Ailevi olarak görülen karaciğer kistlerinin varlığı eskiden beri bilinmektedir. Polikistik böbrek hastalığında da polikistik karaciğer tutulumu olduğu dikkate alındığında bu iki hastalığın allelik olabileceği akla gelse de, otozomal dominant polikistik karaciğer hastalığının (ODPKH) ayrı bir antite olduğu bağlantı analizi çalışmaları ile gösterilmiştir (47). Hastalıktan sorumlu iki gen (*PRKSC* ve *SEC63*) sırasıyla 19p13.2-p13.1 ve 6p21-p23 kromozomal bölgelerine lokalizedir ve 2003 yılında keşfedilmişlerdir (48,49).

ODPKH'de kistlerin biliyer mikrohamartomlardan ya da peribiliyer bezlerden kaynaklandığı zannedilmektedir. Karaciğer parankimi etkilenmemekte ve karaciğer işlevleri hastaların çoğunda normal kalmaktadır. Çoğu kez ilk semptom 40 yaş civarında ortaya çıkan sağ üst kadranda ağrıdır. Bununla birlikte, tanı çoğu kez tesadüfen ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ya da manyetik rezonans ile konmaktadır. Hastalığın ileri dönemlerinde karıncı basıncın artmasına bağlı çok şiddetli sindirim sistemi ve akciğer semptomları görülebilmektedir. Kistler bazen yırtılmakta, kanamakta ya da enfekte olmaktadır. ODPBH'ye benzeyen bir yönü, PKH'de da kistlerin kadınlarda erkeklere nazaran daha büyük olması ve hamilelik ya da östrojen kullanımıyla ilişki göstermesidir. Intrakranyal anevrizma (%3.6) ve mitral kapak anomalileri (%20.4) görülebilir. Renal semptomlar ya da hipertansiyon bildirilmemiştir. PKH nedeni ile karaciğer transplantasyonu yapılan hastalar vardır (50).

ODPBH: Moleküler Tanı ve Genetik Danışma

Temelde monogenik bir hastalık olmasına rağmen ODPBH'de genetik testlerin kullanım alanı sı-

nırlıdır. Anamnez, fizik muayene ve özellikle de görüntüleme yöntemleri tanıda *altın standart* olma özelliğini korumaktadır.

Moleküler genetik test, bağlantı analizi ya da PKD1/2 genlerinde doğrudan dizi analizi ile yapılabilir. Bağlantı analizi için aile içinde çok sayıda etkilenmiş birey bulunmalıdır ve aile fertlerinin motivasyonu önemlidir. Dizi analizi ile, PKD1/2 genlerinin uzun ve karmaşık yapıları nedeniyle mutasyon saptama oranı halen %50-70 dolayındadır. ODPBH'de genetik testin önemli bir kullanım alanı, aile içinde bir böbrek verici adayı mevcutsa, bunun taşıyıcılık durumunun belirlenmesidir. Kimi aile bireyleri de kişisel bir tercih olarak taşıyıcılık durumlarının genetik test ile belirlenmesini talep edebilmektedirler. Bununla birlikte çocuklarda presemptomatik tanı önerilmemektedir. Prenatal tanı amacıyla moleküler test gebeliğin 15-18. haftalarında amniyosentez ya da 10-12. haftasında koriyonik villüs örnekleme ile uygulanabilir. Ailede (özellikle ebeveyden birinde) ODPBH öyküsü nedeni ile ebeveynler prenatal tanı talebinde bulunabilmektedir; ancak fetusun taşıyıcı olduğunun anlaşılması durumunda bile bunların çok azı hamileliğin sonlandırılması yönünde karar almaktadır.

Genetik test öncesi mutlaka genetik danışma verilmeli, ve test sonuçlarının yaşam üzerindeki muhtemel etkileri (iş bulma, sigorta, psikolojik etkenler) üzerinde durulmalıdır. Bireyin "bilgilendirilmiş olur"u (*informed consent*) olmaksızın test uygulanmamalıdır.

Klinik olarak ODPBH tanısı konmuş bireyin (indeks olgu) ailesindeki bireyler için risk kestirimi yapılabilir. Kendi çocuklarına hastalığı kalıtma olasılığı %50'dir. Kardeşler açısından ise indeks olgunun ebeveyninin durumu önemlidir; görüntüleme yöntemleri ile anne ve baba mutlaka değerlendirilmelidir. Otuz yaşını aşmış ebeveynlerde ultrasonografi ile böbrek kistleri saptanamıyorsa, indeks olguda ODPBH'nin *de novo* mutasyona bağlı geliştiği kabul edilmelidir. Bu durumda kardeşleri için –pratik olarak– genel toplum riskinin üzerinde bir risk söz konusu değildir. Teorik olarak ise, ebeveynlerden birinde yalnızca gonadları etkilemiş PKD1/2 mutasyonu (*gonadal mozaizm*), indeks olgunun kardeş(ler)i için risk oluşturabilse de, gonadal mozaizm –henüz– ODPBH'de bildirilmemiştir. İndeks olgunun anne ya da babasında ODPBH saptanıyorsa, kardeşlerinde hastalığın görülme riski %50'dir (51).

