

Patolojik USG bulgulu fetuslarda *PTPN11* hedef bölge mutasyon analizleri

Dr. Güven Toksoy, PhD
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD

PTPN11 geni

protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 11

Chr 12q24.13 kodlayan 15 exon

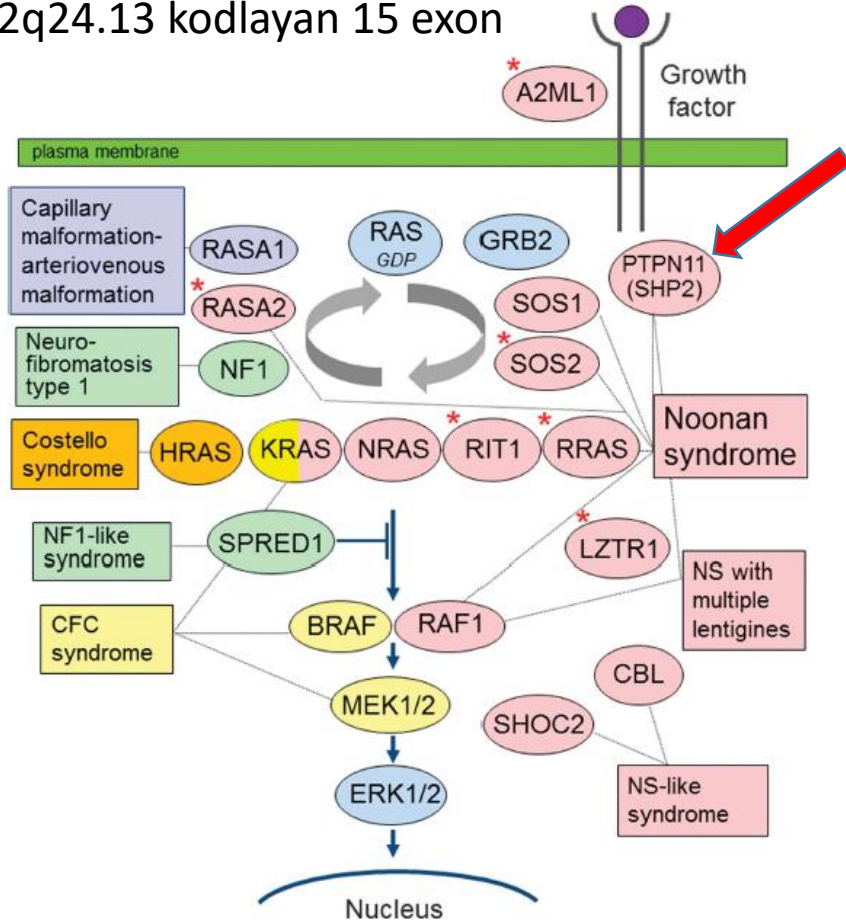


Figure 1 RAS/MAPK cascade and disorders involving germline mutations of related genes. MAPK, mitogen-activated protein kinase; NF1, neurofibromatosis type 1; NS, Noonan syndrome. *Indicates possible causative genes that have been reported since 2013.

Aoki ve ark. Human Mutation 29(8), 992-1006, 2008

RAS-MAPK yolağı

Hücre siklusunun düzenlenmesi, büyüme, farklılaşma, yaşlanma ve normal gelişmenin tüm önemli basamaklarında etkindir. Germline ya da somatik mutasyonlar çeşitli sendrom ve kanserle ilişkilidir.

NOONAN SPEKTRUMU/RASOPATİLER

- Cardio-Facio-Cutaneous syndrome (CFC)
- Costello syndrome (CS)
- Legius syndrome
- Neurofibromatosis type 1 (NF1)
- Noonan syndromess (NS)
- Noonan with Multiple Lentigines (NSML) (LEOPARD (LS)).

