



Türkiye Ulusal Allerji ve Klinik İmmünoloji Derneği
Turkish National Society of Allergy and Clinical Immunology



Zebraı düşün...

Şüphe duymazsan saptayamazsın!

Primer İmmün Yetersizlikler Tanı ve Taramada Kullanılan Laboratuvar Testleri Ulusal Rehberi

Editörler

Prof. Dr. Günnur Deniz

Doç. Dr. Semra Demir



Her hastanın ihtiyacı farklıdır.

FARKLI HAYATLAR, FARK YARATAN TEDAVİLER



Takeda bireyselleştirilmiş immunglobulin portföyü ile yanınızda.

PİY*, SİY*, Nadir Otoimmün† Hastalarının

Hayatını İyileştiren Ürünler

Kiovig
Normal İnsan İmmüoglobulini (IV ve IG)
%10 Çözelti

cuvitru
[Solüsyon uygulama için
%20 İnsan normal immüoglobulini]

HyQvia
İnsan Normal İmmüoglobulini (%10)
Rekombinant İnsan Hiyaluronidazı

Kiovig
Normal İnsan İmmüoglobulini (IV ve IG)
%10 Çözelti

Şeker¹
içermez

Tuz¹
içermez

%10¹
Konsantrasyon

Fizyolojik
osmolalite²

Düşük
IgA içeriği
(0.037mg/mL)

OSEAL
Plazma
Sertifikasyonu³

67 Yıllık
IG Deneyimi⁴



Kısa Ürün Bilgisi
için Qr Kodu
Okutabilirsiniz

Referanslar : 1. Kiovig Kısa Ürün Bilgisi. 2. Shah SR. A newer immunoglobulin intravenous (IGIV) – Gammagard® liquid 10%: Evaluation of efficacy, safety, tolerability and impact on patient care. Expert Opin. Biol. Ther. 2008; 8(6):799-804. 3. PPTA Quality Standards of Excellence, Assurance and Leadership (QSEAL) Certification, 2020 4. Data on file. Italian Health Ministry, Gammabulin approval letter. 1954. Bu ilaç ek izlemeye tabidir. Bu üçgen yeni güvenlik bilgisinin hızlı olarak belirlenmesini sağlayacaktır. Sağlık mesleği mensuplarının şüpheli advers reaksiyonları bildirmeleri beklenmektedir. Raporlama yapılması, ilacın yarar/risk dengesinin sürekli olarak izlenmesine olanak sağlamaktadır. Herhangi bir şüpheli advers reaksiyonu Türkiye Farmakovijans Merkezi (TUFAM)'ne (www.titck.gov.tr; e-posta; tufam@titck.gov.tr, tel: 0 800 314 00 06; faks: 0 312 218 35 99) ve/veya firmamıza doğrudan (e-posta: AE.Turkey@takeda.com; tel: 0212 401 82 00) bildirmeniz gerekmektedir. Malzemenin amaçlanan kullanım tarihi: 27 Kasım 2024'nden itibaren | C-APROM/TR/KDO/0067

* PİY: Primer İmmün Yetmezlik, SİY: Sekonder İmmün Yetmezlik, †Nadir otoimmün hastalıklar a) İmmün trombositopeni (ITP) olguları, b) Guillain-Barré sendromu, c) Kawasaki hastalığı, d) Multifokal motor nöropati hastalığı, e) Kronik İnflamatuar Demiyelinizan Polinöropatinin tedavisinde (KIDOP), f) Bulber tuzulumu olan Myasthenia Gravis tedavisi.





Türkiye Ulusal Allerji ve Klinik İmmünoloji Derneği
Turkish National Society of Allergy and Clinical Immunology

Primer İmmün Yetersizlikler
Tanı ve Taramada Kullanılan Laboratuvar Testleri
Ulusal Rehberi

Editörler

Prof. Dr. Günnur Deniz

Doç. Dr. Semra Demir

Ankara, 2024

www.aid.org.tr

Primer İmmün Yetersizlikler Tanı ve Taramada Kullanılan Laboratuvar Testleri Ulusal Rehberi

Editörler

Prof. Dr. Günnur Deniz

Doç. Dr. Semra Demir



Türkiye Ulusal Allerji ve Klinik İmmünoloji Derneği

Yönetim Kurulu

Prof. Dr. V. Dilşad Mungan, Başkan

Prof. Dr. A. Füsün Kalpaklıoğlu, 2. Başkan

Prof. Dr. Demet Can, Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Emine Dibek Mısırlıoğlu, Genel Sekreter

Prof. Dr. Özge Uysal Soyer, Dış İlişkiler Sorumlusu

Prof. Dr. Sevgi Keleş, Sayman

Prof. Dr. İnsu Yılmaz, İletişim Sorumlusu

Mustafa Kemal Mahallesi, 2124 Sokak, Yaşam İş Merkezi No:16/3

Söğütözü, Çankaya, Ankara

Tel: (312) 219 66 31 Faks: (312) 219 66 57

E-posta : sekreter@aid.org.tr

www.aid.org.tr

ISBN: 978-625-6726-06-2

BULUŞ Tasarım ve Matbaacılık Hizmetleri

Bahriye Üçok Caddesi 9/1 Beşevler, 06500 Ankara

Tel: (0312) 222 44 06 Faks: (0312) 222 44 07

www.bulustasarim.com.tr

E-posta: bulus@bulustasarim.com.tr

Yayıncı Sertifika No.: 41885

1000 adet basılmıştır.

Basım Tarihi: 12.11.2024, Ankara

"Primer İmmün Yetersizlikler Tanı ve Taramada Kullanılan Laboratuvar Testleri Ulusal Rehberi"nin basım ve yayım hakları Türkiye Ulusal Allerji ve Klinik İmmünoloji Derneği'ne aittir. Bu rehberin içeriğinin tümü veya bir bölümü Türkiye Ulusal Allerji ve Klinik İmmünoloji Derneği'nin yazılı izni olmadıkça kullanılamaz. Ancak kaynak gösterilerek alıntı yapılabilir. Sözlü ya da yazılı olarak veya daha başka bir yöntemle çoğaltılamaz ya da yayınlanamaz.

Bu rehber yayınlanmış kaynaklardan alınan bilgileri içermektedir. Bu görüşlerden dolayı Türkiye Ulusal Allerji ve Klinik İmmünoloji Derneği sorumlu tutulamaz. Ayrıca tıbbın gelişmekte olan bir bilim dalı olduğu gerçeğinden yola çıkarak, bu rehberde verilen bilgilerin bugün için kabul edilen en güncel bilgiler olduğu, bu bilgilerin zamanla değişime uğrayabileceği dikkate alınmalıdır.

Primer İmmün Yetersizlikler Tanı ve Taramada Kullanılan Laboratuvar Testleri Ulusal Rehberi

YAZARLAR (Alfabetik Sıra İle)



Ahmet Oğuzhan Özen
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, İstanbul
☎ 0000-0002-9635-5134



Ayça Kıyıkım
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, İstanbul
☎ 0000-0001-5821-3963



Ayşen Bingöl
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji
ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Antalya
☎ 0000-0002-0886-3332



Baran Erman
Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü,
Pediatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı, Ankara
☎ 0000-0001-9398-8465



Ceyda Tunakan Dalgıç
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Erişkin İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, İzmir
☎ 0000-0002-0318-3135



Deniz N. Çağdaş Ayvaz
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara
☎ 0000-0003-2213-4627



Derya Ünal
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Erişkin
İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul
☎ 0000-0001-9741-5939



Dilara F. Kocacık Uygun
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Antalya
☎ 0000-0002-7669-434X



Elif Karakoç-Aydiner
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, İstanbul
☎ 0000-0003-4150-5200



Esin Çetin Aktaş
İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp
Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı,
İstanbul
☎ 0000-0002-8078-2780



Esra Yücel
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp
Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları
Bilim Dalı, İstanbul
☎ 0000-0003-3712-2522



Fatih Çölkesen
Necmettin Erbakan Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Erişkin İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Konya
☎ 0000-0002-6595-1267



Fatma Ömür Ardeniz
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Erişkin İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, İzmir
☎ 0000-0003-3804-2065



Figen Doğu
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Ankara
☎ 0000-0002-7869-4941



Funda Çipe
Al Qassimi Women and Children Hospital,
Pediatric Allergy and Immunology, Sharjah,
Birleşik Arap Emirlikleri
☎ 0000-0002-9718-7507



Günnur Deniz
İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp
Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı,
İstanbul
☎ 0000-0002-0721-6213



Güzide Aksu
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve
Allerji Bilim Dalı, İzmir
☎ 0000-0003-2714-0903



Hasibe Artaç
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji
ve Allerji Bilim Dalı, Konya
☎ 0000-0002-9807-2605



İ. Çağatay Karaaslan
Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji
Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara
☎ 0000-0003-4857-0857



İlhan Tahralı
İstanbul Medipol Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
☎ 0000-0001-9647-796X



İlknur Külhaş Çelik

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Konya
☎ 0000-0003-3812-9654



Metin Yusuf Gelmez

İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp
Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı,
İstanbul
☎ 0000-0002-5279-0855



Mustafa Yavuz Köker

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri,
İmmünoloji Bilim Dalı, Kayseri
☎ 0000-0002-6595-1267



Neslihan Edeer Karaca

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, İzmir
☎ 0000-0002-2202-7082



Nilgün Akdeniz

İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp
Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı,
İstanbul
☎ 0000-0002-6208-3193



Safa Barış

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, İstanbul
☎ 0000-0002-4730-9422



Saliha Esenboğa

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara
☎ 0000-0003-0562-9863



Sara Şebnem Kılıç Gültekin

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Bursa
☎ 0000-0001-8571-2581



Semra Demir

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Erişkin
İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul
☎ 0000-0003-3449-5868



Şengül Beyaz

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, İmmünoloji ve Allerji
Hastalıkları Bölümü, Ankara
☎ 0000-0002-1505-4293



Şevket Arslan

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Erişkin İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Konya
☎ 0000-0002-0343-0159



Tolga Sütlü

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi,
Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler
Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul
☎ 0000-0002-7813-8734



Uğur Muşabak

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Ankara
☎ 0000-0003-1511-7634



Umut Can Küçüksezer

İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp
Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı,
İstanbul
☎ 0000-0002-5358-5570



Yıldız Camcıoğlu

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp
Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı,
Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, Allerji ve Klinik
İmmünoloji Bilim Dalı Emekli Öğretim Üyesi, İstanbul
☎ 0000-0002-4796-6828



Z. Şule Haskoloğlu

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Ankara
☎ 0000-0002-2668-0441

İÇİNDEKİLER

Önsöz X

Kısaltmalar XI

I. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları/Primer İmmün Yetersizliklere Genel Bakış

Bölüm 1. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları Güncel Sınıflama Tabloları

Tablo 1: Hücresel ve Hümorale İmmün Sistemi Etkileyen İmmün Yetersizlikler	3
Tablo 2: Sendromik Özellikleri Olan veya İlişkili Kombine İmmün Yetersizlikler	8
Tablo 3: Antikor Eksikliği Baskın Primer İmmün Yetersizlikler	16
Tablo 4: İmmün Disregülasyon Hastalıkları	19
Tablo 5: Fagositlerin Sayı ya da Fonksiyonlarındaki Konjenital Kusurlar	24
Tablo 6: Doğal İmmünite Kusurları	27
Tablo 7: Otoenflamatuvar Hastalıklar	32
Tablo 8: Kompleman Eksiklikleri	37
Tablo 9: Kemik İliği Yetersizlikleri	39
Tablo 10: İmmün Sistemin Doğuştan Kusurlarının Fenokopileri	41

Bölüm 2. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları/Primer İmmün Yetersizlikler: Sınıflama, Genel Bakış ve Tarihçe

1. Giriş.....	42
2. Tanım ve Nitelikleri.....	42
3. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurlarının Sınıflaması	43

Bölüm 3. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları/Primer İmmün Yetersizlik Hastalarında Tanısal Yaklaşım: Hangi Durumda Hangi Test/Testleri İsteyelim?

1. Giriş.....	46
2. Ne Zaman İmmün Yetersizlik Düşünelim?	46
2.1. Çocuklarda Klasik İmmün Yetersizlik Uyarıcı Bulguları	46
2.2. Erişkinde İmmün Yetersizlik Uyarıcı Bulguları	47
2.3. Klasik Olmayan İmmün Yetersizlik Uyarıcı Bulguları.....	47
3. Hangi Hastada Hangi İmmün Yetersizlik Olabilir?	47
4. İmmün Yetersizliklerin Güncel Sınıflandırması.....	47
5. Laboratuvar Testleri ve Seçimi.....	47
6. İmmün Yetersizliklerde Tanısal Yaklaşım Özeti.....	50

Bölüm 4. Antikor Eksikliği Baskın Primer İmmün Yetersizlikler

1. Giriş.....	54
2. Klinik Özellikler	54
2.1. Enfeksiyonlar	54
2.2. Enfeksiyon Dışı Komplikasyonlar	55
3. Tanı	55
3.1. Öykü	55
3.2. Aile Öyküsü	56
3.3. Fizik Muayene	56

- 3.4. Antikor Eksikliğinden Şüphelenilen Hastalarda İmmünolojik Değerlendirmede Birinci Basamak Testler ... 57
- 3.5. Antikor Eksikliğinden Şüphelenilen Hastalarda İmmünolojik Değerlendirmede İkinci Basamak Testler 58
- 3.6. Antikor Eksikliğinden Şüphelenilen Hastalarda İmmünolojik Değerlendirmede Üçüncü Basamak Testler 58

Bölüm 5. T Hücre Eksikliği ya da Kombine B ve T Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

1. Giriş..... 61
2. Tetkikler ve Tanısal Algoritma 63

Bölüm 6. Fagositer Sistem Kusurları İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

1. Giriş..... 65
2. Nötropeniler; Konjenital/kazanılmış, Sendromik/sendromik Olmayan..... 65
3. Fagositer Sistemin Hareket (motilite) Kusurları..... 68
4. Solunumsal Patlama Bozuklukları..... 68
5. Non-lenfoid Bozukluklar 70

Bölüm 7. Doğal Öldürücü ya da Sitotoksik T Hücre Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

1. Sitotoksik T Lenfosit ve Doğal Öldürücü Hücreler 72
2. Doğal (innate) Lenfoid Hücreler 73
3. Sitotoksik T Lenfosit ve Doğal Öldürücü Hücre Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler 74
 - 3.1. Sitotoksik T Lenfosit Eksiklikleri ile İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler 75
 - 3.2. Doğal Öldürücü Hücre Eksiklikleri ile İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler 75
4. Tanısal Testler ve Algoritmalar 77

Bölüm 8. Kronik Mukokütanöz Kandidiyazis İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

1. Giriş..... 79
2. Klinik Bulgular 79
3. Candidaya Karşı Doğal İmmünite..... 79
4. Kronik Mukokütanöz Kandidiyazis İlişkili İmmün Kusurlar 80
5. Baskın Bir Th17 Lenfosit Defektine Neden Olan Primer İmmün Yetersizlikler 80
 - 5.1. STAT3 Geninde Fonksiyon Kaybı Mutasyonu 80
 - 5.2. ZNF341 Genindeki Fonksiyon Kaybı Mutasyonları 81
 - 5.3. Fonksiyon Kazanımı ile Birlikte STAT1 Gen Mutasyonu 81
 - 5.4. IL-17 Kusuruna Neden Olan Primer İmmün Yetersizlikler 81
 - 5.5. Nükleer Faktör Kappa-Beta Aktivatör 1 (Act1) Eksikliği 82
6. Kronik Mukokütanöz Kandidiyazisli Hastalarda Tanısal Yaklaşım 82

Bölüm 9. Tekrarlayan Mikobakteriyel Enfeksiyon İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

1. Klinik bulgular nelerdir? Ne Zaman Şüphelenmeliyiz? 86
2. Hangi Testler İstenmeli? 88

Bölüm 10. Doğal-Edinsel İmmünite Arayüz Kusuru İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

1. Giriş..... 96
2. IFN- γ Döngüsüne Ait Moleküler Kusurlar 96
3. Herpes Ensefalitine Yatkınlık ile Seyreden İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları 97
4. NF κ B Yolağı ile İlgili Moleküler Kusurlar 97

Bölüm 11. Kompleman Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

1. Giriş.....	99
2. Kompleman Sistem Hastalıkları	99
2.1. Klinik Özellikler	100
2.1.1. Enfeksiyona Yatkınlık.....	100
2.1.2. Otoimmünite	101
2.2. CHAPLE Sendromu	103
2.3. Atipik Hemolitik Üremik Sendrom	103
2.4. C3 Glomerulopati	103
2.5. Yaşa Bağlı Makuler Dejenerasyon	103
2.6. Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüria	103
2.7. Konjenital CD59 eksikliği	103
3. Ne Zaman Şüphelenmeliyiz?.....	104
4. Laboratuvar Analizi-İstenilecek Tetkikler.....	104
4.1. Kompleman Yolaklarının Fonksiyonel Ölçümü.....	105
4.2. Kompleman Sistem Faktörlerinin ve Düzenleyici Moleküllerin Kantifikasyonu	105
4.3. Kompleman Faktörlerine Karşı Oto Antikorların Ölçümü	106
4.4. Kompleman Yolaklarının Aktivasyon Ürünlerinin Ölçümü	106
4.5. Kompleman Genlerinin Moleküler Analizi	106

Bölüm 12. İmmün Disregülasyon İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

1. Giriş.....	110
2. Primer İmmün Disregülasyon Bozuklukların Sınıflaması ve Klinik Bulgular	111
3. Primer İmmün Disregülasyon Bozukluklarında İstenilecek Testler ve Tanısal Algoritmalar	115

Bölüm 13. Otoenflamatuvar Hastalıklar

1. Giriş.....	116
2. Klinik Bulgular	116
3. Ne Zaman Şüphelenmeliyiz?.....	121
4. Hangi Testleri İstemeliyiz?	121

Bölüm 14. Kemik İliği Nakilli Hasta Takibi

1. Giriş.....	124
2. İmmün Rekonsititasyonun İzlemi	124
3. Hematopoetik Kök Hücre Nakli Sonrasında Komplikasyonların Takibi	127
3.1. Enfeksiyonlar	127
3.2. Graft versus Host Hastalığı	128
4. Uzun Dönem Yan Etkiler Açısından İzlem	129

II. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları/Primer İmmün Yetersizliklerin Tanı ve Taramasında Kullanılan Laboratuvar Testleri**Bölüm 1. Primer İmmün Yetersizlik Tanısında Kullanılan Tarama Testleri**

1. Giriş.....	137
2. Tam Kan Sayımı ve Periferik Yayma	137
3. İmmünoglobulinler	137
4. CH50, AH50.....	139

Bölüm 2. Aşı Yanıtı ve İzohemaglutininler

1. Aşı Yanıtı	140
1.1. Protein Yapıdaki Antijenlere (Tetanoz Toksoidi, Difteri Toksoidi ve Kızamık/Kabakulak Serolojileri vb.) Yanıt	141
1.2. Polisakkarit Yapıdaki Antijenlere (<i>S. Pneumoniae</i> , <i>H. Influenza</i> tip B) Yanıt	142
1.3. Neoantijenlere Yanıt.....	143
1.4 Aşı Yanıtlarının Değerlendirmesinde Kullanılan Yöntemler	144
2. İzohemaglutininler.....	144

Bölüm 3. Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları

1. Giriş.....	147
2. Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu.....	147
3. Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık Deri Testi	148
3.1. Testin Uygulanması	148
3.2. Testin Yorumlanması.....	148
3.3. Tüberkülin Deri Testi	149
3.4. Kandida Deri Testi	149
3.5. Tetanoz Toksoid Deri Testi.....	149
4. Alerjik Yanıt.....	149

Bölüm 4. Lenfosit Alt Grup Analizleri: İmmüfenotiplleme

1. Akan Hücre Ölçer Temel İmmüfenotiplleme	151
2. B Hücre Alt Grup Analizleri	151
3. T Hücre Alt grup Analizi	155

Bölüm 5. Hastalık İlişkili Proteinlerin Akan Hücre Ölçer ile Analizi

1. Giriş.....	161
2. Lenfosit Alt Popülasyonlarının Analizi.....	161
3. Spesifik Hücre Yüzey Proteinlerinin Analizi	162
3.1. PİY Tanısında Önemli Hücre Yüzey Proteinleri	162
4. Spesifik Hücre İçi Proteinlerin Analizi	164
4.1. PİY Tanısında Önemli Hücre İçi Proteinler.....	164
5. Bağışıklık Hücreleri Fonksiyonlarının Analizi.....	165

Bölüm 6. Fonksiyonel Analizler

1. Lenfosit Proliferasyon Analizi	168
1.1. Lenfosit Proliferasyon Testleri	168
1.1.1. Çalışma Prosedürü.....	169
2. Hücre İçi Sitokin Ölçümü.....	172
2.1. Periferik Kan Mononükleer Hücre İzolasyonu	173
2.2. Lenfositlerin <i>in vitro</i> Kısa Süreli Kültür Aşamaları.....	173
2.3. Sitokinlerin Hücre İçi Depolanması.....	173
2.4. Hücre İçi Sitokin Boyama Aşamaları	173
2.5. Hücrelerin Boyanma Aşamaları	175
3. Doğal Öldürücü Hücreler - Sitotoksikite Analizi	176

3.1. Doğal Öldürücü Hücreler.....	176
3.1.1. Doğal Öldürücü Hücrelerinin Sitotoksik Fonksiyonları	176
3.1.2. Doğal Öldürücü Hücre Yetersizlikleri ve Sınıflandırılması.....	178
3.2. Sitotoksik Aktivite Tayininde Kullanılan Yöntemler.....	178
3.2.1. ⁵¹ Chromium Salınım Deneyi.....	179
3.2.2. K562 Hücre Lizisine Bağlı Sitotoksik Aktivite Tayini.....	179
3.2.3. Doğal Öldürücü Hücre Degranülasyon Belirteci - CD107a Tayini	180

Bölüm 7. Kronik Granümatöz Hastalıkta Tanısal Yaklaşım

1. Kronik Granümatöz Hastalık	184
2. Tanı Testleri	184
2.1. Nitroblue Tetrazolium Testi	184
2.2. Dihidrorodamin Testi	185
2.3. Kronik Granümatöz Hastalıkta Klinik Tanı ve Laboratuvar Tanısının Önemi	188

Bölüm 8. Genetik Testler

1. Dizileme Yöntemleri.....	190
2. Birinci Nesil Dizileme Yöntemleri	190
3. İkinci Nesil Dizileme Yöntemleri.....	191
3.1. Hedeflenmiş Dizileme	191
3.2. Tüm Ekzom Dizileme	192
3.3. Tüm Genom Dizileme.....	192
4. Üçüncü Nesil Dizileme Yöntemleri.....	194

Bölüm 9. Gelecekte Kullanılabilecek Testler: Proteomikler

1. Proteomik Çalışmalar.....	195
1.1. Proteomik Çalışmalarında Kullanılan Teknikler.....	195
1.1.1. Düşük İşlem Hacimli Yöntemler.....	195
1.1.2. Yüksek İşlem Hacimli Yöntemler	197
2. Proteomik Teknikler: Primer İmmün Yetersizlik Klinik Uygulamaları	198

ÖNSÖZ

Primer immün yetersizlikler güncel terminoloji ile **immün sistemin doğuştan kusurları** altta yatan bozukluğa bağlı olarak farklı sistemleri etkileyebilen, birçok farklı klinik tablo ile karşımıza gelebilen ve uygun şekilde tedavi edilmezler ise morbidite ve mortalite ile sonuçlanabilen nadir hastalıklardır. Bu hastalıklar genellikle 1000-5000 canlı doğumda bir görülmekle birlikte, akraba evliliklerinin yaygın olduğu ülkemizde daha sık rastlanmaktadır. Primer immün yetersizliklerin en yaygın klinik bulgusu enfeksiyonlardır. Ancak, immün sistemin regülasyon kusurları ve/veya hiperaktivitesi sonucunda otoimmünite, otoenflamasyon, allerji, lenfoproliferasyon, enteropati ve malignite gibi farklı klinik tablolar da ortaya çıkabilmektedir. Bu belirtiler, hastalığın başlangıcında veya takip sürecinde de gelişebilmektedir.