Kaynaklar

1. On Line Mendelian Inheritance in Man(OMIM): <http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM> (2004)
2. Wilson PD. Polycystic kidney disease. N Engl J Med 2004; 350:151-164.
3. Germino GG, Chapman AB. Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. In: Scriver CS, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B (eds), The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. McGraw-Hill, New York 2001, pp:5467-5489.
4. Gabow PA. Autosomal dominant polycystic kidney disease. N Engl J Med 1993; 332-342.
5. Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson: Genetics in Medicine (5th. edition). Philadelphia 1991, pp:53-93.
6. Daoust MC, Reynolds DM, Bichet DG, Somlo S. Evidence for a third genetic locus for autosomal dominant polycystic kidney disease. Genomics 1995; 25:733-736.
7. Reeders ST, Breuning MH, Davies KE, et al. A highly polymorphic DNA marker linked to adult polycystic kidney disease on chromosome 16. Nature 1985; 317:542-44.
8. Kandt RS, Haines JL, Smith M, Northrup H, Gardner RJ, Short MP, Dumars K, Roach ES, Steingold S, Wall S, et al. Linkage of an important gene locus for tuberous sclerosis to a chromosome 16 marker for polycystic kidney disease. Nat Genet 1992; 2:37-41.
9. European Polycystic Kidney Disease Consortium . The polycystic kidney disease 1 gene encodes a 14 kb transcript and lies within a duplicated region on chromosome 16. Cell 1994; 77: 881-894.
10. The International Polycystic Kidney Disease Consortium. Polycystic kidney disease: the complete structure of the PKD1 gene and its protein. Cell 1995 21; 81:289-98.
11. Peral B, Gamble V, Strong C, Ong AC, Sloane-Stanley J, Zeres K, Winearls CG, Harris PC. Identification of mutations in the duplicated region of the polycystic kidney disease 1 gene (PKD1) by a novel approach. Am J Hum Genet 1997 60: 1399-1410.
12. Watnick TJ, Piontek KB, Cordal TM, Weber H, Gandolph MA, Qian F, Lens XM, Neumann HP, Germino GG. An unusual pattern of mutation in the duplicated portion of PKD1 is revealed by use of a novel strategy for mutation detection. Hum Mol Genet 1997; 6:1473-81.
13. Peral B, San Millan JL, Ong AC. Screening the 3' region of the polycystic kidney disease 1(PKD1) reveals six novel mutations. Am J Hum Genet 1996; 58:86-89.
14. Wu G, Somlo S. Molecular genetics and mechanism of autosomal dominant polycystic kidney disease. Mol Genet Metab 2000; 69:1-15.
15. Brook-Carter PT, Peral B, Ward CJ. Deletion of the TSC2 and PKD1 genes associated with severe infantile polycystic kidney disease. Nat Genet 1994; 8:328-332.
16. Watnick T, Phakdeekitcharoen B, Johnson A, et al. Mutation detection of PKD1 identifies a novel mutation common to three families with aneurysms and/or very-early-onset disease. Am J Hum Genet 1999; 65:1561-1571.
17. Peral B, Ong AC, San Millan JL, Gamble V, Rees L, Harris PC. A stable, nonsense mutation associated with a case of infantile onset polycystic kidney disease 1 (PKD1). Hum Mol Genet 1996; 5:539-42.
18. The American PKD1 Consortium. Analysis of the genomic sequence for the autosomal polycystic kidney disease gene (PKD1) predicts the presence of a leucine-rich repeat. Hum