US Rasopati grubu <https://rasopathiesnet.org>

Noonan Spektrumundaki sendromlar (Noonan, Costello ve CFC Send.) Lokus heterojenitesi, Allelik Heterojenite gösterirler

Lokasyon	Fenotip	Kalıtım	Gen/Lokus	Mutasyon dağılımı
12q24.13	Noonan syndrome 1	OD	PTPN11	%50
2p22.1	Noonan syndrome 4	OD	SOS1	%10-13
3p25.2	Noonan syndrome 5	OD	RAF1	%5
1q22	Noonan syndrome 8	OD	RIT1	%5
12p12.1	Noonan syndrome 3	OD	KRAS	%5
1p13.2	Noonan syndrome 6	OD	NRAS	
7q34	Noonan syndrome 7	OD	BRAF	%2
14q21.3	Noonan syndrome 9	OD	SOS2	
22q11.21	Noonan syndrome 10	OD	LZTR1	
1q22	Noonan syndrome 8	OD	RIT1	
	Noonan Like syndrome		MAP2K1, MAPK2, RRAS, RASA2, A2ML1, SOS2, SHOC, CBL,	Nadir

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1124/>

Lokasyon	Fenotip	Kalıtım	Gen/Lokus	Mutasyon dağılımı
7q34	Cardiofaciocutaneous syndrome 1	OD	BRAF	~%75
12p12.1	Cardiofaciocutaneous syndrome 2	OD	KRAS	~%25
15q22.31	Cardiofaciocutaneous syndrome 3	OD	MAP2K1	
19p13.3	Cardiofaciocutaneous syndrome 4	OD	MAP2K2	<%2-3
2p22.1	Cardiofaciocutaneous syndrome	oD	SOS1	Nadir

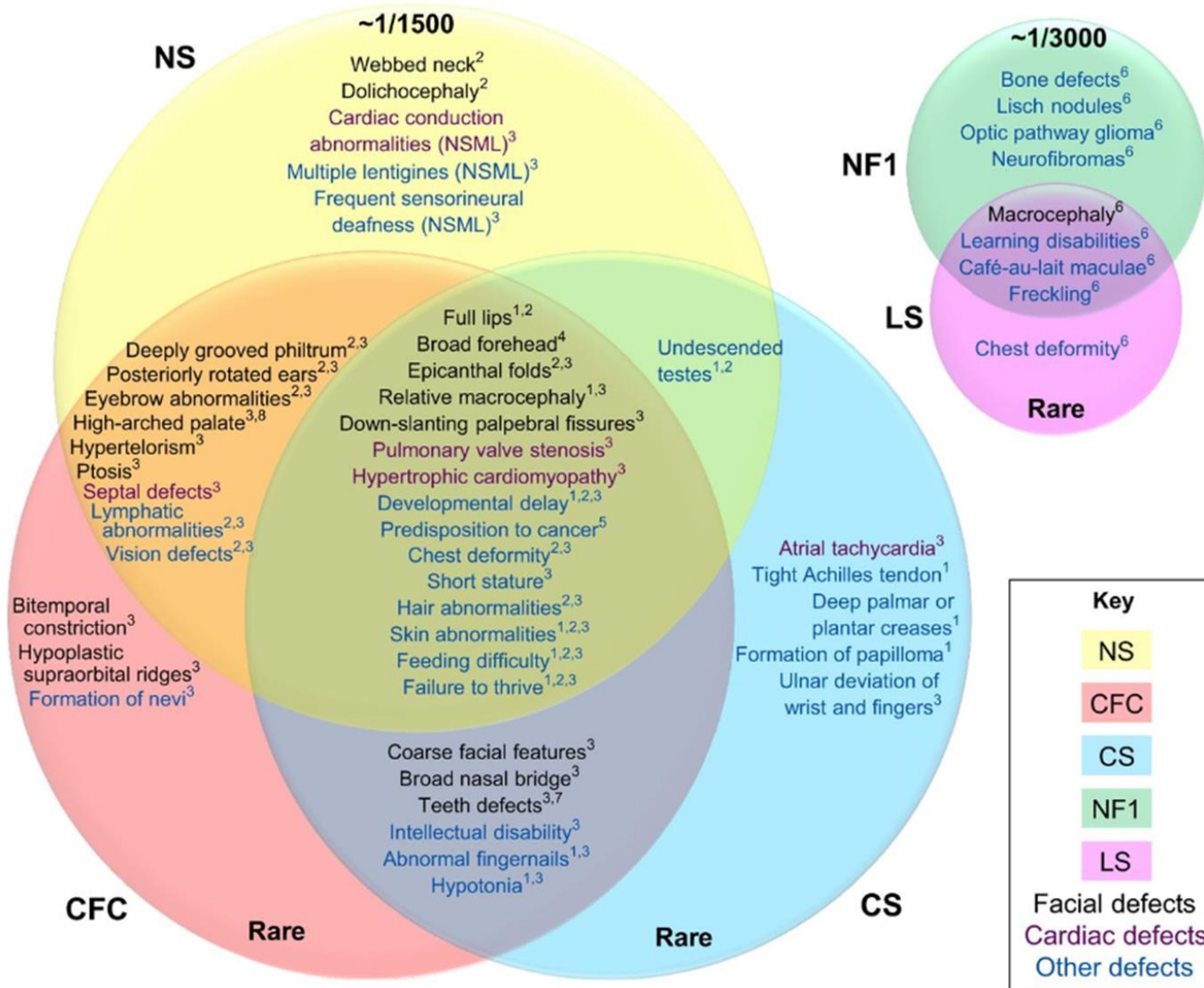
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1186/>