Erken bebeklik döneminde tanı almazsa ölüm ile sonuçlanabilen ağır kombine immün yetersizliklerin haricindeki diğer primer immün yetersizlikler her yaşta görülebilmektedir. Maruziyetler, çevresel ve epigenetik faktörler ve somatik mutasyonlar, hastalığın başlangıç yaşını etkileyen unsurlardır. Ancak, primer immün yetersizlikler hâlâ çoğunlukla çocukluk çağı hastalıkları olarak düşünülmekte ve bu durum yeterli bilgi ve farkındalığın eksikliği nedeniyle tanı gecikmesine neden olmakta ve morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır. Ayrıca, yetersiz ve/veya uygun olmayan tedavilerin kullanımı ve tekrarlayan hastane başvuruları, sağlık sistemi üzerinde ciddi bir maliyeti beraberinde getirmektedir. Tanıdaki gecikme, yaşam kalitesi önemli ölçüde düşük olan bu hastalarda iş gücü ve okul devamlılığının kaybına neden olmakta, bu da dolaylı maliyetleri artırmaktadır. Bu sebeple erken tanı, primer immün yetersizliklerde kritik bir öneme sahiptir.

Son yıllarda moleküler biyoloji, immünoloji ve genetik alanlarındaki ilerlemeler sayesinde primer immün yetersizlikler daha iyi anlaşılmiş, yeni hastalıklar tanımlanmış ve bu hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek hedefe yönelik ya da replasman tedavileri gibi mortalite ve morbiditeyi azaltabilecek tedavi seçenekleri geliştirilmiştir. Ayrıca, yeni tanı testlerinin kullanıma girmesiyle, bu hastalıkların teşhisi daha hızlı ve doğru bir şekilde yapılabilmektedir. Tanıya giden yolda en önemli aşamalardan biri hastalığın varlığından şüphelenmektir. Tanı sürecinde basamak yaklaşımı izlenmeli, hastanın klinik belirtileri göz önüne alınarak adım adım tanısal testler yapılmalı ve tanı doğrulanmalıdır. Ancak, bu hastalar geniş bir klinik yelpazeye sahip olduklarından, birçok farklı branş hekimine başvurabilmektedirler. Örneğin, tekrarlayan otit ya da sinüzit ile kulak burun boğaz hekimine, pnömoni ile göğüs hastalıkları ya da enfeksiyon hastalıkları uzmanına, otoimmün belirtiler ile romatoloji başta olmak üzere birçok farklı dahiliye ya da pediatri alt branşlarına başvurmaları mümkündür. Hastanın tüm klinik özellikleri, fenotip kavramı çerçevesinde bir bütün olarak değerlendirilmese, tanı atlanabilir. Bu nedenle, multidisipliner yaklaşım ve hekimler arasındaki iş birliği, erken tanı ve uygun tedaviye yönlendirilme açısından büyük önem taşımaktadır.

Primer immün yetersizliklerin tanısal süreçte en önemli adımlarından biri hastalıktan şüphelenmektedir. Bu nedenle, hastalığı düşündüren klinik bulguların iyi bilinmesi ve bunların dikkatle değerlendirilmesi gerekmektedir. Rehberimiz, klinik tablolardan şüphelenme aşamasından başlayarak gerekli tetkiklerin nasıl belirleneceği ve hangi adımların izleneceği konusunda yol gösterici olacaktır.

“Primer immün yetersizlikler tarama ve tanıda kullanılan laboratuvar testleri ulusal rehberi” başlıklı kitabımız, primer immün yetersizlikler diğer tabiriyle immün sistemin doğuştan kusurlarında hekimlerimizin tanı sürecine rehberlik etmeyi amaçlamaktadır. Bu rehberde, hangi klinik bulgular varlığında hangi hastalıktan şüphelenmemiz gerektiği, hangi tarama ve tanı testlerini nasıl bir sıra ile uygulamamız gerektiği, bilimsel veriler ışığında, konunun çok değerli uzmanları tarafından tüm yönleri ile ele alınmıştır. Ulusal Allerji ve Klinik İmmünoloji Derneği, Laboratuvar Araştırmaları Çalışma Grubu tarafından oluşturulmuştur. Toplantılarımız sırasında, primer immün yetersizliklerin tanısında karşılaşılan zorluklar ve bu alandaki eksiklikler tartışılmış ve bu doğrultuda, böyle bir rehberin hekimlerimize önemli bir kaynak olacağına karar verilerek dernek yönetiminden bu konuda destek istenmiştir. Bu rehberin hazırlanmasında emeği geçen çok değerli yazarlarımıza, dernek yönetim kurulu üyelerine, derneğimizin değerli sekreteri Veli Sipahi'ye ve yayın sürecinde özverili çalışmalarlarıyla katkı sağlayan yayınevi çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimizi sunarız.

Bu rehber niteliğindeki kitabımızın, meslektaşlarımıza yol gösterici ve faydalı olmasını dileriz.
Saygılarımızla

Günnur Deniz
Editör

Semra Demir
Editör

Dilşad Mungan
Yönetim Kurulu Başkanı

Rehberde Kullanılan Kısaltmalar (Alfabetik sıra)

ACT: Nükleer faktör kapp-beta aktivatörü	ERT: Enzim replasman tedavisi
ADA: Adenozin deaminaz eksikliği	ESI: Elektrosprey iyonizasyonunu
AEBPİY: Antikor eksikliği baskın primer immün yetersizlikler	ESID: Avrupa İmmünoloji Dernekleri Birliği
AGS: Aicardi-Goutières sendromu	FasL: Fas ligand
AH50: Alternatif yolak hemolitik aktivite	FCAS: Ailesel soğuk otoenflamatuvar sendrom
AHÖ: Akan hücre ölçer	FISH: Floresan in situ hibridizasyon
aHÜS: Atipik hemolitik üremik sendrom	FMF: Ailevi akdeniz ateşi
AIRE: Otoimmün düzenleyici	FOXP3: Forkhead Box P3
AKİY: Ağır kombine immün yetersizlik	FSC: Önden saçılım
ALPID: Otoimmün lenfoproliferatif immün yetersizlikler	G-CSF: Granülosit koloni uyarıcı faktör
ALPS-like: Otoimmün lenfoproliferatif sendrom benzeri fenotipler	GAF: Gama aktif faktörü
ALPS: Otoimmün lenfoproliferatif sendrom	GM-CSF: Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör
ALS: Absolü lenfosit sayısı	GOF: İşlev kazanım (gain of function)
AML: Akut miyeloid lösemi	GPI: Glikosilfosfatidilinositol
APDS: Aktive PI3K delta sendromu	GRZB: Granzim B
APECED: Otoimmün poliendokrinopati, kandidiyaz, ektodermal distrofi	G6PD: Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz
AT: Ataksi telenjektazi	GVHD: Greft versus host hastalığı
BAFFR: B hücre aktivasyon faktörü reseptörü	HAÖ: Herediter anjiyoödem
BCG: Bacillus Calmette-Guérin	HIES: Hiperimmünoglobulin E sendromu
BCR: B hücre reseptörü	HIV: İnsan immünyetersizlik virüsü
BFA: Brefeldin A	HKHN: Hematopoetik kök hücre nakli
BMI: Vücut kütle indeksi	HLA: İnsan lökosit antijeni
BTK: Bruton tirozin kinaz	HLH: Hemofagositik lenfohistositozis
C3G: C3 glomerülopati	HOCL: Hipokloröz asit
C3GN: C3 glomerülonefrit	HPV: İnsan papilloma virüsü
CANDL: Lipodistrofilinin eşlik ettiği kronik atipik nötrofilik dermatit	HSE: HSV ensefaliti
CD: Farklılaşma kümesi	HSV: Herpes simpleks virüs
CFSE: Karboksifloresein süksinimidil ester	İBD: Enflamatuvar bağırsak hastalığı
CH50: Kompleman yolağı hemolitik aktivite	ICF: Kromozom 1, 9 ve 16'da sentromer instabilitesi ve fasiyel anomaliler ile ilişkili immün yetersizlik
CINCA: İnfanfil nörolojik kütanöz artiküler sendrom	IEI: İmmün sistemin doğuştan kusurları
CMV: Cytomegalo virüs	IFN: İnterferon
CNV: Kopya sayısı varyasyonları	Ig: İmmünoglobulin
CRP: C-reaktif protein	IGRA: İnterferon-γ salınım testi
CTL: Sitotoksik T lenfosit	IKKB: Nükleer faktör kapp B kinaz subünit beta inhibitör
CTLA4: Sitotoksik T lenfosit antijeni 4	IL: İnterlökin
COVID: Yaygın değişken immün yetersizlik	ILC: Doğal lenfoid hücre
CYBA: Sitokrom B-245 alfa zinciri	ILD: İnterstisyel akciğer hastalığı
CYBB: Sitokrom B-245 beta zinciri	IPEX-like: IPEX benzeri fenotipler
CYBC: Sitokrom B-245 şaperon zinciri	IPEX: İmmün disregülasyon, poliendokrinopati, enteropati, X bağlantılı hastalık
DADA2: Adenin deaminaz 2 eksikliği	IRAK: İnterlökin-1 reseptör ilişkili kinaz
DAF: Bozulmayı hızlandıran faktör	IRF: İnterferon düzenleyici faktör
DHR: Dihidrorodamin	ISG: İnterferon ile uyarılmış gen
DIRA: İnterlökin 1 reseptörü antagonistinin eksikliği	ISSAID: Uluslararası Sistemik Otoenflamatuvar Hastalıklar Derneği
DLCO: Karbon monoksit diffüzyon kapasitesi	ITK: İnterlökin-2 indüklenebilir T-hücre kinaz
DM: Diyabetes mellitus	İTP: İmmün trombositopeni
DMSO: Dimetilsülfoksit	IUGG: İntrauterin gelişme geriliği
DNT: Çift negatif T	IUIS: Uluslararası İmmünoloji Dernekler Birliği
DOCK8: Deducator of cytokinesis 8	İVİG: İntravenöz immünoglobulin replasman tedavisi
EBV: Epstein Barr Virüs	JAK: Janus ilişkili kinaz
EDTA: Etilen diamin tetraasetat	KBY: Kronik böbrek yetersizliği
ELISA: Enzim işaretli immünosorbent test	KIR: Öldürücü hücre immünglobulin benzeri reseptörü
Eomes: Eomesodermin	

KİT: Kemik iliği transplantasyonu	PIGA: Fosfatidil inositol glikan ankor
KİY: Kombine immün yetersizlik	PİY: Primer immün yetersizlik
KMK: Kronik mukokutanöz kandidiyazis	PKE: Protein kaybettiren enteropati
KREC: Kappa silen rekombinasyon eksizyon halkaları	PKL: Periferik kan lenfositler
LAD: Lökosit adezyon defekti	PLAID: PLC2 ilişkili antikor eksikliği ve immün disregülasyon
LAMP-1: Lizozom bağlı membran proteini-1	PMA: Forbol miristat asetat
LAT: Lenfosit aktivasyon testi	PNH: Paroksizmal nöktürnal hemoglobüniria
LC-MS: Sıvı kromatografi - kütle spektrometresi	PNP: Pürin nükleosid fosforilaz
LOF: İşlev kaybı (loss of function)	PPD: Pürifiye protein türevi
LPS: Lipopolisakkarit	PPV: Pnömokok polisakkarit aşısı
LRBA: Lipopolysaccharide-responsive and beige-like anchor	PRF: Perforin
LTİ: Lenfoid doku tetikleyici	PRP: Poliribosil ribitol fosfat
MAGT: Magnezyum transporter	PRR: Patern tanıyan reseptör
MAK: Membran atak kompleks	PRV: Parainfluenza virüs
MALDI-TOF: Matris destekli lazer desorpsiyon iyonlaştırılmalı - uçuş zamanlı kütle spektrometresi	RA: Romatoid artrit
MALDI: Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonunu	Rac2: Ras ile ilişkili C3 botulinyum toksini substratı 2
MAS: Makrofaj aktivasyon sendromu	RAG: Rekombinasyon aktive edici gen
MASP: MBL ilişkili serin proteaz	RIA: Radyoimmün analizler
MBL: Membrana bağlı lektin	RORC: RAR ile ilişkili orphan reseptör C
MCF: Monosit kemotaktik faktör	RSV: Respiratuvar sinsitsiyal virüs
MDS: Miyelodisplastik sendrom	RTE: Yeni timik göçmen
MFI: Ortalama (mean) floresan yoğunluğu	SAE: Spesifik antikor eksikliği
MHC: Majör histokompatibilite kompleksi	SAVI: STING ilişkili vaskülopati, infantil başlangıçlı
MPGN: Membranoproliferatif glomerülo nefrit	SLE: Sistemik lupus eritematozus
MPO: Miyeloperoksidaz	SMRT: Gerçek zamanlı tek molekül dizilemesi
NBS: Nijmegen kırılma sendromu	SOD: Süperoksit dismutaz
MS: Kütle spektrofotometrisi	SPENCED: İmmün disregülasyonlu spondiloenkondroplazi
MSMD: Mikobakteriyel hastalıklara mendelyen yatkınlık	SPPL2a: Sinyal peptid peptidaz benzeri 2a
MYD: Miyeloid farklılaşma birincil yanıtı	SSC: Yandan saçılım
NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat	STAT: Sinyal transdüser ve transkripsiyon aktivatörü
NBT: Nitrobluetetrazolium testi	STX: Sinaxtin
NCF: Nötrofil sitozol faktör	STXBP2: Sinaxtin bağlayan protein 2
NCR: Doğal sitotoksikite reseptörü	TBX21: T-box transkripsiyon faktörü 21
NEMO: Nükleer faktör kappa B essential modulator	TCM: Merkezi hafıza T hücre
NFkB: Nükleer faktör kappa B	TCR: T hücre reseptörü
NGS: Yeni nesil dizileme	TEM: Ektör hafıza T hücre
NIH: Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institutes of Health)	TEMRA: Dokuya yerleşik hafıza T hücreleri
NK: Doğal öldürücü (Natural Killer)	TFA: Ters faz protein mikroarray
NKT: Doğal öldürücü T	Th: Yardımcı T hücre
NLRP3: NLR ailesi pirin alanı içeren 3	TLR: Toll benzeri reseptör
NMR: Nükleer manyetik rezonans	TNF: Tümör nekroz faktörü
NOMID: Neonatal başlangıçlı multisistemik enflamatuvar hastalık	TRAIL: Tümör nekroz faktör ilişkili apoptozisi indükleyen ligand
NTM: Tüberküloz dışı mikobakter	TRAPS: Tümör nekroz faktör reseptörü ile ilişkili periyodik sendrom
OD: Otozomal dominant	TREC: T hücre reseptör eksizyon halkaları
OH: Otoenflamatuvar hastalıklar	Treg: Regülatör T
OIHA: Otoimmün hemolitik anemi	TYK: Tirozin kinaz
OMIM: İnsanda çevrimiçi mendelyen kalıtım	UNC13D: Munc13-4
OR: Otozomal resesif	US: Uyarımsız
PAGE: Poliakrilamid jel elektroforezi	USG: Ultrasonografi
PAP: Pulmoner alveoler proteinozis	VZV: Varisella zoster virüs
PAPA: Piyojenik steril artrit, piyoderma gangrenozum, akne	WASP: Wiskott-Aldrich sendromu proteini
PBMC: Periferik kan mononükleer hücreler	WES: Tüm ekzom dizileme
PBS: Fosfat tampon çözeltisi	WGS: Tüm genom dizileme
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu	WHIM: Siğil, hipogammaglobulinemi, enfeksiyonlar ve miyelokateksi sendromu
PHA: Fitohemaglutinin	WHO: Dünya Sağlık Örgütü
PI: Propidyum iyodür	XIAP: X'e bağlı apoptoz inhibitör proteini
PI3K: Fosfatidil inositol 3 kinaz	XLA: X'e bağlı agammaglobulinemi
PIDB: Primer immün disregülasyon bozuklukları	ZAP: Zeta zinciri ilişkili protein
	ZNF341: Zinc finger protein 341

I.

İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları/Primer İmmün Yetersizliklere Genel Bakış

- Bölüm 1. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları Güncel Sınıflama Tabloları
- Bölüm 2. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları/Primer İmmün Yetersizlikler: Sınıflama, Genel Bakış ve Tarihçe
- Bölüm 3. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları/Primer İmmün Yetersizlik Tanısal Yaklaşım: Hangi Durumda Hangi Test/Testleri İsteyelim?
- Bölüm 4. Antikor Eksikliği Baskın Primer İmmün Yetersizlikler
- Bölüm 5. T Hücre Eksikliği ya da Kombine B ve T Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler
- Bölüm 6. Fagositer Sistem Kusurları İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler
- Bölüm 7. Doğal Öldürücü ya da Sitotoksik T Hücre Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler
- Bölüm 8. Kronik Mukokütanöz Kandidiyazis İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler
- Bölüm 9. Tekrarlayan Mikobakteriyel Enfeksiyon İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler
- Bölüm 10. Doğal-Edinsel İmmünite Arayüz Kusuru İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler
- Bölüm 11. Kompleman Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler
- Bölüm 12. İmmün Disregülasyon İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler
- Bölüm 13. Otoenflamatuvar Hastalıklar
- Bölüm 14. Kemik İliği Nakilli Hasta Takibi

İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları Güncel Sınıflama Tabloları

Çeviren Doç. Dr. Semra DEMİR

Tablo 1. Hücresel ve humoral immün sistemi etkileyen immün yetersizlikler

1. T-B+ Ağır Kombine İmmün Yetersizlikler (AKİY)							
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünoglobulinler	İlişkili özellikler
γC eksikliği (Ortak gamma zincir eksikliği AKİY, CD132 eksikliği)	IL2RG	XL	308380	Çok düşük	Normal ya da yüksek	Düşük	NK düşük
JAK3 eksikliği	JAK3	OR	600173	Çok düşük	Normal ya da yüksek	Düşük	NK düşük
IL7Rα eksikliği	IL7R	OR	146661	Çok düşük	Normal ya da yüksek	Düşük	NK normal
CD45 eksikliği	PTPRC	OR	151460	Çok düşük	Normal	Düşük	γ/δ T hücreleri normal
CD3δ eksikliği	CD3D	OR	186790	Çok düşük	Normal	Düşük	NK normal, γ/δ T hücresi yok
CD3ε eksikliği	CD3E	OR	186830	Çok düşük	Normal	Düşük	NK normal, γ/δ T hücresi yok
CD3ζ eksikliği	CD3Z	OR	186780	Çok düşük	Normal	Düşük	NK normal, γ/δ T hücresi yok
Coronin-1A eksikliği	CORO1A	OR	605000	Çok düşük	Normal	Düşük	Saptanabilir timus
LAT eksikliği	LAT	OR	602354	Düşük ya da normal	Düşük ya da normal	Yüksek	Tipik AKİY ya da adenopati, splenomegali, tekrarlayan enfeksiyonlar ve otoimmünite ile seyreden KİY
SLP76 eksikliği (1 hasta)	LCP2	OR	619374	Düşük	Normal	IgM yüksek, IgA düşük	Erken başlangıçlı deri apseleri, döküntü, tekrarlayan enfeksiyonlar ve otoimmünite

2. T-B- AKİY

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünglobulinler	İlişkili özellikler
RAG eksikliği	RAG1 RAG2	OR	179615 179616	Çok düşük	Çok düşük	Düşük	NK hücre sayısı normal, ancak muhtemelen aktive NK hücrelerine bağlı doku reddi riski artmış
DCLRE1C (Artemis) eksikliği	DCLRE1C	OR	605988	Çok düşük	Çok düşük	Düşük	NK hücre sayısı normal, ancak muhtemelen aktive NK hücrelerine bağlı doku reddi riski artmış, radyosensitivite
DNA PKcs eksikliği	PRKDC	OR	615966	Çok düşük	Çok düşük	Değişken	NK normal, radyosensitivite, mikrosefali
Cernunnos/XLF eksikliği	NHEJ1	OR	611290	Çok düşük	Çok düşük	Düşük	NK normal, radyosensitivite, mikrosefali
DNA ligaz IV eksikliği	LIG4	OR	601837	Çok düşük	Çok düşük	Düşük	NK normal, radyosensitivite, mikrosefali
Adenozin deaminaz (ADA) eksikliği	ADA	OR	608958	Çok düşük	Düşük	Düşük	Düşük NK, kemik bozuklukları, pulmoner alveolar proteinosis olabilir, bilişsel bozukluklar
AK2 eksikliği	AK2	OR	103020	Çok düşük	Çok düşük	Düşük	Retiküler disgenezi, nötropeni, sağrılık
Aktive RAC2 eksikliği	RAC2	OD GOF	602049	Çok düşük	Çok düşük	Düşük, spesifik antikor yanıtı kötü	Tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, lenfoproliferasyon, nötropeni

3. AKİY'e göre Daha Hafif Kombine İmmün Yetersizlikler (KIY)

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünglobulinler	İlişkili özellikler
CD40 ligand (CD154) eksikliği	CD40LG	XL	308230	Düşük ya da normal	IgM ⁺ IgD ⁺ naif B hücreleri var, IgG ⁺ IgA ⁺ IgE ⁺ hafıza B hücreleri yok	IgM normal ya da yüksek, diğer Ig izotipleri düşük	Ağır ve fırsatçı enfeksiyonlar, idiyopatik nötropeni, hepatit, kolanjit, <i>Cryptosporidium</i> enfeksiyonları, kolanjokarsinoma, otoimmün sitopeniler, periferik nöroektodermal tümörler
CD40 eksikliği	CD40	OR	606843	Normal	Normal	Normal	Nötropeni, fırsatçı enfeksiyonlar, gastrointestinal, safra yolları ve karaciğer hastalıkları, <i>Cryptosporidium</i> enfeksiyonları
ICOS eksikliği	ICOS	OR	604558	Normal	Normal	Düşük	Tekrarlayan enfeksiyonlar, otoimmünite, gastroenterit, granülomlar
ICOSL eksikliği	ICOSLG	OR	605717	Düşük	Düşük	Düşük	Tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, nötropeni
CD3γ eksikliği	CD3G	OR	186740	Sayı normal ancak TCR ekspresyonu düşük	Normal	Normal	İmmün yetersizlik ve değişken şiddette otoimmünite
CD8 eksikliği	CD8A	OR	186910	CD8 yok, CD4 normal	Normal	Normal	Tekrarlayan enfeksiyonlar, asemptomatik olabilir
ZAP-70 eksikliği (ZAP70 LOF)	ZAP70	OR	269840	Düşük CD8, normal fakat fonksiyonu zayıf CD4	Normal	Normal	İmmün disregülasyon olabilir, otoimmünite
ZAP70 kombine hipomorfik ve aktive edici mutasyonlar	ZAP70	OR (LOF/GOF)	617006	Düşük CD8, normal ya da düşük CD4	Normal ya da düşük	IgA normal, IgM düşük, IgG düşük ya da normal, aşılara koruyucu antikor yanıtı	Ağır otoimmünite (büllöz pemfigoid, enflamatuvar kolit)

MHC sınıf I eksikliği	TAP1 TAP2 TAPBP B2M	OR OR OR OR	170260 170261 601962 109700	Düşük CD8, normal CD4, lenfositlerde MHC I yok	Normal	Normal	Vaskülit, piyoderma gangrenosum Sinopulmoner enfeksiyonlar, kutanöz granülomlar, β2m ilişkili proteinler MHC-I, CD1a, CD1b ve CD1c yokluğu
MHC sınıf II eksikliği grup A, B, C, D	CIITA RFXANK RFX5 RFXAP	OR OR OR OR	600005 603200 601863 601861	CD4 düşük, lenfositlerde MHC II ifadesi düşük	Normal	Düşük ya da normal	Büyüme gelişme geriliği, sinopulmoner ve gastrointestinal enfeksiyonlar, karaciğer ve safra yolları hastalıkları
IKAROS eksikliği	IKZF1	OD DN	603023	Hafıza T hücreleri yok	Hafıza B hücreleri yok	Düşük	Tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar, pnömöstitis, erken KİY başlangıcı
DOCK8 eksikliği	DOCK8	OR	243700	T hücre lenfopenisi, naif CD8 düşük, tüketilmiş CD8 ⁺ T _{EM} hücrelerinde artış, MAIT ve NKT azalma, γδ T hücrelerinde artış, proliferasyon zayıf, Treg'ler az ve fonksiyonları zayıf	Total B hücrelerinde artış, hafıza B hücrelerinde azalma, periferik B hücre toleransı zayıf	İgM düşük, İgG ve İgA normal ya da yüksek, İgE çok yüksek, antikor yanıtı zayıf	NK hücre sayısı düşük ve fonksiyonu kötü, eozinofili, tekrarlayan enfeksiyonlar, kutanöz viral, fungal ve stafylokokkal enfeksiyonlar, ağır atopik/alerjik hastalıklar, kanser diyatezi
DOCK2 eksikliği	DOCK2	OR	603122	Düşük	Normal	İgG normal ya da düşük, antikor yanıtı zayıf	Erken invaziv Herpes, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar, NK sayısı normal ancak fonksiyonu bozuk, hematopoetik ve non-hematopoetik hücrelerin interferon yanıtı kötü
Polimeraz δ eksikliği	POLD1 POLD2	OR OR	174761 600815	Düşük CD4 T hücre	B hücreleri düşük ancak olgunlaşması normal	Düşük İgG	Tekrarlayan sinopulmoner ve kutanöz enfeksiyonlar, sigiller, molluscum, kısa boy, entelektüel yetersizlik
RHOH eksikliği	RHOH	OR	602037	Normal, naif T düşük, kısıtlı repertuar, CD3 zayıf proliferasyon yanıtı	Normal	Normal	HPV enfeksiyonları, akciğer granülomları, molluscum contagiosum, lenfoma
STK4 eksikliği	STK4	OR	614866	CD4 lenfopenisi, naif T hücrelerinde azalma, T _{EM} ve T _{EMRA} hücrelerinde artış, zayıf proliferasyon	Hafıza B hücrelerinde azalma	İgM düşük, İgG, İgA ve İgE yüksek, bozuk antikor yanıtı	İntermitant nötropeni, bakteriyel, viral (HPV, EBV) ve kandidal enfeksiyonlar, lenfoproliferasyon, otoimmün sitopeniler, lenfoma, konjenital kalp hastalıkları
TCRα eksikliği	TRAC	OR	615387	Az miktarda CD3-dim TCRαβ haricinde TCRαβ yok, T hücrelerin çoğunluğu γδ, proliferasyon zayıf	Normal	Normal	Tekrarlayan viral, bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar, immün disregülasyon ve otoimmünite, ishal