- Mol Genet 1995; 4:575-582.
19. Newby LJ, Streets AJ, Zhao Y, Harris PC, Ward CJ, Ong AC. Identification, characterization, and localization of a novel kidney polycystin-1-polycystin-2 complex. *J Biol Chem* 2002; 277:20763-20773
20. Boletta A, Qian F, Onuchic LF, et al. *Molec Cell* 2000; 6: 1267-1273.
21. Bear JC, Parfrey PS, Morgan JM, Martin CJ, Cramer BC. Autosomal dominant polycystic kidney disease: new information for genetic counseling. *Am J med Genet* 1992; 43:548-553.
22. Peters DJM, Spruit L, Saris JJ, Ravine D, Sandkuijl LA, Fossdal R, Boersma J; van Eijk R, Norby S, Constantinou-Deltas CD, Pierides A, Brissenden JE, Frants RR, van Ommen G-JB, Breuning MH. Chromosome 4 localization of a second gene for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nature Genet* 1993; 5: 359-362.
23. Mochizuki T, Wu G, Hayashi T, Xenophontos SL, Veldhuisen B, Saris JJ, Reynolds DM, Cai Y, Gabow PA, Pierides A, Kimberling WJ, Breuning MH, Constantinou Deltas C, Peters DJM, Somlo S. PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science* 1996; 272: 1339-1342.
24. Hayashi T, Mochizuki T, Reynolds DM, Wu G, Cai Y, Somlo S. Characterization of the exon structure of the polycystic kidney disease 2 gene (PKD2). *Genomics* 1997; 44:131-136.
25. Pei Y, Wang K, Kasenda M, Paterson AD, Chan G, Liang Y, Roscoe J, Brissenden J, Hefferton D, Parfrey P, Somlo S, St. George-Hyslop P. A spectrum of mutations in the polycystic kidney disease-2(PKD2) gene from eight Canadian kindreds. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:1853-1860.
26. Reynolds DM, Hayashi T, Cai Y, et al. Aberrant splicing in the PKD2 gene as a cause of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:2342-2351.
27. Plannells-Cases R, Ferrer-Montiel AV, Patten CD, Montal M. Mutation of conserved negatively charged residues in the S2 and S3 transmembrane segments of a mammalian K⁺ channel selectively modulates channel gating. *Proc natl acad Sci USA* 1995; 92: 9422-9426.
28. Hateboer N, van Dijk MA, Bogdanova, et al. Comparison of phenotypes of polycystic kidney disease types 1 and 2. *Lancet* 1999; 353:103-107.
29. Igarashi P, Somlo S. Genetics and pathogenesis of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2384-2398.
30. Cai Y, Maeda Y, Cedzich A, Torres VE, Wu G, Hayashi T, Mochizuki T, Park JH, Witzgall R, Somlo S. Identification and characterization of polycystin-2, the PKD2 gene product. *J Biol Chem*. 1999; 274:28557-28565.
31. Yoder BK, Hou X, Guay-Woodford LM. The polycystic kidney disease proteins, polycystin-1, polycystin-2, polaris, and cystin, are co-localized in renal cilia. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2508- 2516.
32. Nauli SM, Alenghat FJ, Luo Y, et al. Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells. *Nat Genet* 2003; 33:129-137.
33. Reeders ST. Multilocus polycystic disease. *Nat Genet* 1992; 1:235-237.
34. Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971; 68:820-83.
35. Newsham IF, Hadjililianou, Cavenee WK. Retinoblastoma. In: Vogelstein B, Kinzler KW (eds), *The Genetic Basis of Human Cancer*. McGraw-Hill, New York 1998, pp:363-393.
36. Qian F, Watnick TJ, Onuchic LF, Germino GG. The molecular basis of focal cyst formation in human autosomal dominant polycystic kidney disease type I. *Cell* 1996; 87:979-987.
37. Pei Y. A "two-hit" model of cystogenesis in autosomal dominant polycystic kidney disease? *Trends Mol Med* 2001; 7:151-156.
38. Ong A, Harris P. Molecular basis of renal cyst formation-one hit or two? *Lancet* 1997; 349:1039-1040.
39. Watnick T, He N, Wang K, et al.. Mutations of PKD1 in ADPKD2 cysts suggest a pathogenic effect of trans-heterozygous mutations. *Nat Genet* 2000; 25:143-144.
40. Pei Y, Paterson AD, Wang KR, et al. Bilineal disease and trans-heterozygotes in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Hum Genet* 2001; 68:355-363
41. Ong AC, Ward CJ, Butler RJ, et al. Coordinate expression of the autosomal dominant polycystic kidney disease proteins, polycystin-2 and polycystin-1, in normal and cystic tissue. *Am J Pathol* 1999; 154:1721-1729.
42. Wu G, D'Agati V, Yiqiang Cai Y, et al. Somatic inactivation of *Pkd2* results in polycystic kidney disease. *Cell* 1998; 93:177-188.
43. Perera FP. Environment and cancer: who are susceptible? *Science* 1997; 278:1068-1073.
44. Ferrante MI, Giorgio G, Feather SA, et al. Identification of the gene for oral-facial-digital type I syndrome. *Am J Hum Genet* 2001; 68:569-76.
45. Kaplan P, Ramos F, Zackai EH, Bellah RD, Kaplan BS. Cystic kidney disease in Hajdu-Cheney syndrome. *Am J Med Genet* 1995; 56:25-30.
46. Ariyurek Y, Lantinga-van Leeuwen I, Spruit L, Ravine D, Breuning MH, Peters DJ. Large deletions in the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene. *Hum Mutat* 2004; 23:99.
47. Pirson Y, Lannoy N, Peters D, Geubel A, Gigot J-F, Breuning M, et al. Isolated polycystic kidney disease as a distinct disease, unlinked to polycystic kidney disease 1 and polycystic disease 2. *Hepatology* 1996; 23:249-52.
48. Drenth JPH, te Morsche RHM, Smink R, Bonifacio JS, Jansen JBMJ. PRKSCH germline mutations are associated with autosomal dominant polycystic liver disease. *Nat Genet* 2003; 33:345-7.
49. Davila S, Furu L, Gharavi AG, Tian X, Onoe T, Qian Q, et al. Mutations in SEC63 cause autosomal dominant polycystic liver disease. *Nat Genet* 2004; 36:575-7.
50. Tahvanainen E, Tahvanainen P, Kaariainen H, Höckerstedt K. Polycystic liver and kidney diseases. *Annals of Medicine* 2005; 37:546-555.
51. www.genetests.org. Genereviews. Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease, 2006.