Lokasyon	Fenotip	Kalıtım	Gen/Lokus	Mutasyon dağılımı
11p15.5	Costello Syndrome	OD	HRAS	~%98
12p12.1	Costello Syndrome	OD	KRAS	Nadir
1p13.2	Costello Syndrome	OD	NRAS	Nadir
15q22.31	Costello Syndrome	OD	MAP2K1	Nadir
7q34	Costello Syndrome	OD	BRAF	Nadir
3p25.2	Costello Syndrome	OD	RAF1	Nadir

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1507/>

Bu sendromlar içinde en sık görülen 1:1500 ile NOONAN Sendromudur.
Noonan Sendromunda PTPN11 mutasyon sıklığı %50

Rasopati sendromlarında örtüşen fenotipler



Rasopati spektrumundaki üç sendromda gözlenen temel perinatal bulgular ve sıklıkları

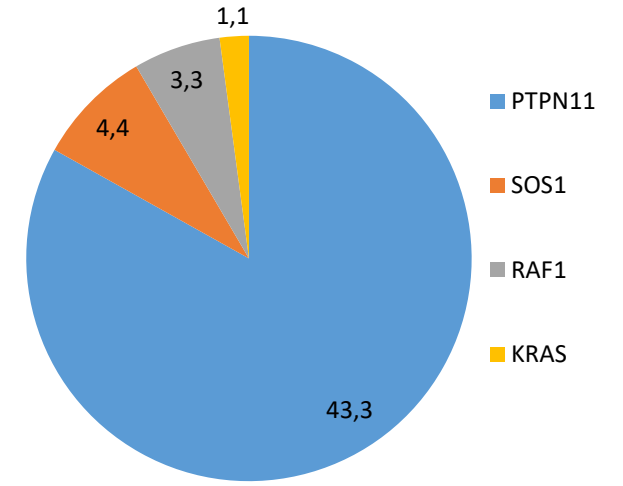
Toplam 22 postnatal olgunun retrospektif değerlendirmesi (10 NS, 3 CS, 9 CFCS)

Finding	Prenatal or neonatal	Noonan syndrome	Costello syndrome	Cardiofaciocutaneous syndrome
Long bones <5th centile	Prenatal	+++	++	+
Polyhydramnios	Prenatal	++	++++	++++
Cardiac – structural anomalies or cardiomyopathy	Prenatal	+	+++	+
	Neonatal	++++	+++	++++
Lymphatic dysplasia	Prenatal	+++	++++	+
	Neonatal	++++	+++	++
Macrosomia	Prenatal	++	+++++	+
	Neonatal	++	+++	+++
Head circumference >90th centile	Prenatal	++	++	+
	Neonatal	++	+++	+
Renal anomaly	Prenatal	+	+++++	+
	Neonatal	++	+++	++
Arrhythmia	Neonatal	1 case reported	+++	1 case reported
Feeding difficulty	Neonatal	++++	++++	+++++
Hypoglycemia	Neonatal	1 case reported	+++	1 case reported
Hypotonia	Neonatal	++	+++++	++++
Prematurity [<37 weeks]	Neonatal	+++	+++	+++
Respiratory distress	Neonatal	+++	++++	++

+ 1-20%, ++ 21-40%, +++ 41-60%, ++++ 61-80%, +++++ 81-100%.