LCK eksikliği	LCK	OR	615758	Düşük CD4, düşük Treg, kıstı T hücre repertuarı, zayıf TCR sinyalleşmesi	Normal	IgG ve IgA normal, IgM yüksek	Tekrarlayan enfeksiyonlar, immün disregülasyon, otoimmünite
ITK eksikliği	ITK	OR	186973	Progresif CD4 T hücre lenfopenisi, T hücre aktivasyonunda azalma	Normal	Normal ya da düşük immüno globulinler	EBV ilişkili B hücre lenfoproliferasyonu, lenfoma, immün disregülasyon
MALT1 eksikliği	MALT1	OR	615468	Sayı normal, proliferasyon zayıf	Normal	Seviyeleri normal ancak spesifik antikor yanıtı zayıf	Bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlar
CARD11 eksikliği	CADR11	OR LOF	615216	Sayı normal, naif T hücreler baskın, zayıf proliferasyon	Normal, transisyonel B hücreleri baskın	Düşük ya da yok	<i>Pneumocystis jirovecii</i> pnömonisi, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar
BCL10 eksikliği	BCL10	OR	616098	Sayı normal, hafıza T ve Treg hücreleri azalmış, antijen ve anti-CD3 proliferasyon yanıtı zayıf	Sayı normal, hafıza B ve sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücrelerinde azalma	Düşük	Tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, kandidiyazis, gastroenterit
IL-21 eksikliği	IL-21	OR	617767	Sayı normal, fonksiyon normal ya da azalmış	Düşük, hafıza B ve sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücrelerinde azalma	Ağır erken başlangıçlı kolit, tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar	
IL-21R eksikliği	IL-21R	OR	615207	Sayı normal, sitokin üretimi düşük, proliferasyon zayıf	Normal, hafıza B ve sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücrelerinde azalma	Hipogammaglobulinemi, spesifik antikor yanıtları zayıf, IgE yüksek	Tekrarlayan enfeksiyonlar, <i>Pneumocystis jirovecii</i> , <i>Cryptosporidium</i> enfeksiyonları, karaciğer hastalığı
OX40 eksikliği	TNFRSF4	OR	615593	Sayı normal, antijen spesifik hafıza CD4 düşük	Sayı normal, düşük hafıza B hücreleri	Normal	HHV8'e karşı bozuk immünite, Kaposi sarkomu
IKKB eksikliği	IKKB	OR	615592	Sayı normal, Treg ve $\gamma\delta$ T hücreleri yok, TCR aktivasyonu bozuk	Sayı normal, fonksiyon zayıf	Düşük	Tekrarlayan bakteriyel, viral, fungal ve fırsatçı enfeksiyonlar
NIK eksikliği	MAP3K14	OR	604655	Sayı normal, proliferasyon zayıf	Düşük, sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücrelerinde azalma	Düşük	NK sayısı ve fonksiyonu normal, tekrarlayan bakteriyel, viral ve <i>Cryptosporidium</i> enfeksiyonları
RelB eksikliği	RELB	OR	604758	Sayı normal, çeşitlilik az, mitojenlere karşı proliferasyon azalmış, antijenlere yanıt yok	B hücre sayılarında belirgin yükseklik	Seviyeleri normal, spesifik antikor yanıtları bozulmuş	Tekrarlayan enfeksiyonlar
RelA haploetersizliği	RELA	OD	618287	Normal ya da artmış	Normal	Normal	Kronik mukokutanöz ülserasyonlar, NFkB aktivasyonu bozuk, enflamatuvar sitokin proliferasyonunda azalma
Moesin eksikliği	MSN	XL	300988	Sayı normal, migrasyon ve proliferasyon kusuru	Düşük	Zaman içerisinde düşme	Tekrarlayan bakteriyel ve varisella enfeksiyonları, nötropeni

TFRC eksikliği	TFRC	OR	616740	Sayı normal, proliferasyon zayıf	Normal, hafıza B hücreleri düşük	Düşük	Tekrarlayan enfeksiyonlar, nötropeni, trombositopeni
c-Rel eksikliği	REL	OR	164910	Normal, hafıza CD4 düşük, proliferasyon zayıf	Düşük, çoğunluğu naif, sınıf dönüşümü yapmış hafıza B'ler düşük, proliferasyon bozuk	Düşük, spesifik antikor yanıtı kötü	Tekrarlayan bakteriyel, mikobakteriyel, salmonella ve fırsatçı enfeksiyonlar, doğal immünite kusurlu
FCHO1 eksikliği	FCHO1	OR	613437	Düşük, proliferasyon kötü	Normal	Normal	Tekrarlayan bakteriyel, mikobakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlar, lenfoproliferasyon, büyüme gelişme geriliği, aktivasyona bağlı T hücre ölümünde artış, klatrin aracılı endositoz bozuk
PAX1 eksikliği (8 hasta)	PAX1	OR	615560	Ağır T hücre lenfopenisi, düşük TREC	Normal	Normal	Omenn benzeri sendrom (eritrodermi, lenfositoz, eozinofili, ağır/tekrarlayan enfeksiyonlar), timus yok, KIT ile düzelmeyen T hücre yetersizliği, otofasioyoservikal sendrom tip 2, kulak anomalileri
ITPKB eksikliği (1 hasta)	ITPKB	OR	NA	Çok düşük T hücre	Normal	IgM ve IgA normal, IgG düşük	Büyüme gelişme geriliği, tekrarlayan bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar, pan-lökopeni, anemi, trombositopeni
SASH3 eksikliği (5 hasta)	SASH3	XL	NA	T ve NK hücre lenfopenileri	B hücre lenfopenisi	Düşük, spesifik antikor yanıtı kötü	Tekrarlayan sinopulmoner ve mukokutanöz enfeksiyonlar, refrakter otoimmün sitopeniler
MAN2B2 eksikliği (1 hasta)	MAN2B2	OR	NA	Düşük	Düşük	Düşük ya da normal	Tekrarlayan enfeksiyonlar, vaskülit, artrit, büyüme gelişme geriliği, mikrosefali, nörolojik gelişimde gecikme, konjenital glikolizasyon bozukluğu
COPG1 eksikliği (5 hasta)	COPG1	OR	NA	Düşük	Normal	Normal ancak aşı yanıtı kötü	Tekrarlayan pnömoni, viral respiratuvar enfeksiyonlar, kronik EBV, CMV viremileri, büyüme gelişme geriliği, bronşiektazi
HELIOS eksikliği	IKZF2	OD, OR	NA	Aktive T hücrelerde artış	Sayı normal, hafıza B hücrelerinde azalma	Düşük	Tekrarlayan sinopulmoner (pnömoni) enfeksiyonlar, pamukçuk, mukozal ülserler, kronik lenfadenopati, SLE, İTP, OIHA (Evan's sendromu), EBV ilişkili HLH, lenfoma
IKKα eksikliği (1 hasta)	CHUK	OR	NA	Normal	Düşük	Düşük	Tekrarlayan bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlar, sekonder lenfoid doku yokluğu, iskelet anomalileri, büyüme gelişme geriliği

AKIY/KIY spektrumu: Maternal T hücre engraftmanı olan AKIY infantlarda T hücre sayıları normal olabilir ancak normal bir şekilde iş göremeyebilir. Bu hücreler otoimmün sitopenilere ya da graft versus host hastalığına neden olabilir. AKIY'e neden olan birçok genetik hipomorfik mutasyonlar Omenn sendromuna (OS), 'leaky' AKIY ya da daha hafif KIY fenotiplerine neden olabilir. Hem OS hem de 'leaky' AKIY'de 'null' mutasyonlara bağlı AKIY'e kıyasla periferik kanda 300'ün üzerinde ya da daha az otolog T hücre ve proliferatif yanıt ile ilişkili olabilir. Tipik AKIY, OS, 'leaky' AKIY, KIY, granülomlar ile seyreden T lenfopenisi, otoimmünite ve CD4 T lenfopenisini kapsayan spektrumda RAG1/2 ve diğer AKIY-ilişkili genlerin allelik serileri bulunabilir. Tablo 7'de listelenen genlerle burada verilen genler arasında overlaplar olabilir.

Mutant genlerin total sayısı: 66. Yeni tanımlanan bağlılığın doğuştan kusurları: 8 (SLP76, PAX1, ITPKB, SASH3, MAN2B2, COPG1, IKZF2, CHUK).

AKIY: Ağır kombine immün yetersizlik, **KIY:** Kombine immün yetersizlik, **XL:** X'e bağlı, **OR:** Otozomal resesif, **OD:** Otozomal dominant, **NK:** Doğal öldürücü, **EBV:** Epstein-Barr virüs, **MHC:** Majör histokompatibilite kompleksi, **HPV:** Human papillomavirüs, **Treg:** Regülatör T hücre, **LOF:** Fonksiyon kaybettiren mutasyon, **GOF:** Fonksiyon kazandıran mutasyon, **TCR:** T hücre reseptörü, **TREC:** T hücre reseptör ekzozon halkaları, **SLE:** Sistemik lupus eritematozus, **OIHA:** Otoimmün hemolitik anemi, **İTP:** İmmün trombositopeni, **HLH:** Hemofagositik lenfhistiositoz

Tablo 2. Sendromik özellikleri olan veya ilişkili kombine immün yetersizlikler

1. Konjenital Trombositopeni ile Seyreden İmmün Yetersizlikler						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünooglobulinler
Wiskott-Aldrich sendromu (WAS LOF)	WAS	XL	300392	Sayılarında progresif azalma, anti-CD3 lenfosit yanıtı anormal	Normal sayıda	Düşük IgM ve polisakkaritlere zayıf antikor yanıtı, genellikle yüksek IgA ve IgE
WIP eksikliği	WIPF1	OR	602357	Düşük, anti-CD3 lenfosit yanıtı anormal	Normal ya da düşük	Yüksek IgE dışında normal
Arp2/3-aracılı filament dallanma kusuru	ARPC1B	OR	604223	Normal	Normal sayıda	Yüksek IgA ve IgE haricinde normal
2. Tablo 1'de Sınıflananların Dışında Kalan DNA Tamir Kusurları						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünooglobulinler
Ataksi-telenjektazi	ATM	OR	607585	Sayılarında progresif azalma, mitojenlere karşı zayıf proliferasyon yanıtı, yeni doğan TREC ve T hücre sayıları düşük olabilir	Normal	IgA, IgE ve IgG altgrupları genellikle düşük, IgM yüksek; antikor düşüklüğü değişken
Nijmegen kırılma sendromu	NBS1	OR	602667	Sayılarında progresif azalma, yeni doğan TREC ve T hücre sayıları düşük olabilir	Değişken düşüklük	IgA, IgE ve IgG altgrupları genellikle düşük, IgM yüksek; antikor düşüklüğü değişken
Bloom sendromu	BLM	OR	604610	Normal	Normal	Düşük

Küçük trombositlerin olduğu trombositopeni, egzama, tekrarlayan bakteriyel, viral enfeksiyonlar, kanlı ishal, lenfoma, otoimmün hastalıklar, IgA nefropatisi

XL-trombositopenisi olan hastalarda komplikasyonların başlangıç yaşı daha geçtir ve yaşam beklentisi daha iyidir. Ancak er ya da geç WAS'da görülen komplikasyonlar gelişmektedir.

Küçük ya da normal boyutta trombositlerin olduğu trombositopeni, tekrarlayan bakteriyel, viral enfeksiyonlar, kanlı ishal, egzama; WAS proteininin yokluğu

Normal boyutta trombositlerin olduğu hafif trombositopeni, tekrarlayan invaziv enfeksiyonlar, kolit, vaskülit, otoantikör (ANA, ANCA) pozitifliği, eozinofili; Arp2/3 filamentinin dallanması kusurlu

Ataksi, telenjektazi özellikli skleralarda, pulmoner enfeksiyonlar, lenforetiküler ve diğer maligniteler, alfa fetoproteininde artış, radyosensitivitede artış, kromozomal instabilite ve kromozomal translokasyonlar

Mikrosefali, dismorfik yüz, lenfoma ve solid tümörler, artmış radyosensitivite, kromozomal instabilite

Kısa boy, dismorfik yüz, fotosensitiv eritem, kemik iliği yetersizliği, lösemi, lenfoma, kromozomal instabilite

Sentromerik instabilite ve yüz anomalileri ile birlikte immün yetersizlik (ICF tip 1,2,3,4)	DNMT3B	OR	602900	Normal ya da azalmış, PHA yanıtı azalabilir	Hipogammaglobulinemi ya da agammaglobulinemi, Normal ya da azalmış antikor düşüklüğü değişken	Dismorfik yüz, gelişme geriliği, makroglossi, bakteriyel/firsatçı enfeksiyonlar, malabsorpsiyon, sitopeniler, maligniteler, 1, 9 ve 16. kromozomlarda multiradyal konfigürasyonlar
	ZBTB24	OR	614064	Normal ya da azalmış	Normal ya da azalmış antikor düşüklüğü	Dismorfik yüz, makroglossi, bakteriyel/firsatçı enfeksiyonlar, malabsorpsiyon, sitopeniler, maligniteler, 1, 9 ve 16. kromozomlarda multiradyal konfigürasyonlar
	CDCA7	OR	609937	Normal ya da azalmış, PHA yanıtı azalabilir	Normal ya da azalmış antikor yanıtı	Dismorfik yüz, makroglossi, bakteriyel/firsatçı enfeksiyonlar, malabsorpsiyon, sitopeniler, maligniteler, 1, 9 ve 16. kromozomlarda multiradyal konfigürasyonlar
	HELLS	OR	603946	Normal ya da azalmış	Normal ya da azalmış antikor yanıtı	Dismorfik yüz, makroglossi, bakteriyel/firsatçı enfeksiyonlar, malabsorpsiyon, sitopeniler, maligniteler, 1, 9 ve 16. kromozomlarda multiradyal konfigürasyonlar
PMS2 eksikliği	PMS2	OR	600259	Normal	Total B ve sınıf dönüşümü yapmış ve yapmamış hafıza B'lerde düşüklük	Tekrarlayan enfeksiyonlar, cafe-au-lait lekeleri, lenfoma, kolorektal karsinom, beyin tümörleri
RNF168 eksikliği (Radyosensitivite, immün yetersizlik, dismorfik özellikler, öğrenme güçlüğü sendromu - RIDDLE)	RNF168	OR	612688	Normal	Düşük IgG ya da IgA	Kısa boy, ataksi motor kontrolünde hafif bozukluk, normal zekâ seviyesinde öğrenme güçlüğü, yüzde hafif dismorfik bulgular, mikrosefali, artmış radyosensitivite
MCM4 eksikliği	MCM4	OR	602638	Normal	Normal	NK hücre sayısı ve fonksiyonlarında azalma, viral enfeksiyonlar (EBV, HSV, VZV), kısa boy, B hücreli lenfoma, adrenal yetersizlik
X'e bağlı retiküler pigmentasyon hastalığı (POLA1 eksikliği)	POLA1	XL	301220	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Hiperpigmentasyon, karakteristik yüz, akciğer ve gastrointestinal tutulum
POLE1 (Polimeraz ε altünite 1) eksikliği (FILS sendromu)	POLE1	OR	174762	Normal; azalmış T hücre proliferasyonu	Düşük hafıza B hücreleri	Düşük IgG2 ve IgM, PPS - düşük antikor yanıtı
POLE2 (polimeraz ε altünite 2) eksikliği	POLE2	OR	602670	Çok düşük	Çok düşük	Tekrarlayan enfeksiyonlar, dissemine BCG enfeksiyonları, otoimmünite (tip 1 diyabet), hipotiroidi, dismorfik yüz
Ligaz 1 eksikliği	LIG1	OR	126391	Lenfopeni, artmış γδ T hücreleri, mitojenlere azalmış yanıt	Normal	Tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, büyüme geriliği, fotosensitivite, radyosensitivite, makrositer eritrositler
NSMCE3 eksikliği	NSMCE3	OR	608243	Sayı azalmış, mitojen ve antijenlere yanıt zayıf	Normal	Normal IgG ve IgA, Ciddi akciğer hastalığı (muhtemelen viral), normal ya da artmış timik hipoplazi, kromozomal kırılma, radyosensitivite

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünglobulinler	İlişkili özellikler
ERCC6L2 (Hebo eksikliği)	ERCC6L2	OR	615667	Lenfopeni	Düşük	Normal	Dismorfik yüz, mikrosefali, kemik iliği yetersizliği
GINS1 eksikliği	GINS1	OR	610608	Düşük ya da normal	Düşük ya da normal	IGA yüksek, IgM ve IgG düşük	Nötropeni, intrauterin büyüme geriliği, NK hücreleri çok düşük
MCM10 eksikliği (1 hasta)	MCM10	OR	619313	Düşük ya da normal	Düşük	IgM ve IgA normal, IgG düşük	Ağır (ölümcül) CMV enfeksiyonu, LHL-benzeri, GINS1 ve MCM4 eksikliklerinin fenokopileri, NK hücrelerinin sayı ve fonksiyonlarında düşüklük
3. Ek konjenital Anomalili Timik Kusurlar							
DiGeorge/Velocardiofacial sendrom	22. kromozomda büyük delesyon (3Mb)(TBX1)	OD	602054	Düşük ya da normal, %5'inde yenidoğan taramasında düşük TREC ve neonatal dönemde CD3T hücreleri <1500 hücre/µl	Normal	Düşük ya da normal	Hipoparatiroidizm, konotrunkal kardiyak malformasyonlar, velopalatal yetersizlik, anormal yüz, entelektüel yetersizlik
DiGeorge/Velokardiyo-fasiyal sendrom	Bilinmiyor	Sporadik		Düşük ya da normal			
TBX1 eksikliği	TBX1	OD	602054	Düşük ya da normal, yenidoğan taramasında TREC düşük olabilir			
CHARGE sendromu	CHD7	OD	608892	Düşük ya da normal, yenidoğan taramasında TREC düşük olabilir, PHA yanıtı azalabilir	Normal	Düşük ya da normal	Gözde koloboma, kardiyak anomaliler, koanal atrezi, entelektüel yetersizlik, genital ve kulak anomalileri, merkezi sinir sistemi malformasyonları, bazıları AKIY-benzeri
	SEMA3E	OD	608166				
Winged helix nude FOXN1 eksikliği	FOXN1	OR	601705	Çok düşük	Normal	Azalmış	Ağır enfeksiyonlar, anormal timik epitel, immün yetersizlik, konjenital alopesi, tırnak distrofileri, nöral tüp defekti
	FOXN1 haplo yetersizliği	FOXN1	OD	Doğumda ağır T hücre lenfopenisi, erişkin dönemde normalleşir	Düşük ya da normal	Değerlendirilmemiş	Tekrarlayan viral ve bakteriyel solunum yolu enfeksiyonları, deri tutulumu (egzama, dermatit), tırnak distrofisi
Kromozom 10p13-p14 delesyon sendromu (10p13-p14DS)	Del 10p13-p14	OD	601362	Normal, nadiren lenfopeni ve mitojen ve antijenlere karşı azalmış yanıt; hipoplastik timus olabilir	Normal	Normal	Hipoparatiroidizm, böbrek hastalıkları, sağrılık, büyüme geriliği, dismorfik yüz, kardiyak defekt ve tekrarlayan enfeksiyonlar görülebilir
	Kromozom 11q23del	OD	147791	Lenfopeni, düşük NK hücreleri	B ve sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücrelerinde azalma	Hipogammaglobulinemi ve zayıf antikor yanıtı	Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, multipl sigiller, dismorfik yüz, büyüme geriliği

4. İmmün-osseöz Displaziler

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünglobulinler	İlişkili özellikler
Kıkırdak saç hipoplazisi (CHH)	RMRP	OR	157660	Ciddi düşük (AKİY) ile normal arasında değişken, bozulmuş lenfosit proliferasyonu	Normal	Düşük ya da normal, antikor düşüklüğü değişken	Metafizyal dizostozlu kısa-uzuvlu cücelik, seyrek saç, kemik iliği yetersizliği, otoimmünite, lenfoma ve diğer kanser türlerine yatkınlık, bozulmuş spermatogenez, bağırsakta nöronal displazi
Schimke immün-osseöz displazi	SMARCAL1	OR	606622	Azalmış	Normal	Normal	Kısa boy, spondiloeifizyal dizostoz, intrauterin büyüme geriliği, nefropati, bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlar, kemik iliği yetersizliği, AKİY gibi prezante olabilir
MYSM1 eksikliği	MYSM1	OR	612176	T hücre lenfopenisi, naif T hücrelerinde azalma ve NK hücreleri düşük	B hücre yetersizliği	Hipogammaglobulinemi	Kısa boy, tekrarlayan enfeksiyonlar, konjenital kemik iliği yetersizliği, miyelodisplazi, B hücrelerini ve granülositleri etkileyen immün yetersizlik, iskelet anomalleri, katarakt, gelişme geriliği
MOPD1 eksikliği (Rofman sendromu)	RNU4ATAC	OR	601426	NK hücre fonksiyonlarında azalma	Total ve hafız B hücrelerde azalma	Hipogammaglobulinemi, spesifik antikorlarda değişken düşüklük	Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar, lenfadenopati, spondiloeifizyal displazi, aşırı intrauterine büyüme geriliği, retinal distrofi, dismorfik yüz; mikrosefali ile birlikte olabilir, kısa boy
Nörolojik gelişim kusurları olan immünoskeletal displazi (EXTL3 eksikliği)	EXTL3	OR	617425	Azalmış	Normal	Düşük ya da normal	Kısa boy, servikal spinal stenozis, nörolojik gelişim kusuru, eozinofili, erken infantil dönemde mortal olabilir

5. Hiper IgE Sendromları (HIES)

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünglobulinler	İlişkili özellikler
OD-HIES STAT3 eksikliği (Job sendromu)	STAT3	OD LOF (dominant negatif)	147060	Total T normal, Th17, Tfh, MAIT ve NKT hücrelerinde azalma, Treg hücreler artabilir, STAT3-aktif edici sitokinlere bozulmuş yanıt	Normal, hafıza B hücrelerinde azalma, BAFF ifadesinde artma, STAT3-aktif edici sitokinlere bozulmuş yanıt	Çok yüksek IgE, spesifik antikor yanıtında azalma	Karakteristik yüz özellikleri (geniş burun kökü), <i>S. aureus</i> ilişkili bakteriyel enfeksiyonlar (çiban, pulmoner abse, pnömatozel), pulmoner Aspergillozis, <i>Pneumocystis jirovecii</i> , egzama, mukokutanöz kandidiyazis, hiperekstansibil eklem, osteoporozis ve kemik kırıkları, skolyoz, primer dışerde retansiyon, koroner ve serebral anevrizmalar
IL-6 reseptör eksikliği	IL-6R	OR	147880	Normal ya da artmış, mitojenlere yanıt normal	Total ve hafıza B hücreler normal, sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücreler düşük	Normal/düşük IgM, IgG ve IgA, çok yüksek IgE, spesifik antikor yanıtı düşük	Tekrarlayan piyogenik enfeksiyonlar, soğuk abseler, IL-6 seviyesi yüksek

IL-6 sinyal dönüştürücü (IL6ST) eksikliği (kısmi)	IL-6ST	OR	618523	TH17 hücreleri azalmış	Sınıf dönüşümü yapmış ve yapmamış hafıza B hücreler düşük	Yüksek IgE, spesifik antikor üretimi etkilenimi değişken	Bakteriyel enfeksiyonlar, çiban, egzama, pulmoner abseler, pnömotal, kemik kırıkları, skolyoz, primer dışerde retansiyon, kraniosinostoz
IL-6ST eksikliği (kısmi) (12 hasta)	IL-6ST	OD	619752	Normal, naif ve Th ₂ artmış	Total B hücreler normal, hafıza B hücreler azalmış	Yüksek IgE, normal IgM, IgG, IgA	Dermatit/egzama, eozinofili, tekrarlayan deri enfeksiyonları, pnömoni, bronşiektazi, ağır sekonder pulmoner aspergillozis, pnömotoseller, bağ doku kusurları (skolyoz, kırıklar, dış retansiyonu). IL-6R ve IL11-R eksikliklerinin fenokopileri (bu sitokinlere karşı yantısızlığa bağlı)
IL-6ST eksikliği (tam) (6 hasta)	IL-6ST	OR	619751	Etkilenen bireylerin çoğunluğu intrauterin ya da neonatal dönemde ölmektedir.			Ölümcül Stuve-Wiedemann-benzeri sendrom, iskelet displazileri, osteoporoz, hiperekstansibilite, akciğer fonksiyonlarında bozulma, böbrek anomalileri, trombositopeni, dermatit, egzama, bozulmuş akut faz yanıtı, IL-6 sitokin ailesine karşı tam yantısızlık
ZNF341 eksikliği OR-HIES	ZNF341	OR	618282	Th17 ve NK hücrelerinde azalma	Normal, hafıza B hücrelerinde azalma, STAT3-aktive eden sitokinelere yetersiz yanıt	IgE ve IgG yüksek, spesifik antikor üretiminde azalma	OD-HIES'in fenokopisi; yüzde hafif dismorfizm, erken başlangıçlı egzama, mukokutanöz kandidiyazis, bakteriyel deri enfeksiyonları, abseler, tekrarlayan bakteriyel solunum yolu enfeksiyonları (S. aureus), akciğer abseleri ve pnömotoseller, hiperekstansibilite, kemik kırıkları ve primer dışerde retansiyon
ERBB2IP	ERBB2IP	OD	606944	Treg hücrelerde artma	Normal	Orta seviyede yüksek IgE	Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, S. aureus enfeksiyonlarına yatkınlık, egzama, hiperekstansibilite, skolyoz, bazı hastalarda arteriyel dilatasyon
Loeys-Dietz sendromu (TGFB1 eksikliği)	TGFB1	OD	609192	Normal	Normal	Yüksek IgE	Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, egzama, besin allerjileri, hiperekstansibilite, skolyoz, primer dışerde retansiyon, aort anevrizması
Comel-Netherton sendromu	SPINK5	OR	605010	Normal	Sınıf dönüşümü yapmış ve yapmamış hafıza B hücreleri düşük	IgE ve IgA yüksek, antikorlarda değişken derecede düşük	Kojenital iktiyozis, bambu saç, atopik diyatez, bakteriyel enfeksiyonlar, büyüme geriliği
PGM3 eksikliği	PGM3	OR	172100	CD8 ve CD4 T hücreleri azalabilir	B ve hafıza B hücreleri düşük	IgG ve IgA'da artış, çoğunlukla yüksek IgE, eozinofili	Ağır atopi, otoimmünite, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, iskelet anomalileri/displaziler, kısa boy, brakidaktili, dismorfik yüz, entelektüel yetersizlik, bilişsel bozukluk, bazı hastalarda merkezi sinir sistemi myelinizasyonunda gecikme
CARD11 eksikliği (heterozigot DN)	CARD11	OD LOF	617638	Normal ancak T hücre aktivasyon ve proliferasyonu bozuk; Th2 yönünde eğilim	Normal ya da düşük	Yüksek IgE, spesifik antikor üretimi zayıf, hem NF-κB hem de mTORC1 yollarının aktivasyonu bozuk	Değişken derecede atopi, egzama, besin allerjileri, eozinofili, kutanöz viral enfeksiyonlar, tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, lenfoma, KİY

6. Vitamin B12 ve Folat Metabolizması Kusurları							
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünglobulinler	İlişkili özellikler
Transkobalamin 2 eksikliği	TCN2	OR	613441	Normal	Değişken	Düşük	Megaloblastik anemi, pansitopeni, eğer B12 eksikliği uzun süre tedavisiz bırakılırsa entelektüel yetersizlik ile sonuçlanabilir
Herediter folat malabsorpsiyonuna neden olan SLC46A1/PCFT eksikliği	SLC46A1	OR	229050	Sayı ve aktivasyon profili değişken	Değişken	Düşük	Megaloblastik anemi, büyüme gelişme geriliği, eğer B12 eksikliği uzun süre tedavisiz bırakılırsa entelektüel yetersizlik ile sonuçlanabilir
Metilen-tetrahidrofolat dehidrogenaz 1 (MTHFD1) eksikliği	MTHFD1	OR	172460	Timik output düşük, <i>in vitro</i> proliferasyon normal	Düşük	Düşük, konjuge polisakkarid antijenlerine antikor yanıtı zayıf	Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar, <i>Pneumocystis jirovecii</i> , megaloblastik anemi, büyüme gelişme geriliği, nötropeni, nöbetler, entelektüel yetersizlik, folat yanıtı
7. Anhidrotik Ektodermal Displazi (EDA-ID)							
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünglobulinler	İlişkili özellikler
NEMO/IKBKG eksikliğine bağlı EDA-ID (ektodermal displazi, immün yetersizlik)	IKBKG	XL	300248	Normal ya da düşük, TCR aktivasyonu bozuk	Normal, hafıza B ve sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücreleri düşük	Düşük, bazılarında IgA ve IgM artmış, spesifik antikor yanıtları zayıf, polisakkarid antijenlere antikor yanıtı yok	Anhidrotik ektodermal displazi (bazılarında), çeşitli enfeksiyonlar (bakteriyel, mikobakteriyel, viral, fungal), kolit, konikal dişler, ciltte, saçlarda ve dişlerde değişken defektler, monosit disfonksiyonu
IKBA GOF - bağlı EDA-ID	NFKBIA	OD GOF	164008	Total sayıları normal, TCR aktivasyonu bozuk	Normal, BCR aktivasyonu bozuk, hafıza B ve sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücreleri düşük	IgG ve IgA düşük, IgM yüksek, spesifik antikor yanıtı kötü, polisakkarid antijenlere antikor yanıtı yok	Anhidrotik ektodermal displazi, çeşitli enfeksiyonlar (bakteriyel, mikobakteriyel, viral, fungal), kolit, ciltte, saçlarda ve dişlerde değişken defektler, T hücre ve monosit disfonksiyonu
IKKB GOF - bağlı EDA-ID	IKKB	OD GOF	618204	Düşük, TCR aktivasyonu bozuk	Sayı normal, fonksiyon kötü	Düşük	Tekrarlayan bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlar, değişken ektodermal bozukluklar
8. Kalsiyum Kanal Bozuklukları							
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünglobulinler	İlişkili özellikler
ORAI-1 eksikliği	ORAI1	OR	610277	Normal, TCR aracılı aktivasyon bozuk	Normal	Normal	Otoimmünite, anhidrotik ektodermal displazi, ilerleyici olmayan miyopati
STIM1 eksikliği	STIM1	OR	605921	T hücre sayısında hafif düşüklük	Normal	Düşük	Daha geç başlangıçlı, kronik ishal, pnömöni dahil tekrarlayan alt solunum yolu enfeksiyonları

9. Diğer Bozukluklar

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	İmmünglobulinler	İlişkili özellikler
Pürin nükleozid fosforilaz (PNP) eksikliği	PNP	OR	164050	İlerleyici azalma	Normal	Normal ya da düşük	Otoimmün hemolitik anemi, nörolojik bozukluk
Multipl intestinal atreziler ile birlikte immün yetersizlik	TTC7A	OR	609332	Değişken, ancak bazen yeni doğan taramasında TREC yok ya da düşük, doğumda AKİY fenotipi olabilir	Normal ya da düşük	IgG, IgM ve IgA belirgin düşük	Bakteriyel (sepsis), fungal ve viral enfeksiyonlar, multipl intestinal atreziler, genellikle intrauterin polihidroamnios ile birlikte ve erken ölümler
Tricho-Hepato-Enterik Sendrom (THES)	TTC37	OR	222470	İFN- γ üretimi bozuk	Değişken derecede düşük sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücreleri	Hipogammaglobulinemi, antikor yanıtı düşük olabilir	Sinoplimer enfeksiyonlar, intrauterin büyüme geriliği, dismorfik yüz, yumuşak saç, erken başlangıçlı dirençli ishal, karaciğer sirozu, trombosit anomalileri
İmmün yetersizlik ile birlikte hepatik veno-oklüzif hastalık (VODI)	SP110	OR	604457	Normal, hafıza T hücrelerinde azalma	Normal, hafıza B hücrelerinde azalma	IgG, IgA, IgM düşük, germinal merkez ve doku plazma hücreleri yok	Hepatik veno-oklüzif hastalık, <i>Pneumocystis jirovecii</i> pnömonisine yakınlık, CMV ve candida enfeksiyonları, trombositopeni, hepatosplenomegali, serebrospinal lökdistrofi
BCL11B eksikliği	BCL11B	OD	617237	Düşük, zayıf proliferasyon	Normal	Normal	Konjenital anomaliler, neonatal dışlar, dismorfik yüz, korpus kallosum yokluğu, nörobilijel bozukluklar
EPG5 eksikliği (Vici sendromu)	EPG5	OR	615068	CD4 ⁺ hücrelerde belirgin azalma	Bozuk	Düşük (özellikle IgG2)	Korpus kallosum agenezisi, katarakt, kardiyomiopati, deride hipopigmentasyon, entelektüel yetersizlik, mikrosefali, tekrarlayan enfeksiyonlar, kronik mukokutanöz kandidiyazis
HOIL1 eksikliği	RBCK1	OR	610924	Normal	Normal, Hafıza B hücreleri düşük	Polisakkaridlere antikor yanıtı zayıf	Bakteriyel enfeksiyonlar, otoenfeksiyon, amilopektinosis
HOIP eksikliği	RNF31	OR	612487	Normal	Normal, Hafıza B hücreleri düşük	Düşük	Bakteriyel enfeksiyonlar, otoenfeksiyon, amilopektinosis, lenfanjiyektazi
Hennekam-lenfanjiyektazi-lenfödem sendromu	CCBE1	OR	612753	Düşük/değişken	Düşük/değişken	Düşük	Lenfanjiyektazi, lenfödem, fasiyel anomaliler ve diğer dismorfik özellikler
Nükleer faktör eritroid 2 benzeri 2 (NFE2L2) geninde aktive edici de nova mutasyonlar	NFE2L2	OD	617744	Bildirilmedi	Sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücrelerinde azalma	Hipogammaglobulinemi, antikor yanıtında azalma	Tekrarlayan respiratuvar ve kutanöz enfeksiyonlar, büyüme gelişme geriliği, beyaz madde serebral lezyonlar, homosistein seviyesinde artma, stres yanıt genlerinin ifadesinde artma
STAT5b eksikliği	STAT5B	OR	245590	Orta derecede düşük, Treg sayı ve fonksiyonlarında azalma	Normal	Hipogammaglobulinemi, yüksek IgE	Büyüme hormonuna yanıtız cücelik, dismorfik özellikler, egzama, lenfositik interstisyel pnömonitis, otoimmünite

STAT5b eksikliği	STAT5B	OD (dominant negatif)	604260	Normal	Normal	Yüksek IgE	Büyüme geriliği, egzama (OR STAT5B eksikliğine göre immün kusur yok)
Kabuki sendromu (Tip 1 ve 2)	KMT2D KDM6A	OD XL (kadınlar etkilenebilir)	602113 300128	Normal	Normal	Düşük IgA, bazen düşük IgG	Tipik yüz anomalileri, yarık ya da yüksek damak, iskelet anomalileri, kısa boy, entelektüel yetersizlik, konjenital kalp defektleri, %50 hastada tekrarlayan enfeksiyonlar (otitis media, pnömoni), otoimmünite olabilir
KMT2A eksikliği (Wiedeman-Steiner sendromu)	KMT2A	OD	605130	Normal	Simif dönüşümü yapmış ve yapmamış hafıza B hücrelerinde azalma	Hipogammaglobulinemi, antikor yanıtlarında azalma	Respiratuvar enfeksiyonlar, kısa boy, hipertolerizm, tüylü dirsekler, gelişme geriliği, entelektüel yetersizlik
DIAPH1 eksikliği (7 hasta)	DIAPH1	OR	616632	Naif T hücrelerinde azalma	Hafıza B hücrelerinde azalma	Düşük IgM, normal IgG	Nöbetler, kortikal körlük, mikrosefali sendromu (SCBMS), tekrarlayan bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlar, B hücreli lenfoma (3/7)
AIOLOS eksikliği (7 hasta)	IKZF3	OD	619437	Normal	Düşük, gelişim bozukluğu	Çok düşük	EBV duyarlılığı, tekrarlayan sinoplomoner enfeksiyonlar, <i>Pneumocystis jirovecii</i> , siğiller (HPV), <i>M. avium</i> , B hücreli malignite
CD28 eksikliği (3 hasta)	Cd28	OR	NA	Normal	Normal	Normal	Sadece HPV enfeksiyonlarına duyarlılık

Tablo 2'deki **mutant genlerin toplam sayısı**: 69. **Yeni tanımlanmış bağışıklığın doğuştan kusurları**: 7 (MCM10, OR ve OD IL6ST, CRACR2A, DIAPH1, IKZF3, CD28). DiGeorge sendromunun bilinmeyen sebebi ve CHARGE sendromunun bilinmeyen sebebi, 10p13-14 delesyonundaki bilinmeyen genler fenotipten sorumludur.

XL: X'e bağlı, **LOF**: Fonksiyon kaybettiren mutasyon, **GOF**: Fonksiyon kazandıran mutasyon, **OR**: Otozomal resesif, **OD**: Otozomal dominant, **NK**: Doğal öldürücü, **EBV**: Epstein-Barr virüsü, **CMV**: Cytomegalo virüsü, **HSV**: Herpes simpleks virüsü, **VZV**: Varisella zoster virüsü, **HPV**: Human papilloma virüsü, **KİY**: Kombine immün yetersizlik, **TCR**: T hücre reseptörü, **BCR**: B hücre reseptörü, **EDA**: Ectodermal displazi anhidrotik, **TREC**: T hücre reseptör eksizyon hal, **PHA**: Fitohemaglutinin

Tablo 3. Antikor eksikliği baskın primer immün yetersizlikler

1. B Hücre Yokluğu ya da B Hücrelerinde Ciddi Düşme ile Tüm Serum İmmünglobulin İzotiplerinde Azalma, Ağammaglobulinemi				
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	İmmünglobulinler
BTK eksikliği, X'e bağlı agammaglobulinem (XLA)	BTK	XL	300300	Hastalığın büyük kısmında tüm izotipler düşük, bazı hastalarda saptanabilecek seviyelerde immünglobulinler
μ ağır zincir eksikliği	IGHM	OR	147020	
λ5 eksikliği	IGLL1	OR	146770	
Igα eksikliği	CD79A	OR	112205	
Igβ eksikliği	CD79B	OR	112205	
BLNK eksikliği	BLNK	OR	604515	
p110δ eksikliği	PIK3CD	OR	602839	
p85 eksikliği	PIK3R1	OR	615214	
E47 transkripsiyon faktör eksikliği	TCF3	OD	616941	
	TCF3	OR	147141	Tüm izotipler düşük
SLC39A7 (ZIP7) eksikliği	SLC39A7	OR	601416	
Hoffman sendromu/TOP2B eksikliği	TOP2B	OD	126431	
FNIP1 eksikliği (6 hasta)	FNIP1	OR	619705	
PU1 eksikliği	SPI1	OD	619707	
2. Normal ya da Düşük B Hücre Sayısı ile En Az İki Serum İmmünglobulin İzotipinde Ciddi Azalma, COVID Fenotipi				
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	İmmünglobulinler
Spesifik gen kusuru olmayan yaygın değişken immün yetersizlik (COVID)	Bilinmiyor	Değişken		Düşük IgG ve düşük IgA ve/veya IgM
Aktive p110δ sendromu (APDS)	PIK3CD GOF	OD	615513 (APDS1)	Normal ya da yüksek IgM, düşük IgG ve IgA
	PIK3R1		615005 (APDS2)	
PTEN eksikliği (LOF)	PTEN	OD	158350	Normal ya da düşük
CD19 eksikliği	CD19	OR	107265	Düşük IgG ve IgA ve/veya IgM
CD81 eksikliği	CD81	OR	186845	Düşük IgG, düşük ya da normal IgA ve IgM

İlişkili özellikler

Ağır bakteriyel enfeksiyonlar, normal sayıda pro-B hücreleri

Ağır bakteriyel enfeksiyonlar, normal sayıda pro-B hücreleri

Ağır bakteriyel enfeksiyonlar, otoimmün komplikasyonlar (IBD)

Ağır bakteriyel enfeksiyonlar, sitopeniler, pro-B hücreleri azalmış ya da yok

Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar

Ağır tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar, büyüme gelişme geriliği

Erken başlangıçlı enfeksiyonlar, bülül dermatozlar, büyüme gelişme geriliği, trombositopeni

Tekrarlayan enfeksiyonlar, dismorfik yüz, ekstremitelerde anomalileri

Erken başlangıçlı tekrarlayan enfeksiyonlar, bronşektazi, fibrozis, interstisyel pnömoni, nötropeni (ciddi ya da intermitant), Crohn hastalığı (1 hasta), konjenital kalp defektleri, musküler hipotoni, gelişme geriliği

Kapsüllü bakterilerle sinopulmoner enfeksiyonlar, viral enfeksiyonlar

İlişkili özellikler

Klinik fenotipler değişkendir, çoğunluğunda tekrarlayan enfeksiyonlar, bazılarında poliklonal lenfoproliferasyon, otoimmün sitopeniler ve/veya granülomatöz hastalık

Ağır bakteriyel enfeksiyonlar, hafıza B hücrelerinde azalma, transisyonel B hücrelerinde artış, EBV ve/veya CMV viremi, lenfadenopati/splenomegali, otoimmünite, lenfoproliferasyon, lenfoma

Ağır bakteriyel enfeksiyonlar, hafıza B hücrelerinde azalma, transisyonel B hücrelerinde artış, lenfadenopati/splenomegali, lenfoproliferasyon, lenfoma, gelişme geriliği

Tekrarlayan enfeksiyonlar, lenfoproliferasyon, otoimmünite, gelişme geriliği

Tekrarlayan enfeksiyonlar, glomerülonefrit gelişebilir (CD81 mutasyonu CD19 ekspresyonunu ortadan kaldırır, dolayısıyla CD19 mutasyonlarının fenokopyasıdır)

CD20 eksikliği	CD20	OR	112210	Düşük IgG, normal ya da yüksek IgM ve IgA	Tekrarlayan enfeksiyonlar
CD21 eksikliği	CD21	OR	120650	Düşük IgG, anti-pnömonokok yanıtı zayıf	Tekrarlayan enfeksiyonlar
TACI eksikliği*	TNFRSF13B	OR ya da OD	604907	Düşük IgG ve IgA ve/veya IgM	Değişken klinik ve monoallelik varyantlar için değişken penetrans
BAFF reseptör eksikliği	TNFRSF13C	OR	606269	Düşük IgG ve IgM	Değişken klinik
TWEAK eksikliği	TNFSF12	OD	602695	Düşük IgM ve IgA, anti-pnömonokok antikor yanıtı yok	Prnömoni, bakteriyel enfeksiyonlar, sigiller, trombositopeni, nötrojeni
TRNT1 eksikliği	TRNT1	OR	612907	B hücre eksikliği ve hipogammaglobulinemi	Konjenital sideroblastik anemi, sağrırlık, gelişme geriliği
NFKB1 eksikliği	NFKB1	OD	164011	Normal ya da düşük IgG, IgA, IgM, düşük ya da normal B hücreleri, düşük hafıza B hücreleri	Tekrarlayan sinoplümner enfeksiyonlar, KOAH, EBV proliferasyonu, otoimmün sitopeniler, alopesi, otoimmün tiroidit
NFKB2 eksikliği	NFKB2	OD	615577	Düşük IgG, IgA ve IgM, düşük B hücre sayısı	Tekrarlayan sinoplümner enfeksiyonlar, alopesi, endokrinopatiler
İKAROS eksikliği	İKZF1	OD (haplo yetersizlik)	603023	Düşük IgG, IgA ve IgM, düşük ya da normal B hücre sayısı, B hücre ve Ig seviyeleri yaşla azalır	Pro-B hücrelerinde azalma, tekrarlayan sinoplümner enfeksiyonlar, ALL riskinde artma, otoimmünite, CVID fenotipi
IRF2BP2 eksikliği	IRF2BP2	OD	615332	Hipogammaglobulinemi, IgA yokluğu	Tekrarlayan enfeksiyonlar, otoimmünite ve inflamatuvar hastalık
ATP6AP1 eksikliği	ATP6AP1	XL	300972	Değişken	Hepatopati, lökopeni, düşük bakır seviyesi
ARHGEF1 eksikliği	ARHGEF1	OR	618459	Hipogammaglobulinemi	Tekrarlayan enfeksiyonlar, bronşiektazi
SH3KBP1 (CIN85) eksikliği	SH3KBP1	XL	300310	IgG ve IgM eksikliği, antikor kaybı	Tekrarlayan enfeksiyonlar
SEC61A1 eksikliği	SEC61A1	OD	609213	Hipogammaglobulinemi	Ağır tekrarlayan respiratuvar enfeksiyonlar
RAC2 eksikliği	RAC2	OR	602049	Düşük IgG, IgA ve IgM, düşük ya da normal B hücreleri, kötü aşı yanıtı	Tekrarlayan sinoplümner enfeksiyonlar, selektif IgA eksikliği, poststreptokokkal glomerülo nefrit, ürtiker
Mannosil-oligosakkarid glukosidaz eksikliği	MOGS	OR	601336	Düşük IgG, IgA ve IgM, artmış B hücreleri, kötü aşı yanıtı	Bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, ağır nörolojik hastalık, ayrıca konjenital glikolizasyon bozukluğu tip IIb (CDG-IIb)
PIK3CG eksikliği (2 hasta)	PIK3CG	OR	619802	Hipogammaglobulinemi, hafıza B hücrelerinde azalma	Tekrarlayan enfeksiyonlar, sitopeni/lenfopeni, eosinofli, splenomegali, lenfadenopati, HLH-benzeri
BOB1 eksikliği (1 hasta)	POU2AF1	OR	NA	Agammaglobulinemi, hafıza B hücrelerinde azalma	Tekrarlayan respiratuvar enfeksiyonlar, merkezi sinir sisteminin ilerleyici tetraparaziye neden olan kronik viral enfeksiyonu gelişebilir
3. Normal/yüksek IgM ve Normal B Hücre Sayısı ile Serum IgG ve IgA Seviyelerinde Ciddi Azalma, Hiper IgM ilişkili özellikler					
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	İmmünoglobulinler	ilişkili özellikler
AID eksikliği	AICDA	OR	605258	Düşük IgG ve IgA, yüksek IgM, normal hafıza B hücreleri ancak somatik hipermutasyon yok	Bakteriyel enfeksiyonlar, büyük lenf nodları ve germinal merkezler, otoimmünite
UNG eksikliği	UNG	OR	191525	IgG yok ya da düşük, IgA saptanamaz, IgM yüksek, sağlam somatik hipermutasyonlu normal hafıza B hücreleri	Bakteriyel enfeksiyonlar, büyük lenf nodları ve germinal merkezler. Mutasyonlar tipik olarak nükleer eksoport sinyalinde lokalizedir.
INO80 eksikliği	INO80	OR	610169	Düşük IgG ve IgA, yüksek IgM	Büyük lenf nodları ve germinal merkezler
		OR		Düşük IgG ve IgA, yüksek IgM	Ağır bakteriyel enfeksiyonlar