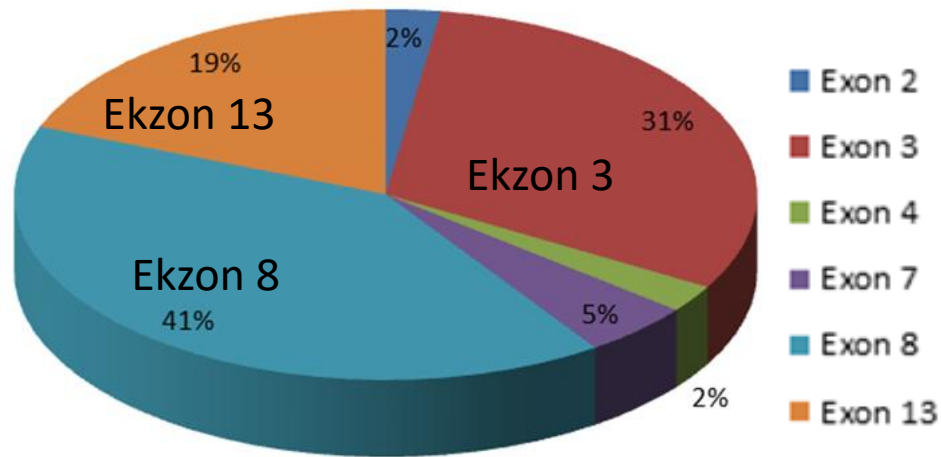
İTF Postnatal Analiz Sonuçları

- 90 olgu *PTPN11* dizi analizi
 - 39 olguda *PTPN11* mutasyonu (% 43,3)
 - 15 olgu *SOS1* dizi analizi 4 ünde *SOS1* mutasyonu (%26,7)
 - 11 olgu *RAF1* dizi analizi 3 ünde *RAF1* mutasyonu (%27,3)
 - 8 olgu *KRAS* dizi analizi 1 *KRAS* mutasyonu (%12,5)



Noonan spektrumu ön tanıli olgularda *PTPN11* ve diğer 3 genin taranması ile mutasyon saptanma oranı %52,2'ye ulaştı.

PTPN11 gen Analiz Sonuçları



PTPN11 Sanger Çalışmaları:

Ekzon 3, 4, 8, 13 (Hung CS, 2007) - %87

Ekzon 3, 4, 7, 8, 13, 14 (Fu-Song, 2009) - %88

Ekzon 2, 3, 4, 7, 8, 11, 12, 13, 14 (Aoki 2007) - %96

Tüm ekzonlar

PTPN11 Geni Analizleri: Prenatal Olgu Serisi (İTF+PREMED)

Toplam 246 prenatal olgu (2011-2018) patolojik USG bulgusu nedeniyle analiz edildi.

- 147 olgu ≤ 14 GH
 - 5 Olgu NT < 3 mm
 - 17 Olgu NT 3 - $\leq 3,4$ mm
 - 125 Olgu NT $\geq 3,5$ mm
- 86 olgu 15-24 GH
- 16 olgu ≥ 25 GH
- 145 olgu izole artmış NT (5 olgu 3-3,5 mm)
- 9 olgu izole kardiyak anomali
- 6 olgu izole plevral effüzyon
- 2 olgu izole kistik higroma