MSH6 eksikliği	MSH6	OR	600678	Değişken IgG, yüksek IgM, normal B hücreleri, düşük sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücreleri, Ig sınıf dönüşüm rekombinasyon ve somatik hipermutasyon kusurları	Ailede ya da kişide kanser öyküsü
CTNBL1 eksikliği (1 hasta)	CTNBL1	OR	NA	Düşük hafıza B hücreleri, Ig sınıf dönüşüm rekombinasyon ve somatik hipermutasyon kusurları, ilerleyici hipogammaglobulinemi	CVID, otoimmün sitopeniler, tekrarlayan enfeksiyonlar, hiperplastik germinal merkez
APRIL eksikliği (1 hasta)	TNFSF13	OR	NA	Normal total B hücre sayısı, düşük hafıza B hücreleri, hipogammaglobulinemi	CVID, kronik fakat hafif enfeksiyonlar, alopesi areata

4. Genellikle Normal B Hücre Sayısı ile İzotip, Hafif Zincir ya da Fonksiyonel Yetersizlikler

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	İmmüno globulinler	İlişkili özellikler
Ig ağır zincir mutasyonları ve delesyonları	14q32'de mutasyon ya da kromozomal delesyon	OR		IgG bir ya da daha fazla subgrubu ve/veya IgA düşük, IgE olmayabilir	Asemptomatik olabilir
Kappa zincir eksikliği	IGKC	OR	147200	Tüm Ig'lerde lambda hafif zinciri var	Asemptomatik
izole IgG subgrup eksikliği	Bilinmiyor	?		IgG subgruplarının bir ya da daha fazlası düşük	Genellikle asemptomatik, az bir kısmında kötü antikor yanıt ve tekrarlayan viral/bakteriyel enfeksiyonlar görülebilir
IgA eksikliği ile birlikte IgG subgrup eksikliği	Bilinmiyor	?		Düşük IgA ve IgG subgruplarının bir ya da daha fazlası	Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar, asemptomatik olabilir
Selektif IgA eksikliği	Bilinmiyor	?		IgA yok, diğer izotipler normal, subgruplar ve spesifik antikor yanıtları normal	Asemptomatik olabilir, bakteriyel enfeksiyonlar, otoimmünite hafif artmış
Normal Ig ve B hücre seviyeleri ile seyreden spesifik antikor eksiklikleri	Bilinmiyor	?		Normal	Spesifik antijene azalmış antikor üretme yanıtı
Süt çocuğunun geçici hipogammaglobulinemisi	Bilinmiyor	?		Düşük IgG ve IgA	Aşı yanıtı normal, genellikle ağır enfeksiyonlar görülmez
CARD11 GOF	CARD11	OD GOF	616452	Devamlı NF-κB aktivasyonuna bağlı poliklonal B hücre lenfositozu	Splenomegali, lenfadenopati, kötü aşı yanıtı
Selektif IgM eksikliği	Bilinmiyor	?		Serumda IgM yok	Pnömonokokkal/bakteriyel

Yaygın değişken immün yetersizlik (CVID) farklı genetik defektlere ve/veya çevresel faktörlere bağlı birçok klinik ve laboratuvar fenotipi kapsamaktadır. Bazı genetik kusurun bilinmediği CVID hastalarında B hücre sayısı belirgin düşüktür ve hipogammaglobulinemi vardır. Sebep olan varyantın saptanması tedavinin belirlenmesinde yardımcı olabilir. Bu tablodaki monogenik sebeplere ek olarak XLP (Tablo 4), WHIM sendromu (Tablo 6), ICF (Tablo 2), VODI (Tablo 2), immün yetersizlikle timoma (Good sendromu) ya da miyelodisplazi hastalarının küçük bir kısmı, tekrarlayan enfeksiyonlar, hipogammaglobulinemi ve normal ya da düşük B hücre sayıları nedeniyle ilk defa bir immünolog tarafından görülmektedir.

Tablo 3'deki **mutant genlerin toplam sayısı: 45. Yeni tanımlanmış doğuştan bağışıklık kusurları: 6** (FNIPI1, SP11, PIK3CG, POU2AF1, CTNBL1, TNSRSF13)

*TNFRSF13B heterozigot varyantları sağlıklı bireylerde saptanmıştır. Bu varyantlar, hastalığa sebep olmaktan ziyade hastalık modifiye edici olabilir.

OR: Otozomal resesif, **OD:** Otozomal dominant, **XL:** X'e bağlı, **LOF:** Fonksiyon kazandıran, **GOF:** Fonksiyon kaybettiren, **EBV:** Epstein-Barr virüsü, **CMV:** Cytomegalo virüs, **KOAH:** Kronik obstrüktif akciğer hastalığı

Tablo 4. İmmün disregülasyon hastalıkları

1. Ailevi Hemofagositik Lenfhistiyositoz (FHL sendromları)							
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Dolaşımdaki T hücreleri	Dolaşımdaki B hücreleri	Fonksiyonel bozukluk	İlişkili özellikler
Perforin eksikliği (FHL2)	PRF1	OR	170280	Aktive T hücrelerinde artış	Normal	NK hücreleri azalmış ya da yok, CTL aktivitesi (sitotoksiste) azalmış ya da yok	Ateş, HSM, HLH, sitopeniler
UNC13D/Munc13-4 eksikliği (FHL3)	UNC13D	OR	608897			NK hücreleri azalmış ya da yok, CTL aktivitesi	
Syntaxin 11 eksikliği (FHL4)	STX11	OR	605014	Aktive T hücrelerinde artış	Normal	(sitotoksiste ve/veya degranülasyon) azalmış ya da yok	Ateş, HSM, HLH, sitopeniler
STXBP2/Munc18-2 eksikliği (FHL5)	STXBP2	OR ya da OD	601717				
FAAP24 eksikliği	FAAP24	OR	610884	Aktive T hücrelerinde artış	Normal	B hücreleri ile geçen otolog EBV öldürülemez, normal NK fonksiyonları	EBV ilişkili lenfoproliferatif hastalık
SLC7A7 eksikliği	SLC7A7	OR	222700	Normal	Normal	Makrofajların hiper-enflamatuvar yanıtı, normal NK fonksiyonları	Lysinürik protein intoleransı, kanamaya yatkınlık, alveolar proteinosis
RHOG eksikliği (1 hasta)	RHOG	OR	NA	Normal	Hafif azalmış	CTL ve NK sitotoksitesi bozuk	HLH (hemofagositöz, HSM, ateş, sitopeniler, düşük hemoglobin, yüksek trigliserid, yüksek ferritin, sCD25)
2. Hipopigmentasyon ile Seyreden FHL Sendromları							
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Dolaşımdaki T hücreleri	Dolaşımdaki B hücreleri	Fonksiyonel bozukluk	İlişkili özellikler
Chediak-Higashi sendromu	LYST	OR	606897	Aktive T hücrelerinde artış	Normal	CTL ve NK aktivitesinde (sitotoksiste ve/veya degranülasyon) azalma	Kısmi albinizm, tekrarlayan enfeksiyonlar, ateş, HSM, HLH, dev lizozomlar, nötropeni, sitopeniler, kanamaya yatkınlık, ilerleyici nörolojik disfonksiyon
Griselli Sendromu, tip 2	RAB27A	OR	603868	Normal	Normal	CTL ve NK aktivitesinde (sitotoksiste ve/veya degranülasyon) azalma	Kısmi albinizm, ateş, HSM, HLH, sitopeniler
Hermansky-Pudlak sendromu, tip 2	AP3B1	OR	603401	Normal	Normal	CTL ve NK aktivitesinde (sitotoksiste ve/veya degranülasyon) azalma	Kısmi albinizm, tekrarlayan enfeksiyonlar, pulmoner fibrosis, kanamada artış, nötropeni, HLH
Hermansky-Pudlak sendromu, tip 10	AP3D1	OR	617050	Normal	Normal	CTL ve NK aktivitesinde (sitotoksiste ve/veya degranülasyon) azalma	Okülokutanöz albinizm, ağır nötropeni, tekrarlayan enfeksiyonlar, nöbetler, iştme kaybı, nörolojik gelişme geriliği
CEBPE yeni fonksiyonu (3 hasta)	CEBPE	OR GOF	245480	Hafif azalma	Bilinmiyor	Otoinflamazom aktivasyonu/IFN gen ifadesinde artma, mutant CEBPE'nin kromatin doluluğunda değişiklikler, transkripsiyonel değişiklikler	Tekrarlayan karın ağrısı, aseptik ateş, sistemik inflamasyon, apseler, üsereasyon, enfeksiyonlar, hafif kanama diyatezi

3. Regülatör T Hücre Kusurları

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Dolaşımdaki T hücreleri	Dolaşımdaki B hücreleri	Fonksiyonel bozukluk	İlişkili özellikler
IPEX, immün disregülasyon, polienodokrinopati, enteropati, X'e bağlı	FOXP3	XL	300292	Normal	Normal	CD4 ⁺ CD25 ⁺ FOXP3 ⁺ regülatör T hücre (Treg) eksikliği ve/veya fonksiyonlarında azalma	Otoimmün enteropati, erken başlangıçlı diyabet, tiroitit, hemolitik anemi, trombositopeni, egzama, yüksek IgE ve IgA
CD25 eksikliği	IL2RA	OR	147730	Normal ya da düşük	Normal	CD4 ⁺ CD25 ⁺ hücreleri yok, Treg hücrelerinin fonksiyonları bozuk	Lenfoproliferasyon, otoimmünite, <i>in vitro</i> T hücre proliferasyonu bozuk
CD122 eksikliği	IL2RB	OR	618495	Hafıza CD8 T hücrelerinde artış, Treg hücrelerinde azalma	Hafıza B hücrelerinde artış	IL-2Rβ ifadesi azalmış, IL-2/IL-15 yanıtı bozuk, olgunlaşmamış NK hücrelerinde artış	Lenfoproliferasyon, lenfadenopati, HSM, otoimmün hemolitik anemi, dermatit, enteropati, hipergammaglobulinemi, tekrarlayan viral (EBV, CMV) enfeksiyonlar
CTLA4 haploetersizliği (ALPS-V)	CTLA4	OD	123890	Azalmış	Azalmış	Treg fonksiyonları bozuk	Otoimmün sitopeniler, enteropati, interstisyel akciğer hastalığı, lenfoid dışı dokularda lenfositik infiltrasyon, tekrarlayan enfeksiyonlar
LRBA eksikliği	LRBA	OR	606453	Normal ya da azalmış CD4 T hücreleri, T hücre disregülasyonu	Düşük ya da normal	Çoğunda IgG ve IgA azalmış	Tez tekrarlayan enfeksiyonlar, enflamatuvar bağırsak hastalığı, otoimmünite
DEF6 eksikliği	DEF6	OR	610094	Hafif CD4 ve CD8 lenfopenisi	Düşük ya da normal	Treg fonksiyonları bozuk	Enteropati, HSM, kardiyomyopati, tekrarlayan enfeksiyonlar
STAT3 GOF mutasyonu	STAT3	OD GOF	102582	Azalmış	Azalmış	Th17 hücre farklılaşmasında artışa neden olan STAT3 sinyalleşmesinde artış, Treg'lerde ve fonksiyonlarında azalma	Lenfoproliferasyon, solid organlarda otoimmünite, tekrarlayan enfeksiyonlar
BACH2 eksikliği	BACH2	OD	605394	İlerleyici T hücre lenfopenisi	Hafıza B hücre gelişiminde bozukluk	Kritik transkripsiyon faktör spesifikasyon hattında haploetersizlik	Lenfositik kolit, sinupulmoner enfeksiyonlar
FERMT1 eksikliği	FERMT1	OR	173650	Normal	Normal	Bazal membran altında kolloid cisimlerinde hücre içi IgG, IgM, IgA ve C3 birikimi	Konjenital bülleşme ile karakterize dermatoz, deri atrofi, fotosensitivite, deride inceleme ve pullanma
IKAROS GOF (8 hasta)	IKZF1	OD GOF	NA	Normal	Normal ya da hafif düşük	Mutant IKAROS'un DNA/hedef genlere bağlanmasında artış	Çoklu otoimmünite (diyabet, kolit, tiroitit), allerji, lenfoproliferasyon, plazma hücrelerinde artış (IgG4 ⁺), Evan's sendromu, tekrarlayan enfeksiyonlar

4. Otoimmünite ± Lenfoproliferasyon							
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Dolaşımdaki T hücreleri	Dolaşımdaki B hücreleri	Fonksiyonel bozukluk	İlişkili özellikler
APECED (APS-1), otoimmün polienodokrinopati, kandidiyazis, ektodermal displazi	AIRE	OR ya da OD	240300	Normal	Normal	AIRE timusta otoreaktif T hücrelerinin negatif seleksiyonda kontrol noktası olarak ve Treg üretiminde rol alır	Otoimmünite, hipoparatiroidizm, hipotiroidizm, adrenal yetersizlik, diyabet, gonadal disfonksiyon ve diğer endokrinolojik anomaliler, dış minelerinde hipoplazi, alopesi areata, enteropati, pernisiyöz anemi, kronik mukokutanöz kandidiyazis
ITCH eksikliği	ITCH	OR	606409	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Hem otoreaktif T efektör T hücrelerinde anerji induksiyonunu hem de Treg'lerin üretimini etkileyerek immün disregülasyona neden olur	Erken başlangıçlı kronik akciğer hastalığı (interstisyel pnömonitis), otoimmünite (tip 1 diyabet, tiroidit, enteropati/kronik ishal, hepatit), büyüme gelişme geriliği, dismorfik yüz
Tripeptidil-peptidaz II eksikliği	TPP2	OR	190470	Azalmış	Azalmış	Prematür immün yaşlanma ve immün disregülasyon	Değişken lenfoproliferasyon, ağır otoimmün sitopeniler, hipergammaglobulinemi, tekrarlayan enfeksiyonlar
JAK1 GOF	JAK1	OD GOF	147795	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Hiperaktif JAK1	HSM, eozinofili, eozinoflik enterit, tiroid hastalığı, büyüme geriliği, viral enfeksiyonlar
Prolidaz eksikliği	PEPD	OR	613320	Normal	Normal	Peptidaz D kusuru	Otoimmünite, kronik seri ülsenleri, egzama, enfeksiyonlar
SOC1 haployetersizliği (15 hasta)	SOC1	OD	619375	Azalmış	Sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücrelerinde azalma	pSTAT1'de artma, tip I/II IFN imzasında artma	Erken başlangıçlı ağır multisistemik otoimmünite, nötrojeni, lenfopeni, ITP, OİHA, SLE, GN, HSM, psöriazis, artrit, tiroidit, hepatit, tekrarlayan enfeksiyonlar. Kısmi penetrans
PD-1 eksikliği (1 hasta)	PDCD1	OR	NA	Genellikle normal	Normal	Periferik mononükleer hücrelerde PD-1 eksikliği, mikobakteriyel uyarana karşı IFN- γ üretiminde azalma	Tüberküloz, otoimmünite (tip 1 diyabet, hipotiroidizm, JIA), ölümcül pulmoner otoimmünite, HSM
5. Kilit ile Seyreden İmmün Disregülasyonlar							
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Dolaşımdaki T hücreleri	Dolaşımdaki B hücreleri	Fonksiyonel bozukluk	İlişkili özellikler
IL-10 eksikliği	IL10	OR	124092	Normal	Normal	Fonksiyonel IL-10 sekresyonu yok	Enflamatuvar bağırsak hastalığı, follikülit, tekrarlayan respiratuvar enfeksiyonlar, artrit
IL-10RA eksikliği	IL10RA	OR	146933	Normal	Normal	IL-10'a yanıtız lökositöz	Enflamatuvar bağırsak hastalığı, follikülit, tekrarlayan respiratuvar enfeksiyonlar, artrit, lenfoma
IL-10RB eksikliği	IL10RB	OR	123889	Normal	Normal	IL-10'a yanıtız lökositöz	Enflamatuvar bağırsak hastalığı, follikülit, tekrarlayan respiratuvar enfeksiyonlar, artrit, lenfoma
NFAT5 haplo yetersizliği	NFAT5	OD	604708	Normal	Normal	Hafıza B hücrelerinde ve plazmablastlarda azalma	Enflamatuvar bağırsak hastalığı, tekrarlayan respiratuvar enfeksiyonlar

TGFB1 eksikliği	TGFB1	OR	616213	Normal	Normal	Anti-CD3 yanıtında T hücre proliferasyonunda azalma	Enflamatuvar bağırsak hastalığı, immün yetersizlik, tekrarlayan viral enfeksiyonlar, mikrosefali ve ensefalopati
RIPK1	RIPK1	OR	616108	Normal ya da azalmış	Azalmış	MAPK ve NFκB yollarının aktivasyonunda azalma	Tekrarlayan enfeksiyonlar, erken başlangıçlı enflamatuvar bağırsak hastalığı, ilerleyici poliartrit
ELF4 eksikliği (3 hasta)	ELF4	XL	301074	Normal	Normal	Hiperenflamatuvar makrofajlar	Erken başlangıçlı enflamatuvar bağırsak hastalığı/mukozal otoenflamasyon, ateş, üserler, IL-1 ve TNF'ye yanıtı ya da IL-12p40 blokajı
6. Otoimmün Lenfoproliferatif Sendrom (ALPS, Canale-Smith sendromu)							
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Dolaşımdaki T hücreleri	Dolaşımdaki B hücreleri	Fonksiyonel bozukluk	İlişkili özellikler
ALPS-FAS	TNFRSF6	OD ya da OR	134637	TCR α/β ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ (çift negatif) T hücre sayılarında artış	Normal, hafıza B hücrelerinde düşüklük	FAS aracılı apoptozis kusuru	Splenomegali, lenfadenopati, otoimmün sitopeniler, artmış lenfoma riski, normal ya da yüksek IgG ve IgA, serum FasL, IL-10 ve vitamin B12 seviyelerinde artış
ALPS-FASLG	TNFSF6	OR	134638	Çift negatif T hücrelerinde artış	Normal	FASL aracılı apoptozis kusuru	Splenomegali, lenfadenopati, otoimmün sitopeniler, SLE, çözülebilir FasL artmamıştır
ALPS-Caspase10	CASP10	OD	601762	Çift negatif T hücrelerinde artış	Normal	Kusurlu lenfosit apoptozisi	Lenfadenopati, splenomegali, otoimmünite
ALPS-Caspase8	CASP8	OR	601763	Çift negatif T hücrelerinde hafif artış	Normal	Kusurlu lenfosit apoptozisi ve aktivasyonu	Lenfadenopati, splenomegali, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, hipogammaglobulinemi
FADD eksikliği	FADD	OR	602457	Çift negatif T hücrelerinde artış	Normal	Kusurlu lenfosit apoptozisi	Fonksiyonel hiposplenizm, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, tekrarlayan karaciğer disfonksiyonu ve ensefalopati atakları
7. EBV Duyarlılığı ile Seyreden Lenfoproliferatif Durumlar							
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Dolaşımdaki T hücreleri	Dolaşımdaki B hücreleri	Fonksiyonel bozukluk	İlişkili özellikler
SAP eksikliği (XLP1)	SH2D1A	XL	300490	Aktive T hücreleri normal ya da artmış	Hafıza B hücrelerinde azalma	NK ve CTL hücrelerinin sitotoksik aktivitesinde azalma	EBV enfeksiyonunun tetiklediği klinik ve immünolojik özellikler, HLH, lenfoproliferasyon, aplastik anemi, lenfoma, hipogammaglobulinemi, iNKT hücrelerinin yokluğu
XIAP eksikliği (XLP2)	XIAP	XL	300079	Aktive T hücreleri normal ya da artmış, düşük ya da normal iNKT hücreleri	Hafıza B hücreleri normal ya da düşük	T hücrelerinde apoptoza duyarlılık ve aktivasyon ile tetiklenen hücre ölümü (AICD) artmış	EBV enfeksiyonu, splenomegali, lenfoproliferasyon, HLH, kolit, enflamatuvar bağırsak hastalığı, hepatit
CD27 eksikliği	CD27	OR	615122	Normal	Hafıza B hücreleri yok	Hipogammaglobulinemi, bazı aşılara/enfeksiyonlara kötü antikor yanıtı	EBV enfeksiyonunun tetiklediği özellikler, HLH, aplastik anemi, düşük iNKT hücreleri, B-lenfoma

CD70 eksikliği	CD70	OR	602840	Normal sayıda, düşük Treg, aktivasyon ve fonksiyon kötü	Hafıza B hücrelerinde azalma	Hipogammaglobulinemi, bazı aşılara/enfeksiyonlara kötü antikor yanıtı	EBV duyarlılığı, Hodgkin lenfoma, bazı hastalarda otoimmünite
CTPS1 eksikliği	CTPS1	OR	615897	Normal ya da düşük, aktivasyon ve proliferasyonda azalma	Hafıza B hücrelerinde azalma	Normal/yüksek IgG, antijene zayıf proliferasyon yanıtı	Tekrarlayan/kronik bakteriyel ve viral enfeksiyonlar (EBV, VZV), EBV ilişkili lenfoproliferasyon, B-hücreli non-hodgkin lenfoma
CD137 eksikliği (41BB)	TNFRSF9	OR	602250	Normal	Normal	IgG ve IgA düşük, T hücre bağımlı ve bağımsız antijen yanıtları kötü, T hücre proliferasyonunda, IFN-γ sekresyonunda ve sitotoksitede azalma	EBV ilişkili lenfoproliferasyon, B-hücreli lenfoma, kronik aktif EBV enfeksiyonu
RASGRP1 eksikliği	RASGRP1	OR	603962	Aktivasyon, proliferasyon, motilite kötü, naif T hücrelerinde azalma	Aktivasyon, proliferasyon, motilite kötü	Normal IgM ve IgG, yüksek IgA	Tekrarlayan pnömoni, Herpes enfeksiyonları, EBV ilişkili lenfoma, NK hücre fonksiyonlarında azalma
RLTPR eksikliği	CARMIL2	OR	610859	Normal sayıda, yüksek CD4, artmış naif CD4 ⁺ ve CD8 ⁺ , Düşük Treg ve MAIT, CD28 ile tetiklenen fonksiyonu zayıf	Normal B hücre sayısı, düşük hafıza B hücreleri	Antikorlar normal ya da düşük, zayıf T hücre bağımlı antikor yanıtı	Tekrarlayan bakteriyel, fungal ve mikobakteriyel enfeksiyonlar, viral siğiller, molluskum, EBV ilişkili lenfoproliferasyon ve diğer maligniteler, atopi
X'e bağlı magnezyum EBV ve neoplazi (XMEN)	MAGT1	XL	300853	Düşük CD4, düşük RTE hücreleri, CD4/CD8 oranı ters dönmüş, MAIT hücrelerinde azalma, CD3 ile proliferasyon zayıf	Normal fakat düşük hafıza B hücreleri	İlerleyici hipogammaglobulinemi, NK ve CTL hücrelerinde NKG2D ifadesindeki bozulmaya bağlı olarak sitotoksik aktivitede azalma	EBV enfeksiyonu, lenfoma, viral enfeksiyonlar, respiratuvar ve gastrointestinal enfeksiyonlar, glikozilasyon kusurları
PRKCD eksikliği	PRKCD	OR	615559	Normal	Düşük hafıza B hücreleri, yüksek CD5 B hücreleri	B hücrelerinde apoptotik kusur	Tekrarlayan enfeksiyonlar, kronik EBV enfeksiyonu, lenfoproliferasyon, SLE-benzeri otoimmünite (nefrotik ve antifosfolipid sendrom), düşük IgG
TET2 eksikliği (3 hasta)	TET2	OR	619126	CD4 CD8 T hücrelerinde artış	Düşük hafıza B hücreleri	DNA hipermetilasyonu, FAS-aracılı apoptozisde bozukluk	ALPS-benzeri, tekrarlayan viral enfeksiyonlar, EBV viremisi, lenfadenopati, HSM, otoimmünite, B-lenfoma, büyüme gelişme geriliği, gelişimsel gecikme

Tablo 4'deki mutant genlerin toplam sayısı: 52. Yeni tanımlanmış bağışıklığın doğuşta kusurları sayısı: 7 (RHOG, CEBPE, OD GOF IKZF1, SOCS1, PDCD1, ELF4, TET2).