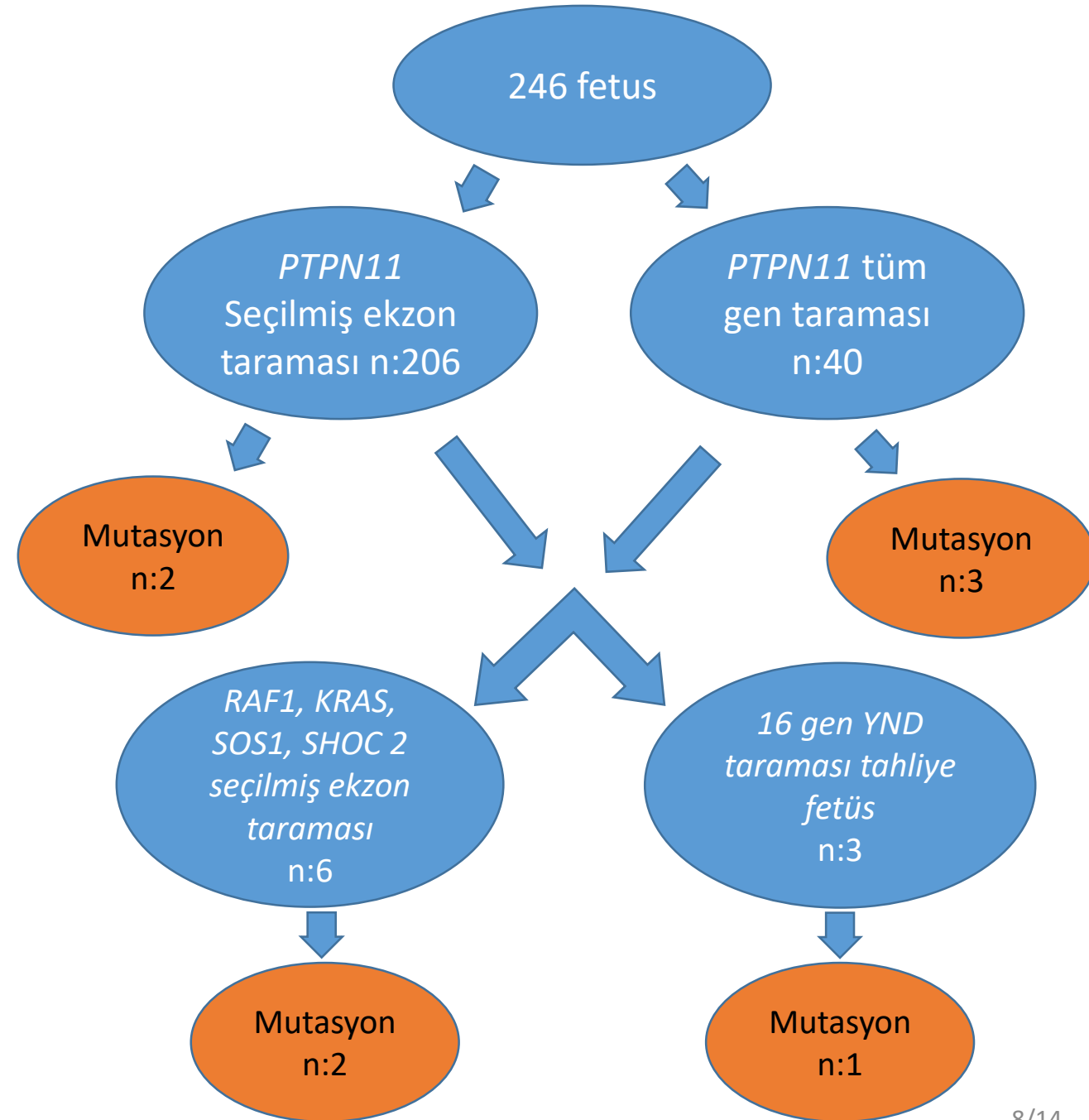
Moleküler Analiz Algoritması

1. Dönem; 206 olgu seçilmiş ekzon (Ekzon 3, 4, 7, 8, 13, 14) Sanger dizileme,
2. Dönem; 40 olgu tüm ekzonlar Sanger dizileme,
3. Dönem; 6 olgu diğer 4 gen hedef ekzonlar Sanger dizileme

3 olgu tahliye sonrası 16 gen içeren Yeni Nesil Dizileme (YND)

Moleküler Analiz Sonuçları

- 5 olguda *PTPN11* «hot spot» ekzonlarda mutasyon saptandı (5/246=%2).
 - 238 olgu çalışma devam etmedi
- 6 olgu 4 genli hedef ekzon analizinde 2 olguda mutasyon saptandı (2/6)
- Patolojik USG bulguları nedeni ile tahliye olan 3 olguda YND paneli ile 1 mutasyon saptandı.



PTPN11 geninde mutasyon saptanan olgular; USG ve Moleküler Bulgular

Olgu no	GH	NT (mm)	Ultrason patolojisi	Diğer endi.	PTPN11 dizi hedefi	Saptanan Mutasyon
1	19	N	Plevral effüzyon, tek umblikal arter, uzun kemiklerde kısalık (kısa FL ve UL), çilek kafa	ICSI	Seçilmiş ekzonlar	EX 4; c.417G>C; p.E139D
2	22	7	Artmış Ense plisi	ICSI	Seçilmiş ekzonlar	Ex 13 c.1529A>C; p.Q510P
3	13	18	Artmış NT, kistik higroma, generalize ödem, hipoplastik sol kalp, pelvis renalis dilatasyonu, unilateral polidaktili (ayak)		Tüm gen	Ex 3; c.218C>T, p.T73I
4	13	3,7	Artmış NT		Tüm gen	EX 13; c.1511T>C; NP_002825.3:p.M504T
5	29	N	Plevral effüzyon, sol hidrotoraks, polihramnios	KOÖ	Tüm gen	EX 3; c.319C>T; p.P107S <i>Novel</i>