FHL: Ailevi hemofagositik lenfositosis, **OR:** Otozomal resesif, **OD:** Otozomal dominant, **LOF:** Fonksiyon kaybettiren, **GOF:** Fonksiyon kazandıran, **NK:** Doğal öldürücü, **CTL:** Sitotoksik T hücre, **INKT:** İndüklebilir natural killer T, **HSM:** Hepatosplenomegali, **HLH:** Hemofagositik lenfositosis, **DN:** Çift negatif, **SLE:** Sistemik lupus eritematozus, **OİHA:** Otoimmün hemolitik anemi, **GN:** Glomerülonefrit, **EBV:** Epstein-Barr virüsü, **CMV:** Cytomegalo virüsü, **TCR:** T hücre reseptörü, **RTE:** Yeni timik göçmen

Tablo 5. Fagositlerin sayı ya da fonksiyonlarındaki konjenital kusurlar

1. Konjenital Nötropeniler						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
Elastaz eksikliği (ağır konjenital nötropeni [SCN] 1)	ELANE	OD	130130	Nötrofiller	Myeloid farklılaşma	MDS/lösemiye yatkınlık, ağır konjenital nötropeni ya da sıklık nötropeni
GFI 1 eksikliği (SCN2)	GFI1	OD	600871	Nötrofiller	Myeloid farklılaşma	B ve T hücre lenfopenisi
HAX1 eksikliği (Kostmann Hastalığı) (SCN3)	HAX1	OR	605998	Nötrofiller	Myeloid farklılaşma	Her iki HAX1 izoformlarında defekt olan hastalarda bilişsel ve nörolojik kusurlar, MDS/lösemiye yatkınlık
G6PC3 eksikliği (SCN4)	G6PC3	OR	611045	Nötrofiller	Myeloid farklılaşma, kemotaksis, O ₂ üretimi	Yapısal kalp defektleri, ürogenital anomaliler, iç kulak sağlığı, gövde ve ekstremiteelerde venöz anjioektaziler
VPS45 eksikliği (SCN5)	VPS45	OR	610035	Nötrofiller	Myeloid farklılaşma, migrasyon	Ekstramedüller hematopoez, kemik iliği fibrozisi, nefromegali
Glikojen depo hastalığı tip 1b	G6PT1	OR	602671	Nötrofiller, monositler	Myeloid farklılaşma, kemotaksis, O ₂ üretimi	Açlık hipoglisemisi, laktik asidozis, hiperlipidemi, hepatomegali
X'e bağlı nötropeni/myelodisplazi	WAS	XL GOF	300299	Nötrofiller	Farklılaşma, mitozis, WASp'in GTPaz bağlanma bölgesindeki GOF mutasyonlarına bağlı gelişmektedir.	Nötropeni, myeloid seride gelişim sırasında duraksama, monositopeni, değişken lenfoid anomalileri
P14/LAMTOR2 eksikliği	LAMTOR2	OR	610389	Nötrofiller, monositler	Endozomal biogenesis	Nötropeni, hipogammaglobulinemi, CD8 sitotoksitesinde azalma, kısmi albinizm, büyüme geriliği
Barth sendromu (3-Methylglutaconic asidüri tip II)	TAZ	XL	300394	Nötrofiller, lenfositler, melanositler	Mitokondrial fonksiyon	Kardiyomiyopati, miyopati, büyüme geriliği, nötropeni
Cohen sendromu	VPS13B	OR	607817	Nötrofiller	Myeloid farklılaşma	Dismorfizm, mental retardasyon, obezite, sağırılık, nötropeni
Clericuzio sendromu (Nötropeni ile seyreden poikiloderma)	USB1	OR	613276	Nötrofiller	Myeloid farklılaşma	Retinopati, gelişimsel gecikme, dismorfik yüz, poikiloderma
JAGN1 eksikliği	JAGN1	OR	616012	Nötrofiller	Myeloid farklılaşma	Myeloid gelişiminde duraksama, osteopeni
3-Methylglutaconic asidüri	CLPB	OR	616254	Nötrofiller	Myeloid farklılaşma, mitokondrial protein	Nörobilişsel gelişimde bozulma, mikrosefali, hipoglisemi, hipotoni, ataksi, nöbetler, katarakt, intrauterin büyüme geriliği
G-CSF reseptör eksikliği	CSF3R	OR	138971	Nötrofiller	Stres granülopoez bozuk	
SMARCD2 eksikliği	SMARCD2	OR	601736	Nötrofiller	Kromatin yeniden şekillenmesi, myeloid farklılaşma, nötrofil fonksiyonel defekt	Nötropeni, gelişimsel bozulma, kemikler, hematopoetik kök hücre, miyelodisplazi

Spesifik granül eksikliği	CEBPE	OR	189965	Nötrofiller	Terminal maturasyon ve global disfonksiyon	Nötropeni, iki loblu çekirdekli nötrofiller
	SBDS	OR	607444	Nötrofiller		Pansitopeni, ekzokrin pankreatik yetersizlik, kondrodizplazi
Shwachman-Diamond sendromu	DNAJC21	OR	617052	Nötrofiller, hematopoetik kök hücre	Nötrofil maturasyonu, kemotaksis, ribozomal biogenez	Pansitopeni, ekzokrin pankreatik yetersizlik
	EFL1	OR	617941	Nötrofiller, hematopoetik kök hücre		
HYOU1 eksikliği	HYOU1	OR	601746	Nötrofiller	Katlanmamış protein yanıtı	Hipoglisemi, enflamatuvar komplikasyonlar
SRP54 eksikliği	SRP54	OD	604857	Nötrofiller	Endoplazmik retikuluma protein translokasyonu, miyeloid farklılaşma, nötrofil fonksiyonel defekt	Nötropeni, ekzokrin pankreatik yetersizlik
CXCR2 eksikliği (6 hasta)	CXCR2	OR	619407	Nötrofiller	CXCR2 ifadesinde azalma, CXCL8 yanıtlarında bozulma	Belirgin nötropeni, miyelokateksi, tekrarlayan gingivit, oral ülserler, hipergammaglobulinemi
2. Motilite Kusurları						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
Lökosit adezyon defekti tip 1 (LAD1)	ITGB2	OR	600065	Nötrofiller, miyelositler, lenfositler, NK hücreleri	Adezyon, kemotaksis, endositoz, T/NK sitotoksitesi	Göbek kordonunda geç düşme, deri ülserleri, periodontit, lökositöz
Lökosit adezyon defekti tip 2 (LAD2)	SLC35C1	OR	605881	Nötrofiller, miyelositler	Yuvarlanma, kemotaksis	Hafif LAD tip 1 özellikleri beraberinde hh-kan grubu, büyüme geriliği, gelişimsel gecikme
Lökosit adezyon defekti tip 3 (LAD3)	FERMT3	OR	607901	Nötrofiller, miyelositler, lenfositler, NK hücreleri	Adezyon, kemotaksis	LAD tip 1 özellikleri ve kanamaya yatkınlık
Rac2 eksikliği	RAC2	OD LOF	608203	Nötrofiller	Adezyon, kemotaksis, O ₂ üretimi	Yara iyileşmesinde gecikme, lökositöz
β aktin eksikliği	ACTB	OD	102630	Nötrofiller, miyelositler	Motilite	Mental retardasyon, kısa boy
Lokalize juvenil periodontit	FPR1	OR	136537	Nötrofiller	Formilpeptid ile indüklenen kemotaksis	Sadece periodontit
Papillon-Lefevre Sendromu	CTSC	OR	602365	Nötrofiller, miyelositler	Kemotaksis	Periodontit, bazı hastalarda palmoplantar hiperkeratozis
WDR1 eksikliği	WDR1	OR	604734	Nötrofiller	Yayıma, yaşam süresi, kemotaksis	Hafif nötropeni, yara iyileşmesinde gecikme, ağır stomatit, nötrofil çekirdeğinde fıtıklaşma
Kistik fibrozis	CFTR	OR	602421	Miyelositler	Kemotaksis	Respiratuvar enfeksiyonlar, pankreatik yetersizlik, terde klor artışı
MKL1 eksikliğine bağlı kombine immün yetersizlik ile nötropeni	MKL1	OR	606078	Nötrofiller, miyelositler, lenfositler, NK hücreleri	Hücre iskelet genlerinin ekspresyonunda bozukluk	Hafif trombositopeni

3. Solunumsal Patlama Kusurları						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
X'e bağlı kronik granülomatöz hastalık (KGH), gp91phox	CYBB	XL	306400	Nötrofiller, monositler	Ödürme (O ₂ üretimi hatalı)	Enfeksiyonlar, otoenflamatuvar fenotip, EBH, delesyonların bitişik Kell lokusuna uzandığı hastalarda McLeod fenotipi
Otozomal resesif KGH	CYBA		608508			
	CYBC1		618334			
	NCF1	OR	608512	Nötrofiller, monositler	Ödürme (O ₂ üretimi hatalı)	Enfeksiyonlar, otoenflamatuvar fenotip
	NCF2		608515			
NCF4		613960				
G6PD eksikliği sınıf I	G6PD	XL	305900	Nötrofiller	O ₂ üretiminde azalma	Enfeksiyonlar

4. Diğer Lenfoid Dışı Kusurlar

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
GATA2 eksikliği	GATA2	OD	137295	Monositler ve periferik DH	Birçok hatta sitopeniler	Mikobakteriyel ve HPV enfeksiyonlarına yatkınlık, histoplazmosis, alveolar proteinosis, MDS/AML/KMML, lenfödem
Pulmoner alveolar proteinosis	CSF2RA CSFR2B	XL* OR	300770 614370	Alveolar makrofajlar	GM-CSF sinyalleşmesi	Alveolar proteinosis

*Psödootozomal gende biallelik mutasyonlar

Tablo 5'deki **mutant genlerin toplam sayısı: 42. Yeni tanımlanmış bağışıklığın doğuştan kusuru sayısı: 1 (CXCR2)**. Sıklık nötropeni elastaz eksikliği ile birleştirildi.

OR: Otozomal resesif, **OD:** Otozomal dominant, **LOF:** Fonksiyon kaybettiren, **GOF:** Fonksiyon kazandıran, **NK:** Doğal öldürücü, **DH:** Dendritik hücre, **KGH:** Kronik granülomatöz hastalık, **EBH:** Enflamatuvar bağırsak hastalığı, **MDS:** Myelodisplastik sendrom, **AML:** Akut myeloid lösemi, **KMML:** Kronik myelomonositik lösemi, **GM-CSF:** Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör

Tablo 6. Doğal immünite kusurları

1. Mikobakteriyel Enfeksiyonlara Mendelian Yatkınlık (MSMD)						İlişkili özellikler
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	
IL-12 ve IL-23 reseptör β1 zincir eksikliği	IL12RB1	OR	601604	Lenfositler, NK hücreleri		
IL-12p40 (IL-12 ve IL-23) eksikliği	IL12B	OR	161561	Miyelositler	IFN-γ üretimi	
IL-12Rβ2 eksikliği	IL12RB2	OR	601642	Lenfositler, NK hücreleri		
IL-23R eksikliği	IL23R	OR	607562	Lenfositler, NK hücreleri		Mikobakteri ve Salmonella enfeksiyonlarına duyarlılık
IFN-γ reseptör 1 eksikliği	IFNGR1	OR	209950	Miyelositler, lenfositler	IFN-γ bağlanması ve sinyali	
IFN-γ reseptör 2 eksikliği	IFNGR2	OR	147569	Miyelositler, lenfositler	IFN-γ sinyali	
STAT1 eksikliği	STAT1	OD LOF	614892	Miyelositler, lenfositler		
Makrofaj gp91 phox eksikliği	CYBB	XL	300645	Sadece makrofajlar	Öldürme (O ₂ üretimi hatalı)	izole mikobakteriyel yatkınlık
IRF8 eksikliği	IRF8	OR	614893	Miyelositler, lenfositler	CDH ve Th1 hücrelerin gelişiminde bozulma	Mikobakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık
SPPL2a eksikliği	SPPL2A	OR	608238	Miyelositler, lenfositler	Dolaşımda monosit ve DH eksikliği, bazı hastalar NK hücre sayı ve fonksiyonlarında azalma	Mikobakteriyel ve EBV dahil diğer birçok enfeksiyöz ajan enfeksiyonlarına yatkınlık
TYK2 eksikliği	TYK2	OR	611521	Miyelositler, lenfositler	CDH ve Th1 hücrelerin gelişiminde bozulma	Mikobakteri ve Salmonella enfeksiyonlarına yatkınlık
P1.104A TYK2 homozigotluğu	TYK2	OR	176941	Lenfositler	IL-10, IL-12, IL-23 ve tip1 IFN'lara hücrel yanıtta bozulma	Hücre içi bakteri (Mikobakteri, salmonella) enfeksiyonlarına ve virüslere yatkınlık
ISG15 eksikliği	ISG15	OR	147571		IL-23'e karşı hücrel yanıtta bozulma	MSMD ya da tüberküloz
RORγt eksikliği	RORC	OR	602943	Lenfositler, NK hücreleri	IFN-γ üretim kusuru	Mikobakteriyel yatkınlık, beyinde kalsifikasyon
JAK1 eksikliği	JAK1	OR LOF	147795	Nötrofiller, lenfositler	Fonksiyonel RORγt protein eksikliği, IFN-γ üretim kusuru, IL-17A/F üreten T hücrelerin komplet yokluğu	Mikobakteriyel ve kandida enfeksiyonlarına yatkınlık
T-bet eksikliği (1 hasta)	TBX21	OR	619630	Lenfositler	Sitokinlere azalmış JAK1 aktivasyon yanıtı, IFN-γ üretiminde azalma	Mikobakteriyel ve viral enfeksiyonlara yatkınlık, ürothelial karsinoma
IFN-γ eksikliği (2 hasta)	IFNG	OR	618963	Lenfositler	γδ T, MAIT, INKT, NK ve CD4 ⁺ T hücrelerinde IFN-γ ve TNF-α üretiminde azalma	Mikobakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık
					T ve NK hücrelerinde IFN-γ üretimi yok	Mikobakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık

2. Epidermodisplazi Verruciformis (HPV)

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
EVER1 eksikliği	TMC6		605828		EVER1, EVER2 ve CIB1	Human papilloma virüsü (HMPV) (grup B1) enfeksiyonları ve deri kanseri (tipik EV)
EVER2 eksikliği	TMC8	OR	605829	Keratinositler	keratinositlerde kompleks oluştururlar	
CIB1 eksikliği	CIB1		618267			
WHIM (sigiller, hipogammaglobulinemi, enfeksiyonlar, miyelokatheksi) sendromu	CXCR4	OD GOF	162643	Lökositler	CXCR4'ün ligandı CXCL12 yanıtında artma (SDF-1)	Sigiller (HPV enfeksiyonu), nötropeni, düşük B hücre sayısı, hipogammaglobulinemi

3. Ciddi Viral Enfeksiyonlara Yatkınlık

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
STAT1 eksikliği	STAT1	OR LOF	60055	Lökositler ve diğer hücreler	STAT1-bağımlı IFN- α / β , - γ ve - λ yanıtları	Ağır viral enfeksiyonlar, mikobakteriyel enfeksiyonlar
STAT2 eksikliği	STAT2	OR	600556	Lökositler ve diğer hücreler	STAT2-bağımlı IFN- α / β ve - λ yanıtları	Ağır viral enfeksiyonlar (dissemine aşı-suşu kızamığı)
IRF9 eksikliği	IRF9	OR	147574	Lökositler ve diğer hücreler	IRF9- ve ISGF3-bağımlı IFN- α / β yanıtları	
IRF7 eksikliği	IRF7	OR	605047	Lökositler, plazmacytoid dentritik hücreler, hematopoetik olmayan hücreler	IFN- α , - β , - γ ve - λ üretimi	Ağır influenza enfeksiyonu
IFNAR1 eksikliği	IFNAR1	OR	107450	Lökositler ve diğer hücreler	IFN- α / β 'ya IFNAR1-bağımlı yanıtları	Sarı humma ve kızamık aşlarına bağlı ağır hastalık
IFNAR2 eksikliği	IFNAR2	OR	602376	Yaygın ifade edilir	IFN- α / β 'ya IFNAR2-bağımlı yanıtları	Ağır viral enfeksiyonlar (dissemine aşı-suşu kızamığı, HHV6)
CD16 eksikliği	FCGR3A	OR	146740	NK hücreleri	NK hücre fonksiyonlarında değişikliklik	Ağır herpes viral enfeksiyonları, özellikle VZV, EBV ve HPV
MDA5 eksikliği	IFIH1	OR LOF	606951	Yaygın ifade edilir	Viral tanıma ve IFN üretimi	Rinovirüs ve diğer RNA virüsleri
NOS2 eksikliği (1 hasta)	NOS2	OR	NA	Miyeloid hücreler	Mutant NOS2 nitroz oksit üretimini indükleyemez	Ağır CMV-ilişkili hastalıklara yatkınlık (ölümcül), CMV'ye sekonder pneumocystis pnömonisi, diğer herpes virüs (EBV, VZV, HSV) enfeksiyonlarına yanıt sağlam
ZNFX1 eksikliği (28 hasta)	ZNFX1	OR	619644	Yaygın ifade edilir	Poly I:C'ye ISG yanıtında artış	RNA/DNA virüslerine ve mikobakterilere bağlı ağır enfeksiyonlar, erken başlangıçlı karaciğer, beyin, böbrekler ve akciğeri etkileyen enflamasyon, virüslerin tetiklediği enflamatuvar ataklar, HSM, lenfadenopati
RNA polimeraz III eksikliği	POLR3A POLR3C POLR3F	OD	614258 617454 617455	Lökositler ve diğer hücreler	Viral tanıma ve VZV ya da poly I:C'ye yanıtta IFN üretimi bozuk	Ağır VZV enfeksiyonları

4. Herpes Simpleks Ensefaliti (HSE)						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
TLR3 eksikliği	TLR3	OD ya da OR	613002		TLR3-bağımlı IFN- α , - β ve - γ yanıtları	HSV1 ensefaliti (burada listelenen tüm etiyolojilerde inkomplet klinik penetrans vardır), ciddi pulmoner influenza, VZV
UNC93B1 eksikliği	UNC93B1	OR	608204		UNC-93B-bağımlı IFN- α , - β ve - γ yanıtları	
TRAF3 eksikliği	TRAF3	OD	601896		TRAF3-bağımlı IFN- α , - β ve - γ yanıtları	
TRIF eksikliği	TICAM1	OD ya da OR	607601		TRIF-bağımlı IFN- α , - β ve - γ yanıtları	HSV1 ensefaliti
TBK1 eksikliği	TBK1	OD	604834	Merkezi sinir sisteminde yerleşik hücreler ve fibroblastlar	TBK1-bağımlı IFN- α , - β ve - γ yanıtları	
IRF3 eksikliği	IRF3	OD	616532		HSV1'e yanıt olarak düşük IFN- α / β üretimi, IRF3 fosforilasyonunda azalma	
DBR1 eksikliği	DBR1	OR	607024		Anti-viral IFN'ların üretiminde bozukluk	Beyinsapında HSE. Beyinsapının diğer viral enfeksiyonları
SNORA31 eksikliği (5 hasta)	SNORA31	OD	619396		Anti-viral IFN'ların üretiminde bozukluk	Önbeyin HSV1 ensefaliti
ATG4 eksikliği (1 hasta)	ATG4	OD	NA		HSV2'nin indüklediği otofajide bozulma, viral replikasyonda artış, fibroblastlarda apoptozis	HSV2'ye bağı Mollaret menenjit (tekrarlayan lenfositik menenjit)
MAP1LC3B2 eksikliği (1 hasta)	MAP1LC3B2					
5. İnvaziv Fungal Hastalıklara Yatkınlık						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
CARD9 eksikliği	CARD9	OR	607212	Mononükleer fagositler	CARD9 sinyal yolağı	İnvaziv kandidal enfeksiyonlar, derin dermatofitler, diğer invaziv fungal enfeksiyonlar
6. Mukokutanöz Kandidiyazise Yatkınlık						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
IL-17RA eksikliği	IL17RA	OR	605461	Epitel hücreleri, fibroblastlar, mononükleer fagositler	IL-17RA sinyal yolağı	Kronik mukokutanöz kandidiyazis, follikülit
IL-17RC eksikliği	IL17RC	OR	610925	mononükleer fagositler	IL-17RC sinyal yolağı	Kronik mukokutanöz kandidiyazis
IL-17F eksikliği	IL17F	OD	606496	T hücreleri	IL-17F içeren domainler	Kronik mukokutanöz kandidiyazis, follikülit
STAT1 GOF	STAT1	OD GOF	600555	T, B hücreleri, monositler	STAT1 GOF mtaşyonları IL-17 üreten T hücrelerinin gelişimini bozarlar	Kronik mukokutanöz kandidiyazis, çeşitli fungal ve viral (HSV) enfeksiyonlar, otoimmünite (tiroitit, diyabet, sitopeniler), enteropati
ACT1 eksikliği	TRAF3IP2	OR	607043	T hücreleri, fibroblastlar	Fibroblastlar IL-17A ve IL-17F'ye yanıtsız ve T hücreleri IL-17E'ye yanıtsız	Kronik mukokutanöz kandidiyazis, blefarit, follikülit, makroglossi

JNK1 haploetersizliği (3 hasta)	MAPK8	OD	NA	T hücreleri, fibroblastlar	Ex vivo Th17 hücrelerinde azalma, fibroblastların <i>in vitro</i> IL-17A ve IL-17F'ye yanıtlarında azalma, c-Jun/ATF-2-bağımlı TGF-β sinyalinde azalma	Kronik mukokutanöz kandidiyazis, bağ doku bozuklukları (Ehler-Danlos sendromuna benzer)
7. Bakteriyel Duyarlılık ile Birlikte TLR Sinyal Yolu Eksiklikleri						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
IRAK4 eksikliği	IRAK4	OR	606683	Lenfositler, granülositler, monositler	TIR-IRAK4 sinyal yolu	Bakteriyel enfeksiyonlar (piyojenik)
MyD88 eksikliği	MYD88	OR	602170	Lenfositler, granülositler, monositler	TIR-MyD88 sinyal yolu	Bakteriyel enfeksiyonlar, büyük de nova Xq28 kromozomal delesyon kaynaklı X'e bağlı MECP2 eksikliği-ilişkili sendrom, hem MECP2 hem de IRAK1'i kapsar
IRAK1 eksikliği	IRAK1	XL	300283	Lenfositler, granülositler, monositler	TIR-IRAK1 sinyal yolu	Bakteriyel enfeksiyonlar, büyük de nova Xq28 kromozomal delesyon kaynaklı X'e bağlı MECP2 eksikliği-ilişkili sendrom, hem MECP2 hem de IRAK1'i kapsar
TIRAP eksikliği	TIRAP	OR	614382	Lenfositler, granülositler, monositler	TIRAP sinyal yolu, Fibroblast ve lökositlerdeki TLR1/2, TLR2/6 ve TLR4 agonistlerinde bozulma	Çocukluk döneminde stafylokokkal hastalık
TLR7 eksikliği	TLR7	XL	301051	Lenfositler, miyeloid hücreler	TLR7 ligand yanıtlarında bozulma, tip1 IFN üretiminde azalma	Ağır COVID19 enfeksiyonu
TLR8 GOF	TLR8	XL	NA	Miyeloid hücreler	Proinflamatuvar sitokinlerin seviyesinde artış, miyeloid hücrelerinin TLR8 agonistlerine artmış proinflamatuvar yanıt, mutant TLR8'in TLR7 sinyalini zayıflatma etkisinde azalma	Erken başlangıçlı ağır sitopeniler, HSM, lenfadenopati, ilerleyici otoenflamatuvar hastalık
8. Diğer Bağışıklığın Doğuştan Kusurları, Hematopetik Dışı Dokular ile İlişkili						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
izole konjenital aspleni (ICA)	RPSA	OD	271400	Dalak yok	RPSA bir ribosomal protein olan SA'yı kodlar. Ribozomun küçük alt ünitesinin bir parçasıdır.	Bakteremi (kapsüllü bakteriler)
Trypanosomiasis	HMOX	OR	141250	Makrofajlar	HO-1 demir siklusunu düzenler ve heme-bağımlı hasar oluşur	Hemoliz, nefrit, enflamasyon
NBAS eksikliğine bağlı akut karaciğer yetersizliği	APOL1	OD	603743	Somatik	Por oluşturan serum proteini	Trypanosomiasis
Akut nekrotizan ensefalopati	NBAS	OR	608025	Somatik ve hematopoetik	ER stres	Ateşe bağlı karaciğer yetersizliği
	RANBP2	OR	601181	Her yerde ifade edilir	Nükleer por	Ateşe bağlı akut ensefalopati

CLCN7	602727							Osteopetrotis hipokalsemi ve nörolojik özellikler ile
SNX10	614780							Osteopetrotis görme bozukluğu ile
OSTM1	607649	OR					Sekretuar lizozimler	Osteopetrotis hipokalsemi ve nörolojik özellikler ile
PLEKHM1	611466						Osteoklastlar	Osteopetrotis
TCIRG1	604592							Osteopetrotis hipokalsemi ile
TNFRSF11A	603499						Osteoklastogenez	Osteopetrotis
TNFSF11	602642						Stromal	Osteopetrotis ağır büyüme geriliği ile
NCSTN	605254	OD						Vemeul hastalığı/ Hidradenitis suppurativa akne ile
PSEN	613737	OD					Epidermis	Vemeul hastalığı/ Hidradenitis suppurativa kutanöz hiperpigmentasyon ile
PSENE1	613736	OD						Vemeul hastalığı/ Hidradenitis suppurativa

9. Lökositöz ile ilişkili Diğer Bağışıklığın Doğuştan Kusurları

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Etkilenen fonksiyon	İlişkili özellikler
IRF4 haploetersizliği	IRF4	OD	601900	Lenfositler, Miyelositler	IRF4 bir pleotropik transkripsiyon faktörüdür	Whipple hastalığı
IL18BP eksikliği	IL18BP	OR	604113	Lökositler ve diğer hücreler	IL-18BP salınan IL-18'i nötralize eder	Fulminant viral hepatit

Tablo 6'daki mutant genlerin toplam sayısı: 74. Yeni tanımlanmış bağışıklığın doğuştan kusurları: 10 (TBX21, IFNG, NOS2, ZNF1, SNORA31, ATG4A, MAP3LC3B2, MAPK8, TLR7, TLR8).