Diğer genlerde mutasyon saptanan olgular: USG ve Moleküler Bulgular

Olgu no	GH	NT (mm)	Ultrason patolojisi	Moleküler analiz	Saptanan Mutasyon
6	20		Kistik higroma	<i>RAF1, KRAS, SOS1, SHOC 2</i>	RAF1 het c.775T>C;p.Ser259Pro
7	15	12	Kistik higroma, asit, sağ aortik ark, sağ ekstremitte tek kemik	<i>RAF1, KRAS, SOS1, SHOC 2</i>	SOS1 het c.755T>C p.Ile252Thr
8	20	>3,5	Kistik higroma	YND panel	SOS1 het c.755T>C p.Ile252Thr

Literatür

Brady AF, et al (Nicolaidis KH) J Med Genet 1998; 35: 222–4

- NT Noonan ~%1

Souka AP, et al (Nicolaidis KH) Ultrasound Obstet Gynecol 1998; 11: 391–400

- NT Noonan ~%1

Lee, et al, *Clin Genet.* 2009 Feb;75(2):190-4

134 fetus pat usg, PTPN11 mutasyon oranı **NT 2%** ve **kistik higroma 16%**

Cronen et al, *Eur J Hum Genet.* 2013 Sep;21(9):936-42

75 fetüs pat usg PTPN11, KRAS, SO1, RAF1 13/75 mutasyon (%17.3). **PTPN11 10/75 (%13,3)**

Hakami et al, *Prenat Diagn.* 2016 May;36(5):418-23.

Noonan spektrumu bulguları içeren toplam 212 **yenidoğan** ın prenatal bulguları;

mutasyon 46/212 (%21.7) (42 NS, 1, NSML,3 CFCS; 1 COSTELLO)

PTPN11 mutasyonu 31/212 (%14,6) (16 3. exon, 1 4. exon, 3 7. exon, 6 8. exon, 2 12. exon, 3 13. exon)