OR: Otozomal resesif, **OD:** Otozomal dominant, **LOF:** Fonksiyon kaybettiren, **GOF:** Fonksiyon kazandıran, **NK:** Doğal öldürücü, **DH:** Dendritik hücre, **İNK:** İndüklenbilir NKT hücreleri, **NF-κB:** Nükleer faktör kappa, **IFN:** interferon, **TLR:** Toll-like reseptör, **EBV:** Epstein-Barr virüsü, **VZV:** Varicella Zoster virüsü, **HSV:** Herpes Simplex virüsü, **CMV:** Cytomegalo virüs, **HHV:** Human papilloma virüs, **ER:** Endoplazmik retikulum, **HSM:** Hepatosplenomegali, **ISG:** Interferon ile uyarılan gen

Tablo 7. Otoenflamatuvar hastalıklar

1. Tip 1 interferonopatiler						
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	Fonksiyonel kusur
OD STING-ilişkili vaskülopati, infantil başlangıçlı (SAVI)	TMEM173 (STING)	OD	612374	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Deride vaskülopati, enflamatuvar akciğer hastalığı, sistemik otoenflamasyon, ailevi chilblain lupus, intrakranial kalsifikasyon Büyüme gelişme geriliği, erken başlangıçlı döküntü, ateş, dispne, interstisyel akciğer hastalığı, poliartrit, otoantikorlar, enflamatuvar belirteçlerde artma, IFN gen imzası. OD GOF TMEM173'e bağlı SAVI'nin fenokopisi
OR STING-ilişkili vaskülopati, infantil başlangıçlı (SAVI)	TMEM173 (STING)	OR GOF	615934	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	STING NF-kappa-B ve IRF3 transkripsiyon yollarını aktive ederek IFN ifade edilmesini sağlar
ADA2 eksikliği	ADA2	OR	607575	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	ADA hücre dışı adenoziyi deaktive eder ve adenozin reseptörleri üzerinden sinyali sonlandırır
TREX1 eksikliği Alcardi-Goutieres sendromu 1 (AGS1)	TREX1	OR ya da OD	606609	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Tek zincir DNA türleri hücre içinde birlikte tip 1 IFN üretimini artırır
RNASEH2B eksikliği AGS2	RNASEH2B	OR	610326	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Anormal RNA-DNA hibrid türlerinin hücre içi birikimi tip 1 IFN üretiminde artışa neden olur
RNASEH2C eksikliği AGS3	RNASEH2C	OR	610330	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Klasik AGS, spastik paraparezi
RNASEH2A eksikliği AGS4	RNASEH2A	OR	606034	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Klasik AGS
SAMHD1 eksikliği AGS5	SAMHD1	OR	606754	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Sitozoldeki dNTP'leri kontrol eder, eksikliği tip 1 IFN üretiminde artışa neden olur
ADAR1 eksikliği AGS6	ADAR1	OR	146920	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Çift zincir RNA substratlarında adenoziinin inozine deaminasyonunu katalize eder, eksikliğinde tip 1 IFN üretimi artar
Alcardi-Goutieres sendromu 7 (AGS7)	IFIH1	OD GOF	615846	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	IFIH geni MAVS adaptör molekülü üzerinden tip 1 IFN sinyalini aktive eden sitoplazmik viral RNA reseptörünü kodlar
DNAase II eksikliği	DNASE2	OR	126350	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	DNAase II DNA parçalar ve elimine eder, DNAase II aktive kaybı tip1 IFN sinyalini indükler

LSM11 eksikliği (2 hasta)	LSM11	OR	619486	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Fibroblastlarda IFN sinyalinde artış	AGS, tip 1 IFN-opati
RNU7-1 eksikliği (16 hasta)	RNU7-1	OR	619487	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Fibroblastlarda IFN sinyalinde artış	AGS, tip 1 IFN-opati
DNASE1L3 eksikliğine bağlı pediatrik sistemik lupus eritematozus	DNASE1L3	OR	614420	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	DNASE1L3 bir endonükleazdır, hücre dışı DNA'ları yıkar. Eksikliği apoptotik hücrelerin temizlenmesini azaltır	Çok erken başlangıçlı SLE, komplemanlarda azalma, otoantikörler, lupus nefriti, hipokomplementemik ürtikeryal vaskülit sendromu
İmmün disregülasyonlu spondiloenkondroplazi (SPENCD)	ACP5	OR	171640	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	IFN upregülasyonu	Kısa boy, spastik paraparezi, intrakranial kalsifikasyon, SLE, trombositopeni, otoimmün hemolitik anemi, tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar
X'e bağlı retikülo pigmentar bozukluk	POLA1	XL	301220	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	POLA1 sitozolik RNA:DNA sentezi için gereklidir. Eksikliğinde tip 1 IFN üretimi artar	Hiperpigmentasyon, karakteristik yüz bulguları, akciğer ve gastrointestinal kanal tutulumu
USP18 eksikliği	OR	OR	607057	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	Tip 1 IFN üretiminde artışa neden olan ISG15'in negatif regülasyonunun kusuru	TORCH benzeri sendrom
OAS1 eksikliği	OAS1	OD GOF	164350	Düşük	Düşük	RNA tanınmasına bağlı olarak IFN artışı	Pulmoner alveolar proteinosis, deri döküntüsü
CDC42 eksikliği (15 hasta)	CDC42	OD	616737	Düşük ya da normal	Düşük ya da normal	IL-1, IL-18, IFN- γ , ferritin, sCD25 ve CRP seviyelerinde artma, mutasyon aktin fonksiyonlarını etkiler, NK hücre sitotoksitesinde azalma	Neonatal başlangıçlı pansitopeni, ateş, döküntü, HSM, multisistemik inflamasyon, miyelofibrosis/proliferasyon, HLH, enterokolit, tekrarlayan gastrointestinal ve üriner enfeksiyonlar, nörolojik gelişimde gecikme, büyüme gelişme geriliği
STAT2 R148 LOF/regülasyon (3 hasta)	STAT2	OR	616636	Artmış	Normal	Hücreler IFN- α 'ya aşırı duyarlıdır, tip 1 IFN için negatif düzenleyicidir	Ağır ölümcül erken başlangıçlı otoenflamasyon, IFN- α , IL6 ve TNF- α serum seviyelerinde artış, USP18 eksikliğinin fenokopisidir.
ATAD3A eksikliği (8 hasta)	ATAD3A	OD ya da OR	617183	Değerlendirilmemiş	Değerlendirilmemiş	ISG ifadesi ve serum tip 1 IFN seviyeleri artar	Nörolojik bozukluklar baskındır (gelişimde gecikme, spastisite)

2. İnflamazomları Etkileyen Kusurlar

Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Etkilenen hücreler	Fonksiyonel kusur	İlişkili özellikler
Ailevi Akdeniz ateşi	MEFV	OD	134610	Matür granülositler, sitokin ile aktive monositler	Genellikle M694de varyantı	Kolşisine yanıtı tekrarlayan ateş, serozit ve enflamasyon, vaskülit ve enflamatuvar bağırsak hastalıklarına yatkınlık kazandırır
Mevalonate kinase eksikliği (Hiper IgD sendromu)	MVK	OR	260920	Somatik ve hematopoetik	Kolesterol sentezinde etkilenme, hastalığın patogenezini net değil	Yüksek IgD seviyeleri ile birlikte periyodik ateş ve lökositoz

Muckle-Wells sendromu	191900				Ürtiker, sensörinöral iştih kaybı, amiloidoz
Ailevi soğuk otoenflamatuvar sendrom 1	120100		PMN ve monositler		Soğuk maruziyeti sonrasında gelişen kaşıntısız ürtiker, artrit, üşüme titreme, ateş ve lökositoz
Neonatal başlangıçlı multisistemik enflamatuvar hastalık (NOMID) ya da kronik infantil nörolojik kutanöz ve artiküler sendrom (CINCA)	607115	OD GOF	PMN ve kondrositler	Lökosit apopitozunda, NFKB sinyalinde ve IL-1 üretiminde rol alan kriyoprin defekti	Neonatal başlangıçlı döküntü, artrit, üşüme titreme, kronik menenjit, artropati, ateş ve enflamasyon
Ailevi soğuk otoenflamatuvar sendrom 2	611762	OD GOF	PMN ve monositler		Soğuk maruziyeti sonrasında gelişen kaşıntısız ürtiker, artrit, üşüme titreme, ateş ve lökositoz
NLR4-MAS (makrofaj etkinleştirilen sendrom)	616050			NLR4 genindeki fonksiyon kazandıran mutasyon IL-1β ve IL-18 sekresyonunda artışa ve makrofaj aktivasyonuna neden olur	Ağır enterokolit ve makrofaj aktivasyon sendromu
Ailevi soğuk otoenflamatuvar sendrom 4	616115	OD GOF	PMN, monosit ve makrofajlar		
PLAID (PLCγ2 ilişkili antikor eksikliği ve immün disregülasyon)	614878				Soğuk ürtiker, hipogammaglobulinemi, hümmoral immünitede bozulma, otoenflamasyon
Ailevi soğuk otoenflamatuvar sendrom 3 ya da APLAID (c2120A>C)	614468	OD GOF	B, NK ve mast hücreleri	Mutasyonlar IL-1 yollarını aktive ederler	
NLRP1 eksikliği	617388	OR	Lökositler	IL-18 ve caspase 1'de sistemik artış NLRP1 inflamasyonunun rol aldığını düşündürmektedir	Diskeratoz, otoimmünite ve artrit
NLRP1 GOF	615225	OD GOF	Keratinositler	IL-1β artışı	Palmoplantar karşınım, korneal skarlaşma, tekrarlayan respiratuvar papillomatosis
RIPK1 eksikliği (12 hasta)	618852	OD		Enflamatuvar belirteçlerde ve pro-enflamatuvar sitokinlerde artış/gen imzası	Otoenflamatuvar bozukluk: uzamış ateş, lenfadenopati, HSM, ülserler, artralji, gastrointestinal bulgular
3. İnflamazom ile ilişkili Olmayan Durumlar					
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Fonksiyonel kusur	İlişkili özellikler
TNF reseptör ilişkili periodik sendrom (TRAPS)	TNFRSF1A	OD	142680	55-kD reseptör mutasyonları reseptörlerin hücre içinde kalmasına ya da TNF'ye bağlanabilen çözünebilir sitokin reseptörlerinde azalmaya neden olur	Tekrarlayan ateş, serozit, döküntü, oküler ya da eklem enflamasyonu
Piyojenik steril artrit, piyoderma gangrenosum, akne (PAPA) sendromu, hiperzincemia ve hiperkalptotektinemia	PSTPIP1	OD	604416	Hematopoetik dokularda, aktive T hücrelerinde upregüle olur	Destruktif artrit, enflamatuvar deri döküntüleri, miyozit

Blau sendrom	NOD2	OD	186580	Monositler	CARD15'in nükleotid bağlanma bölgesindeki mutasyonlar NF-κB sinyali ile lipopolisakkaridler arasındaki etkileşimin bozulmasına neden olabilir	Üveit, granülomatöz sinovit, kamptodaktili, döküntü, kranial nöropati, %30'unda Crohn koliti gelişir
ADAM17 eksikliği	ADAM17	OR	614328	Lökositler, epitel hücreleri	Hatalı TNF üretimi	Erken başlangıçlı ishal ve deri lezyonları
Kronik tekrarlayan multifokal osteomyelit ve konjenital diseritropoetik anemi (Majeed sendromu)	LPIN2	OR	609628	Nötrofiller, kemik iliği hücreleri	Tanımlanmamış	Kronik tekrarlayan multifokal osteomyelit, transfüzyon-bağımlı anemi, kutanöz enflamatuvar bozukluklar
DIRA (IL-1 reseptör antagonist eksikliği)	IL1RN	OR	612852	PMN, monositler	IL-1 reseptör antagonist mutasyonları karşı konulmayan IL-1 aktivitesine neden olur	Neonatal başlangıçlı steril multifokal osteomyelit, periorbit ve püstülozis
DITRA (IL-36 reseptör antagonist eksikliği)	IL36RN	OR	614204	Keratinositler, lökositler	IL36RN mutasyonları IL-8 üretiminde artışa neden olurlar	Püstüller psöriariz
SLC29A3 mutasyon	SLC29A3	OR	602782	Lökositler, kemik hücreleri		Hiperpigmentasyon, hipertrikoz, histiyositoz-lenfadenopati artı sendromu
CAMPS (CARD14 aracılı psöriariz)	CARD14	OD	602723	Büyük oranda keratinositler	CARD14 mutasyonları NF-κB yolağını ve IL-8 üretimini aktive eder	Psöriariz
Cherubism	SH3BP2	OD	118400	Stromal ve kemik hücreleri	Hiperaktif makrofaj ve NF-κB artışı	Çenede kemik dejenerasyonu
CANDLE (kronik atipik nötrofilik dermatit, lipodistrofi ile)	PSMB8*	OR ya da OD	256040	Keratinositler, B ve adiipoz hücreleri	Mutasyonlar tanımlanmamış bir mekanizma ile IFN sinyalizasyonunu artırır	Kontraktürler, pannikülit, intrakranial kalsifikasyon, ateş
	PSMG2	OR	609702	Lenfositler		Pannikülit, lipodistrofi, otoimmün hemolitik anemi
COPA defekti	COPA	OD	6011924	PMN, doku spesifik hücreler	Coat protein complex I (COP1) ile olan hücre içi transpotta bozukluk	Otoimmün enflamatuvar artrit, TH17 disregülasyonu ile birlikte interstisyel akciğer hastalığı, otoantikor üretimi
Otulipenia/ORAS	OTULIN	OR	615712	Lökositler	LUBAC aracılı NF-κB aktivasyonunun indüksiyonunda artış proenflamatuvar sitokin seviyelerinin yükselmesine neden olur	Ateş, ishal, dermatit
A20 eksikliği	TNFAIP3	OD	616744	Lenfositler	Defektif NF-κB sinyalizasyon yolak inhibisyonu	Artralji, mukozal ülseler, oküler inflamasyon
AP1S3 eksikliği	AP1S3	OR	615781	Keratinositler	TLR3 translokasyonunda bozulma	Püstüller psöriariz
ALPI eksikliği	ALPI	OR	171740	İntestinal epitel hücreleri	Barsakta LPS inhibisyon eksikliği	Enflamatuvar bağırsak hastalığı
TRIM22	TRIM22	OR	606559	Makrofajlar, intestinal epitel hücreleri	Granülomatöz kolit	Enflamatuvar bağırsak hastalığı

T hücreli lenfoma subkutanöz pannikülit-benzeri (TIM3 eksikliği)	HAVCR2	OR	618398	Lökositler	Hatalı kontrol noktası sinyalizasyonuna bağlı olarak inflamazom aktivitesinde artış	Pannikülit, HLH, poliklonal kutanöz T hücre infiltrasyonu ya da T hücreli lenfoma
C2orf69 eksikliği (28 hasta)	C2orf69	OR	619423			Eriken başlangıçlı ağır otoenflamasyon bozukluğu, sıklıkla ölümcül. Yaygın gelişimsel gecikme, tekrarlayan nöbetler, kas güçsüzlüğü, karaciğer disfonksiyonu
NCKAP1L eksikliği (9 hasta)	NCKAP1L	OR	616982	Lenfositler	Hiperenflamasyon ve sitokinlerin (Th1) aşırı üretimi, T hücre proliferasyonunda azalma, hücre iskelet kusurları	Tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonları, deride döküntü/apseler, atopi, ülseler, lenfoproliferasyon/lenfadenopati, hiperenflamasyon, antidiDNA antikorları, ateş, büyüme gelişme geriliği
SYK GOF (6 hasta)	SYK	OD GOF	619381	Lenfositler	SYK fosforilasyon artışı sinyalizasyonun akışını güçlendirir	Tekrarlayan enfeksiyonlar, multiorgan enflamasyonu/enflamatuvar hastalığı (bağırsak, deri, merkezi sinir sistemi, akciğer, karaciğer), B-hücreli lenfoma (2 hasta)
HCK GOF (1 hasta)	HCK	OD GOF	NA		HCK mutantının kinaz aktivitesinde <i>in vitro</i> artış, enflamatuvar sitokinlerin (IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α) üretiminde artış, ROS	Kutanöz vaskülit, deride ve akciğerlerde enflamatuvar lökosit infiltrasyonu (pulmoner fibrosis), anemi, HSM
PSMB9 GOF (3 hasta)	PSMB9	OD GOF	617591	Hafif pansitopeni; Lökositler	Enflamatuvar sitokinlerin (IL-6, IL-18, IP-10, IFN-α) seviyelerinde ve karaciğer enzimlerinde artış, serebrospinal sıvıda IFN-α ve pSTAT1 hiperaktivasyonu, proteasom aktivitesinde azalma	Ağır otoenflamatuvar fenotip (neonatal başlangıçlı ateş, döküntü, miyozit, ciddi pulmoner hipertansiyon, bazal ganglia kalsifikasyonu), periyodik enflamatuvar alevlenmeler, immün yetersizlik, PRAAS'ın kısmi fenokopisidir
IKBK9 (NEMO ekzon 5 delesyonu) (5 hasta)	IKBK9	XL	NA	Lökositler	Mutant NEMO'da ekzon 5 (NEMO-Δex5) bulunmadığı için TBK1'i bağlayamaz, NEMO-Δex5 IKKii'yi stabilize eder, tip1 IFN üretimini artırır	Ateş, döküntü, sistemik otoenflamasyon, enfeksiyonlar, merkezi sinir sistemi tutulumu, pannikülit, üveit, HSM, ektodermal displazi
TBK1 eksikliği (4 hasta)	TBK1	OR	NA	Lökositler	TNF ile indüklenen RIPK1-bağımlı hücre ölümü ile gelişen otoenflamasyon	Kronik sistemik otoenflamasyon (poliartrit, vaskülit, döküntü), nörobilşsel gelişimde gecikme

Tablo 7'deki **mutant genlerin toplam sayısı: 56. Yeni tanımlanmış bağlılığın doğuştan kusurları sayısı: 14** (OR GOF TMMEM173, LSM11, RNU7-1, CDC42, STAT2, ATAD3A, C2orf69, RIPK1, NCKAP1L, SYK, HCK1, PSMB9, IKBKG NEMO-Δex5, OR TBK1).

AGS: Aicardi-Goutières sendromu, **OR:** Otozomal resesif, **OD:** Otozomal dominant, **LOF:** Fonksiyon kaybettiren, **GOF:** Fonksiyon kazandıran, **NF-kB:** Nükleer faktör kapp, **IFN:** interferon, **HSM:** Hepatosplenomegali, **HLH:** Hemofagositik lenfositosis, **SLE:** Sistemik lupus eritematosuz, **LUBAC:** Lineer ubiquitin chain assembly complex *PSMB4, PSMB9, PSMA3 ve POMP genlerindeki varyantlar, birleşik heterozigot monogenik (PSMB4), digenik (PSMA3/PSMB8, PSMB9/PSMB4, PSMB4/PSMB8) ve OD monogenik (POMP) modellerinde CANDLE fenotipine benzer bir tabloya neden olduğu ileri sürülmüştür.

Tablo 8. Kompleman eksiklikleri

Kompleman Eksiklikleri					İlişkili özellikler
Hastalık	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	Laboratuvar özellikleri	
C1q eksikliği	C1QA		120550	CH50 hemolitik aktivite yok, klasik yolağın aktivasyonunda bozulma, apoptotik hücrelerin temizlenmesinde azalma	SLE, kapsüllü bakteri enfeksiyonları
	C1QB	OR	120570		
	C1QC		120575		
C1 eksikliği	C1R	OR	613785	CH50 hemolitik aktivite yok, klasik yolağın aktivasyonunda bozulma	SLE, kapsüllü bakteri enfeksiyonları, Ehler-Danlos fenotipi
C1r Periodontal Ehler-Danlos	C1R	OD GOF	613785	CH50 normal	Hiperpigmentasyon, cilt hassasiyeti
C1s eksikliği	C1S	OR	613785	CH50 hemolitik aktivite yok, klasik yolağın aktivasyonunda bozulma	SLE, kapsüllü bakteri enfeksiyonları, Ehler-Danlos fenotipi
C1s Periodontal Ehler-Danlos	C1S	OD GOF	613785	CH50 normal	Hiperpigmentasyon, cilt hassasiyeti
Komplet C4 eksikliği	C4A+C4B	OR	120810	CH50 hemolitik aktivite yok, klasik yolağın aktivasyonunda bozulma, komplet eksiklik için hem C4A hem de C4B'de biallelik mutasyonlar/delesyonlar/konversiyonlar gereklidir	SLE, kapsüllü bakteri enfeksiyonları, kısmi eksiklik yaygındır (kursor ya C4A'da ya da C4B'dedir) ve savunma mekanizmasında orta derecede etki görünmektedir
C2 eksikliği	C2	OR	217000	CH50 hemolitik aktivite yok, klasik yolağın aktivasyonunda bozulma	SLE, kapsüllü bakteri enfeksiyonları, ateroskleroz
C3 eksikliği (LOF)	C3	OR	120700	CH50 ve AH50 hemolitik aktivite yok, opsonizasyon ve hümmoral immün yanıtta bozulma	Enfeksiyonlar, glomerülonefrit
C3 GOF	C3	OD GOF	120700	Kompleman aktivasyonunda artış	Atipik hemolitik üremik sendrom
C5 eksikliği	C5	OR	120900		
C6 eksikliği	C6	OR	217050		
C7 eksikliği	C7	OR	217070	CH50 ve AH50 hemolitik aktivite yok, bakterisidal aktivitede bozulma	Dissemine neisserial enfeksiyonlar
C8α eksikliği	C8A	OR	120950		
C8γ eksikliği	C8G	OR	120930		
C8β eksikliği	C8B	OR	120960		
C9 eksikliği	C9	OR	120940	CH50 ve AH50 hemolitik aktivitesinde azalma, bakterisidal aktivitede bozulma	Dissemine neisserial enfeksiyonlara hafif yatkınlık
MAASP2 eksikliği	MAASP2	OR	605102	Lektin yolağının aktivitesinde bozulma	Piyojenik enfeksiyonlar, enflamatuvar akciğer hastalığı, otoimmünite
Fikolin 3 eksikliği	FCN3	OR	604973	Fikolin 3 yolağı ile kompleman aktivasyonu yok	Respiratuvar enfeksiyonlar, apseler
C1 inhibitör eksikliği	SERPING1	OD	606860	Kompleman yolağının spontan aktivasyonu ve C4/C2'nin tüketilmesi, kontakt sistemin spontan aktivasyonu ile yüksek moleküler ağırlıklı kininojenden bradikinin üretiminde artış	Hereditör anjiyoödem
Faktör B GOF	CFB	OD GOF	612924	Fonksiyon kazandıran mutasyon ile spontan AH50 artışı	Atipik hemolitik üremik sendrom
Faktör B eksikliği	CFB	OR	615561	Alternatif kompleman yolağının aktivasyonunda bozulma	Kapsüllü organizmalar ile enfeksiyonlar
Faktör D eksikliği	CFD	OR	134350		
Properdin eksikliği	CFP	XL	300383	AH50 hemolitik aktivite yok	Neisserial enfeksiyonlar