6 (%13) SOS1 mutasyonu

3 RAF mutasyonu

2 KRAS mutasyonu

1' er BRAF, HRAS, MAP2K1, NRAS mutasyonu

Leach et al, *Genet Med.* 2018 Jun 15

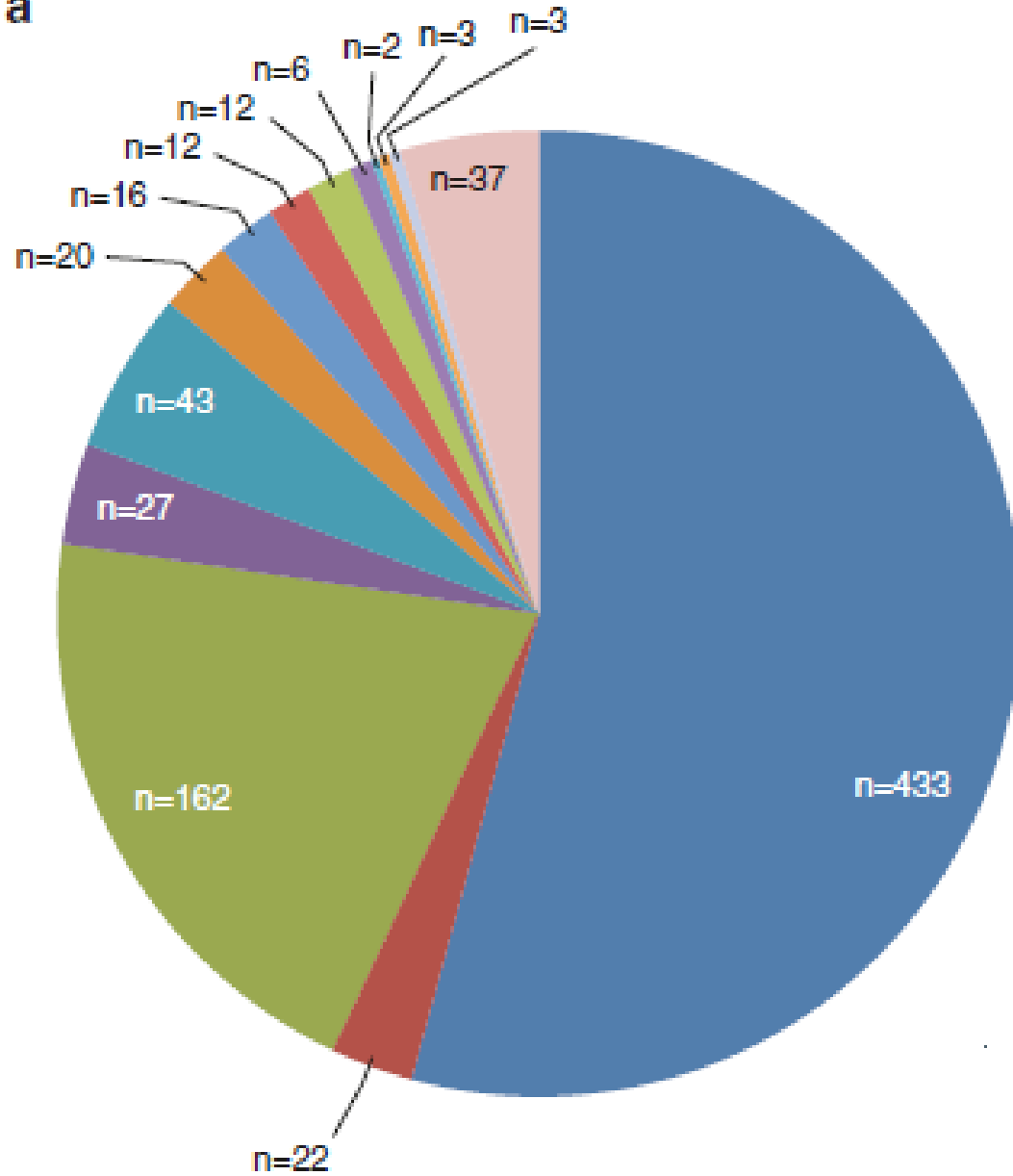
845 prenatal, 409 postnatal retrospektif çalışma,
72 prenatal olgu da varyant saptanıyor (%8,5),
31'i patojenik ya da olası patojenik (3,7%)
25'i *PTPN11* %80,7
***PTPN11* %2**

Tüm genler için «VUS* frekansı» %58.1
***PTPN11* geni** VUS %10.7 (**%2**)
***SOS1* geni** VUS %95 (mutasyon %0,12)

* **variant** of uncertain (or unknown) significance (**VUS**)

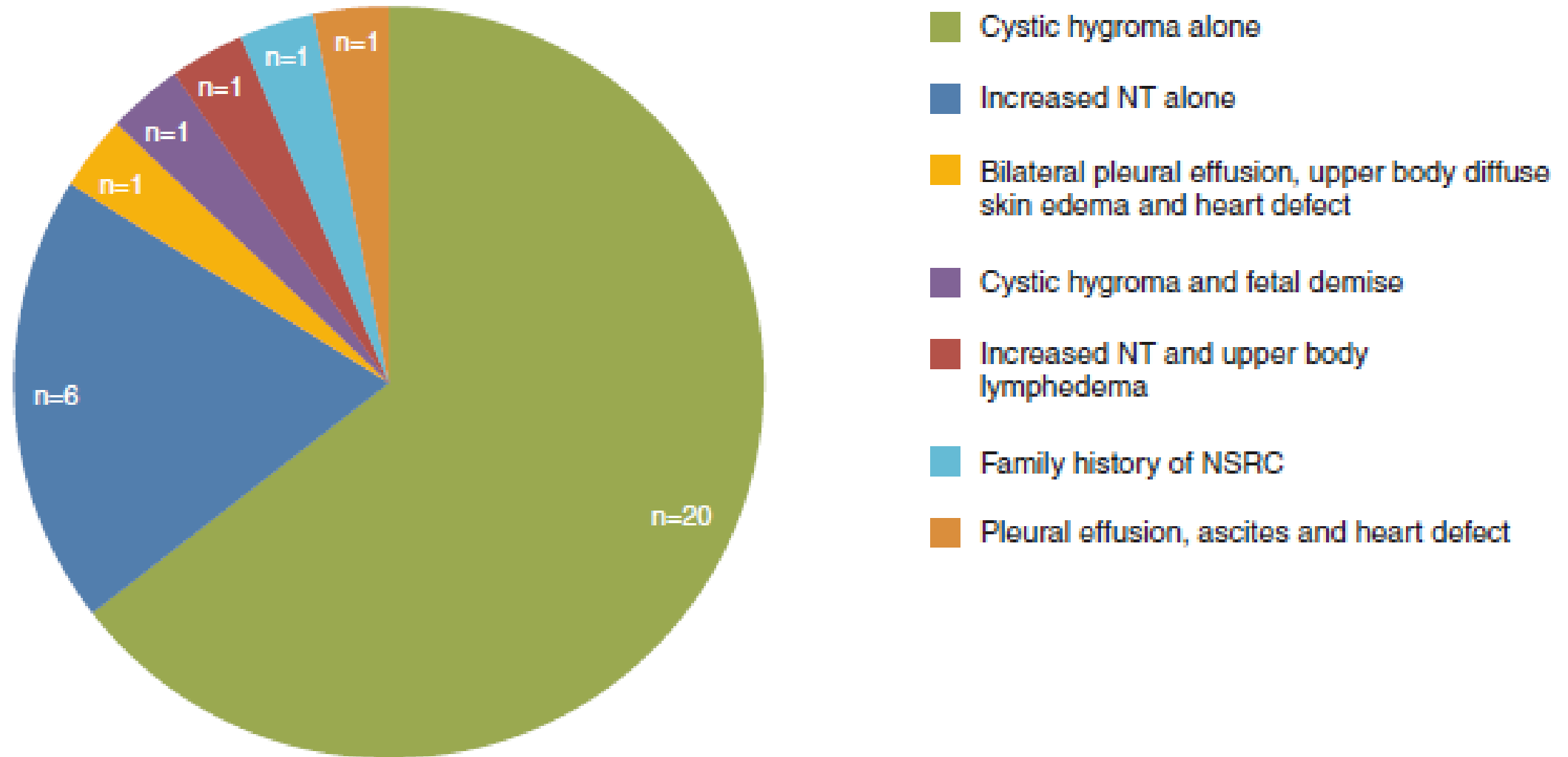
Tüm olguların ultrason bulgularının dağılımı

a



- Increased NT alone
- Increased NT and other ultrasound findings
- Cystic hygroma alone
- Cystic hygroma and other ultrasound findings
- Thickened nuchal fold alone
- Thickened nuchal fold and other ultrasound findings
- Heart defect alone
- Heart defect and other ultrasound findings (excluding increased NT, cystic hygroma, and thickened nuchal fold)
- Fetal hydrops/edema/pleural effusion
- Fetal hydrops/edema and other ultrasound findings (excluding increased NT, cystic hygroma, and heart defect)
- Polyhydramnios alone
- Renal anomalies
- Fetal demise only
- Other abnormal ultrasound findings

b Mutasyon saptanan olguların ultrason bulgularının dağılımı



Sonuç;

Noonan spektrumu düşündüren USG patolojisi (Artmış NT, Lenfatik anomaliler, KKH, Plevral efüzyon, Asit/ödem vs) gösteren fetuslarda algoritma;

1. Kromozom analizi (%25-30)
 2. Mikroarray/a-CGH (% 5-10)
 3. *PTPN11* geni seçilmiş ekzon moleküler analizi (%2)
 4. Noonan spektrumu ile ilişkili bilinen genlerin YND ile taranması (%2-3)
 5. Tüm Exom Dizileme (Klinik exom)(%30-40)
- Tüm algoritma uygulansa bile olguların %35-38 inde hala **genetik tanı yok**
 - YND testlerinde yüksek «VUS oranları ve rastlantısal bulgular»
 - Doğru ve etkin genetik danışma gerektirir.

• İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD

- Dr. Güven Toksoy
- Dr. Bilge Satkın ,
- Prof. Dr. Zehra Oya Uyguner,
- Uz. Dr. Umut Altunođlu,
- Uz. Dr. Şahin Avcı,
- Uz. Bio Deniz Açarsöz,
- Prof. Dr. Seher Başaran

İstanbul Tıp Fakültesi Kadın Hast. ve Doğum AD

- Prof Dr. Recep Has,
- Doç. Dr. İbrahim Kaleliođlu,
- Uz. Dr. Tuğba Sivrikoz,
- Prof. Dr. Atıl Yüksel

PREMED Genetik Tanı Merkezi

Dr. Selma Ulusal,
Uz. Dr. Tahir Dehgan,



Teşekkürler