Faktör I eksikliği	CFI	OR	217030	Enfeksiyonlar, dissemine neisserial enfeksiyonlar, atipik hemolitik üremik sendrom, preeklemsi
Faktör H eksikliği	CFH	OR ya da OD	134370	Alternatif kompleman yolğunun spontan aktivasyonu ve C3 tüketimi
	CFHR1		134371	
	CFHR2	OR	600889	
Faktör H-ilişkili protein eksiklikleri	CFHR3	ya da	605336	Geç başlangıçlı atipik hemolitik üremik sendrom, dissemine neisserial enfeksiyonlar
	CFHR4	OD	605337	
	CFHR5		608593	
Trombomodulin eksikliği	THBD	OD	188040	Atipik hemolitik üremik sendrom
Membran kofaktör protein (CD46) eksikliği	CD46	OD	120920	Atipik hemolitik üremik sendrom, enfeksiyonlar, preeklemsi
Membran atak kompleks inhibitör (CD59) eksikliği	CD59	OR	107271	Hemolitik anemi, polinöropati
CD55 eksikliği (CHAPEL hastalığı)	CD55	OR	125240	Protein kaybettiren enteropati, tromboz

Tablo 8'deki **mutant genlerin toplam sayısı: 36, Yeni tanımlanmış bağışıklığın doğuştan kusuru sayısı: 0**

OR: Otozomal resesif, **OD:** Otozomal dominant, **LOF:** Fonksiyon kaybettiren, **GOF:** Fonksiyon kazandıran, **SLE:** Sistemik lupus eritematozus

Tablo 9. Kemik iliği yetersizlikleri

Hastalık	Kemik iliği Yetersizlikleri							İlişkili özellikler	Ana kategori	Alt kategori
	Genetik kusur	Kalıtım	OMIM	T hücreleri	B hücreleri	Diğer etkilenen hücreler				
Fankoni anemisi tip A	FANCA	OR	227650							
Fankoni anemisi tip B	FANCB	XLR	300514							
Fankoni anemisi tip C	FANCC	OR	227645							
Fankoni anemisi tip D1	BRCA2	OR	605724							
Fankoni anemisi tip D2	FANCD2	OR	227646							
Fankoni anemisi tip E	FANCE	OR	600901							
Fankoni anemisi tip F	FANCF	OR	603467							
Fankoni anemisi tip G	XRCC9	OR	614082							
Fankoni anemisi tip I	FANCI	OR	609053							
Fankoni anemisi tip J	BRIP1	OR	609054							
Fankoni anemisi tip L	FANCL	OR	614083	Normal ya da düşük	Normal ya da düşük	Hematopoetik kök hücre	Normal ya da düşük NK, merkezi sinir sistemi, iskelet, deri, kardiyak, gastrointestinal, ürogenital anomaliler, kromozomal yıkımda artış	İmmün yetersizlik ile birlikte kemik iliği yetersizliği	Fankoni anemisi	
Fankoni anemisi tip M	FANCM	OR	618096							
Fankoni anemisi tip N	PALB2	OR	610832							
Fankoni anemisi tip O	RAD51C	OR	613390							
Fankoni anemisi tip P	SLX4	OR	613951							
Fankoni anemisi tip Q	ERCC4	OR	615272							
Fankoni anemisi tip R	RAD51	OR	617244							
Fankoni anemisi tip S	BRCA1	OR	617883							
Fankoni anemisi tip T	UBE2T	OR	616435							
Fankoni anemisi tip U	XRCC2	OR	617247							
Fankoni anemisi tip V	MAD2L2	OR	617243							
Fankoni anemisi tip W	RFWD3	OR	617784							
MIRAGE (myelodisplazi, enfeksiyon, büyüme kistliliği, adrenal hipoplazi, genital fenotipler, enteropati)	SAMD9 OD GOF	617053	Bildirilmedi	Bildirilmedi	Hematopoetik kök hücre, miyeloid hücreler	İntrauterin büyüme geriliği, gonadal anomaliler, adrenal yetersizlik, kromozom 7 aberasyonlu MDS, enfeksiyonlara yatkınlık, enteropati, dalak yokluğu				
Ataksi pansitopeni sendromu	SAMD9L OD GOF	611170	Normal	Düşük	Hematopoetik kök hücre, miyeloid hücreler	MDS, nörolojik bulgular				

Gen	Gen ID	Referans	Gen Tipi	Normal Ya da Düşük	Hematopoetik kök hücre	Klinik Bulgular	Diğer Notlar
DKCX1	DKC1	XL	305300				
DKCA1	TERC	OD	127550				
DKCA2	TERT	OD	187270				
DKCA3	TINF2	OD	604319				
DKCA4	RTEL1	OD	616373	Normal ya da düşük			
DKCA5	TINF2	OD	268130				
DKCA6	ACD	OD	616553				
DKCB1	NOLA3	OR	224230				
DKCB2	NOLA2	OR	613987				
DKCB3	WRAP53	OR	613988	Normal ya da düşük			
DKCB4	TERT	OR	613989				
DKCB5	RTEL1	OR	615190	Düşük			
DKCB6	PARN	OR	616353	Normal ya da düşük			
DKCB7	ACD	OR	616553	Normal ya da düşük			
BMFS1 (SRP72 eksikliği)	SRP72	OD	602122	NA			
BMFS2	ERCC6L2	OR	615667	NA			
BMFS5	TP53	OD	618165	NA			
Coats plus sendromu	STN1		613129	Normal			
	CTC1	OR	617053	Bildirilmedi			
MECOM eksikliği	MECOM	OD	616738	Bildirilmedi			

Tablo 9'daki mutant genlerin toplam sayısı: 44. Yeni tanımlanmış bağışlığın doğuştan kusurları sayısı: 1 (MECOM1).

OR: Otozomal resesif, OD: Otozomal dominant, XL: X'e bali, LOF: Fonksiyon kaybettiren, GOF: Fonksiyon kazandıran, MDS: Miyelodisplastik sendrom, NK: Doğal öldürücü

Tablo 10. İmmün sistemin doğuştan kusurlarının fenokopileri

1. Somatik Mutasyonlar ile İlişkili Fenokopiler					
Hastalık	Genetik kusur	Dolaşımdaki T hücreleri	Dolaşımdaki B hücreleri	İmmünoğlobulinler	İlişkili özellikler/benzer Piy
Otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS-FAS)	TNFRSF6	Çift negatif αβ T (CD4-CD8) T hücrelerinde artış	Normal ancak CD5 ⁺ B hücreleri yüksek	Normal ya da yüksek	Splenomegali, lenfadenopati, otoimmün sitopeniler, bozuk lenfosit apoptozu/ ALPS-FAS (=ALPS tip IIm)
RAS-ilişkili otoimmün lökoproliferatif hastalık (RALD)	KRAS GOF	Normal	B hücreli lenfositoz	Normal ya da yüksek	Splenomegali, lenfadenopati, otoimmün sitopeniler, granülositoz, monositoz/ ALPS-benzeri
Kriyoprinopati (Muckle-Wells/CINCA/NOMID-benzeri sendrom)	NRAS GOF	Çift negatif αβ T (CD4-CD8) T hücrelerinde artış	Lenfositoz	Normal ya da yüksek	Splenomegali, lenfadenopati, otoantikorlar/ ALPS-benzeri
STAT5b somatik mutasyonlarına bağlı hiperezinoofilik sendrom	NLRP3	Normal	Normal	Normal	Ürtiker benzeri döküntü, artropati, nörolojik bulgular
VEXAS sendromu (vakuoller, E1 enzim, X'e bağlı, otoenflamatuvar, somatik)	STAT5b GOF	Normal	Normal	Normal	Eozinofili, atopik dermatit, ürtikeryal döküntü, ishal
TRR8 GOF (5 hasta)	UBA1 (XL)	Normal	Azalmış	Normal	Geç başlangıçlı tedavi dirençli enflamatuvar sendrom (ateş, sitopeni, displastik kemik iliği, interstisyel nefrit, kondirit, vaskülit)
	TLR8	CD4 ⁺ ve CD8 ⁺ T hücreleri ve efektor/hafıza alt grupları hafif yüksek, NK hücreleri düşük	B hücreleri normal, alt grupları düşük, pDH'ler düşük	Normal ya da düşük IgG, yüksek IgM/IgA	Ağır sitopeniler, HSM, lenfadenopati, tekrarlayan enfeksiyonlar, hiposelüler kemik iliği, proenflamatuvar sitokinlerde artış
2. Otoantikorla İlişkili Fenokopiler					
Hastalık	Otoantikorlar	Dolaşımdaki T hücreleri	Dolaşımdaki B hücreleri	İmmünoğlobulinler	İlişkili özellikler/benzer Piy
Kronik mukokutanöz kandidiyazis	Anti-IL-17 ve/veya -IL-22	Normal	Normal	Normal	Endokrinopati, kronik mukokutanöz kandidiyazis
Erişkin başlangıçlı mikobakteriyel yetkinlik ile seyreden immün yetersizlik	Anti-IFN-γ	Naif T hücrelerinde azalma	Normal	Normal	Mikobakteriyel, fungal, <i>Salmonella</i> , VZV enfeksiyonları/ MSMD ya da Kiy
Tekrarlayan deri enfeksiyonu	Anti-IL-6	Normal	Normal	Normal	Staflokokkal enfeksiyonlar/ STAT3 eksikliği
Pulmoner alveolar proteinosis	Anti-GM-CSF	Normal	Normal	Normal	Pulmoner alveolar proteinosis, kriptokokkal menenjit, dissemine nocardiosis/ CSF2RA eksikliği
Akkiz anjiyoödem	Anti-C1 inhibitör	Normal	Normal	Normal	Anjiyoödem/ C1 inhibitör eksikliği (herediter anjiyoödem)
Atipik hemolitik üremik sendrom	Anti-kompleman faktör H	Normal	Normal	Normal	atipik hemolitik üremik sendrom= Alternatif kompleman yolunun spontan aktivasyonu
Hipogammaglobulinemi ile timoma (Good sendromu)	Çeşitli sitokinlere karşı otoantikorlar	CD8 ⁺ T hücrelerinde artış	B hücreleri yok	Azalmış	İnvasif bakteriyel, viral ya da fırsatçı enfeksiyonlar, otoimmünite, saf kırmızı hücre aplazisi, liken planus, sitopeni, kolit, kronik ishal
Ağır COVID-19	Anti-tıp1 IFN-1 (IFNα, -IFNω)				Ağır, hayatı tehdit edici SARS-CoV-2 enfeksiyonu

Tablo 10'daki **durumların toplam sayısı**: 15 (7 somatik mutasyon ilişkili, 8 otoantikor ilişkili). **Yeni tanımlanmış fenokopilerin sayısı**: 3 (UBA1 ve TLR8 somatik mutasyonları ve Tip1 IFN'lara karşı otoantikorlar). **OR**: Otozomal resesif, **OD**: Otozomal dominant, **XL**: X'e bali, **GOF**: fonksiyon kazandıran, **NK**: Doğal öldürücü, **HSM**: Hepatosplenomegali, **MSMD**: Mikobakteriyel hastalıklara mendelian yetkinlik, **VAV**: Varicella Zoster virüsü, **Kiy**: Kombine immün yetersizlik, **PDH**: Plasmositoid dentritik hücre, **GM-CSF**: Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör, **NLRP**: NLR ailesi pirin alanı içeren

Kaynak

1. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *Journal of Clinical Immunology* 2022;42:1473-507.

İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları/Primer İmmün Yetersizlikler: Sınıflama, Genel Bakış ve Tarihçe

Prof. Dr. Yıldız CAMCIOĞLU

1. GİRİŞ

İmmünoloji alanında öncülük eden araştırmalar 19. yüzyılın sonu ve 20. yüzyılın başında Avrupa’da başlamış, mikroorganizmalar, edinsel ve doğal immünite, aktif ve pasif bağışıklama, primer immün yetersizlikler (PİY), DNA ve mendelyen kalıtım hakkında bilgilerimize ışık tutmuştur. PİY ile ilgili bilgilere kronolojik olarak bakıldığında, son 70 yılda baş döndürücü hızla geliştiği görülmektedir (Tablo 1) (1-9).

PİY alanında yapılan genetik ve hüresel düzeyde incelemeler, immün sistem hastalıklarının genetik eksikliklere olduğu kadar immün sistem denetimindeki yetersizliklere, immün gözetim ve arınmadaki uygunsuzluklara bağlı olarak da gelişebileceğini göstermiştir. Bu bağlamda immün sistem hastalıklarının kapsamı genişlemiş ve bilinen ‘primer immün yetersizlik’ tanımı yetersiz kalması nedeniyle 2017 yılından itibaren ‘immün sistemin doğuştan kusurları’ (IEI) teriminin kullanılması uygun görülmüştür (Şekil 1) (9).

2. TANIM VE NİTELİKLERİ

İmmün sistemde görev yapan bir veya birden fazla hücre, hücre insan lökosit antijeni (HLA), reseptörü veya ligandı, hücre işlevini sağlayan enzim, sitokin veya uyarı ileten proteinlerin, kompleman yapıtaşlarının doğuştan eksikliği, immün sistemin denetim yetersizliği, uygunsuz gözetim ve arınma bozuklukları, kemik iliği yetersizlikleri, sitokin ya da reseptöre karşı gelişen otoantikörlerin neden olduğu hastalıklar ‘IEI’ başlığı altında toplanmaktadır.

IEI heterojen hastalıklar grubudur, gen mutasyonundaki işlev kazanım (GOF) veya işlev kaybına (LOF) göre bireylerde farklı fenotipik belirtiler görülebilmektedir (1, 2, 4). IEI olan hastalarda enfeksiyonlar, atopi, otoimmünite, lenfoproliferasyon, otoenflamasyon ve malignite olasılığı sağlıklı bireylere göre daha yüksektir. Bu hastalıklar nadir hastalıklar grubunda yer almakta olup toplumda 1/1000 - 1/5000 canlı doğumda görülmektedir, ancak akraba evliliği sık olan topluluklarda görülme sıklığı artmaktadır. Sadece çocukluk çağında değil her yaş döneminde hastalık saptanabilmekte ve eşlik eden hastalıklara bağlı olarak yaşam süresi kısalabilmektedir. Genetik incelemelerdeki gelişmeler hastalıkların genetik ve fenotipik olarak tanımlanmasına, destek tedavilerinin yanı sıra inhibitör moleküller, biyolojik ajanlar, gen tedavisi ve monoklonal antikörler gibi yeni tedavi seçeneklerinin kullanılmasına katkı sağlamıştır (10-13).



Şekil 1. İmmün sistemin doğuştan kusurları kapsamı (9)

AKİY: Ağır kombine immün yetersizlik, **KİY:** Kombine immün yetersizlik, **İBD:** Enflamatuvar bağırsak hastalığı, **İLD:** İnterstisyel akciğer hastalığı

Tablo 1. İmmün sistemin doğuştan kusurları (IEI) alanında gelişmeler (1-10)

1952	Glanzmann ve Riniker ağır kombine immün yetersizlik klinik bulgularını, Kostman ağır konjenital nötropeni'yi tanımladı.
1952	Bruton agammaglobulinemiyi ve immünoglobulin tedavisini tanımladı.
1953	Agammaglobulinemiye eşlik eden lenfatik doku atrofisi tanımlandı (Janeway, Apt & Gitlin, Hitzig).
1959	Fatal kronik granulomatoz hastalık (Bridges, Berendes & Good) tanımlandı.
1961	Hiper IgM sendromları (Rosen, Kevy, Merler, Janeway & Gitlin) tanımlandı.
1963	X'e bağlı genetik geçiş tanımlandı.
1964	Gell & Coombs aşırı duyarlık yanıtlarını tanımladı.
1965	T ve B hücrelerinin tipik nitelikleri belirlendi (Cooper, Peterson/Good).
1966	Kompleman yapıtaşları belirlendi (Klemperer Woodworth, Rosen & Austen).
1965-1968	Kombine immün yetersizliklerde allogenik kemik iliği transplantasyonu uygulandı (Gatti, Meuwissen, Allen, Hong & Good).
1972	İmmün yanıtta T ve B hücrelerinin işlevleri ortaya çıkarıldı. Önemli immün yetersizlikler tanımlanmaya başlandı. ADA ve PNP eksikliği tanımlandı (Giblett, Anderson, Cohen, Pollara & Meuwissen).
1970-1980	CD4 ve CD8 T hücrelerinin varlıkları ve işlevleri, yetersiz olduklarında ortaya çıkan hastalıklar belirlendi.
1981	İntravenöz immünoglobulin (IVIG) tedavisi Amerika Birleşik Devletlerinde ilk kez FDA onayı aldı ve hipogammaglobulinemi ile seyreden immün yetersizliklerin tedavisinde önerildi.
198	ADA eksikliğinde enzim replasman tedavisi (ERT) uygulandı.
1997	DiGeorge Sendromunda ilk timüs transplantasyonu yapıldı.
2011	Primer immün yetersizliğe neden olan 191 gen belirlendi.
2014	Teknolojik 'tüm ekzom/genom dizileme' (WES/WGS) yöntemi geliştirildi ve paralel olarak primer immün yetersizliğe neden olan 240 gen saptandı.
2014	Doğal katil hücrelerin etkinleşmeleri ve işlevlerinde IL-12 ve IL-15'in önemi belirlendi.
2014	Ağır kombine immün yetersizliklerde, yenidoğan taraması sayesinde çok erken tanı konulması sağlanarak kemik iliği nakli (KİT) ile erken tedavi şansı doğdu. Erken yaşta, optimal hazırlama rejimi düzenlenerek yapılan KİT sonuçları çok başarılı oldu.
2015	Uluslararası İmmünoloji Dernekleri Birliği (IUIS), PIY Uzmanlar Komitesi tarafından 300'den fazla PIY ve 34 yeni gen eksikliği belirlendi (Picard C ve ark. 2015).
2016	EMA ADA eksikliğinde gen tedavisini onayladı.
2017	PIY sınıflaması, 320 tek-gen bozukluğu, immün sistemin doğuştan kusurları tanımı kabul oldu (Bousfiha A ve ark. 2018).
2019	IEI sınıflaması, 65 tek-gen bozukluğu, 430 rahatsızlık (Bousfiha A ve ark.2020) olarak güncellendi.
2022	İmmün sistemin doğuştan kusurları sınıflaması 55 yeni tanımlanan monogenik rahatsızlık ve bir fenokopya, toplam 485 rahatsızlık olarak güncellendi (Tangye SG ve ark. 2022, Bousfiha A ve ark. 2022).

3. İMMÜN SİSTEMİN DOĞUŞTAN KUSURLARININ SINIFLAMASI

Moleküler düzeydeki çalışmalar, 1952 yılından beri 485 genetik ve klinik olarak tanımlanan IEI (ya da primer immün yetersizlikler) ortaya koymuştur (1-5, 13, 14). Son yıllarda, immün sistem hastalıklarına yol açan yeni genlerin yanı sıra birçok varyantlar da bildirilmesine rağmen, immünoloji uzmanlarından oluşan komite sadece klinik ve

laboratuvar verileri ile kanıtlanmış gen bozukluklarını sınıflamaya koymaktadır. Bilimsel dergilerde yayınlanan ve fenotipik veriler ile genotipi saptanan her olgu sınıflamaya alınmamaktadır.

Sınıflama iki yıl arayla klinik ve laboratuvar veriler gözden geçirilerek, Uluslararası İmmünoloji Dernekler Birliği (IUIS), IEI uzmanlık komitesi tarafından, güncellenmektedir (14). Uzmanlık komitesinin amacı, IEI konusunda far-

kındalık yaratmak, hastalığın tanısını hızlandırarak, hastada uygun tedaviye başlanmasını sağlamaktır. Bu nedenle komite, yayınlanan sınıflandırmaya ek olarak hekimlerin yatak başında hastalara tanı ve tedavi yaklaşımını kolaylaştıran 'Fenotipik Sınıflama' da yayınlamaktadır (15).

2022 yılında yenilenen fenotipik sınıflamaya göre, hastalıklar 10 başlık altında toplanarak, 55 yeni tanımlanan monogenik rahatsızlık ve otoantikörlerin neden olduğu bir fenokopya eklenmiştir (Sınıflama Tablosu: Bölüm 1) (15).

İmmün sistem rahatsızlıklarına neden olan yeni genlerin keşifleri, hekimlerin bu hastalıkların moleküler, hücresel ve immünopatogenezi hakkında daha iyi immünolojik bilgiye ulaşmasını sağlamış, hastalıkların tanı ve tedavi olasılığını artırmıştır (5, 12). Monogenik immün sistemin doğuştan kusurları, 1980-2022 yılları arasında sayısal olarak hızlı bir artış göstermiştir (14).

Ağır kombine immün yetersizlikler (AKİY), çocukluk çağının acil hastalıkları arasında yer almaktadır. Fırsatçı enfeksiyonlar gelişmeden önce erken tanı, tedavi açısından büyük önem taşımaktadır. Yaşamın ilk 6 ayı içinde semptomlar başlamaktadır. Gram (-) mikroorganizmalar, aşılama sonrası dissemine BCG'itis, kandidiyazis, aspergillus, *P. jirovecii* pnömonisi, Cytomegalo virüs (CMV), Parainfluenza virüs, Adenovirus, RSV, dissemine varisella, aşı ilişkili paralitik polio ve Molluscum contagiosum sık görülen enfeksiyonlardır. Hastalarda genellikle diyare, malabsorbsiyon yakınmaları söz konusudur. Erken yaşta başlayan eritematöz makülopapüler döküntüler olduğunda graft versus host hastalığı (GVHD) düşünülmelidir. Timus hipoplazik ya da aplazik olabilmekte, lenf düğümü ve tonsiller saptanamamakta ve hepatosplenomegali olabilmektedir.

Tipik laboratuvar bulguları, lenfopeni (0-1 yaş arası < 3000/mm³, bir yaş üstü < 1500/mm³), CD3⁺ T hücre sayısı < %20 ve hipogammaglobülinemidir (IgG <150mg/dl). Hayatın ilk 3-4 ayında tanı konulduğunda KİT başarısı %95'e yükselmektedir (1-4, 7, 16).

Antikor eksiklikleri, IEI içinde en sık görülen gruptur. B lenfosit gelişiminin farklı evrelerde durabildiği veya işlevlerinin bozulabilmesi nedeniyle klinik belirtiler oldukça değişkenlik göstermektedir. Kanda B lenfosit sayısının çok düşük veya normal bulunması ve serumda immünooglobulinlerin düşük veya yetersiz antikor üretimi tipik laboratuvar bulgusudur. Anneden plasenta aracılığı ile geçen IgG ler hayatın altıncı ayına kadar bebeği enfeksiyonlara karşı

kısmen korumakta, bu nedenle klinik belirtiler genellikle 6 aylıktan sonra başlamaktadır. Üst ve alt solunum yolları ve gastrointestinal sistem enfeksiyonları sık görülmekte ve kronik sorunlara yol açmaktadırlar. Pnömonokok, *H. influenza*, *S. aureus* ve pseudomonas, sepsis, menenjit ve septik artrite yol açan etkenlerdir. Kronik Giardia lamblia enfeksiyonu görülebilmekte, canlı polio aşısı (sabin) poliomyelitte yol açabilmekte ve hastaların çoğunda otoimmün/enflamatuvar hastalık gelişebilmektedir. Bu hastalarda tonsiller görülemeyecek kadar küçük olabilir ve lenf bezleri palpe edilemeyebilir (17, 18).

KAYNAKLAR

1. Notarangelo LD, Bacchetta R, Casanova JL, Su HC. Human inborn errors of immunity: An expanding universe. *Sci Immunol* 2020;5(49):eabb1662.
2. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. The ever-increasing array of novel inborn errors of immunity: An interim update by the IUIS committee. *J Clin Immunol* 2021;41:666-79.
3. Casanova JL, Abel L. The genetic theory of infectious diseases: A brief history and selected illustrations. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2013;14:215-43.
4. Zhang SY, Jouanguy E, Zhang Q, Abel L, Puel A, Casanova JL. Human inborn errors of immunity to infection affecting cells other than leukocytes: From the immune system to the whole organism. *Curr Opin Immunol* 2019;59:88-100.
5. Fischer A, Provot J, Jais JP, Alcais A, Mahlaoui N; members of the CEREDIH French PID study group. Autoimmune and inflammatory manifestations occur frequently in patients with primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2017;140(5):1388-93.e8.
6. Castagnoli R, Delmonte OM, Notarangelo LD. Congenital and acquired defects of immunity: An ever-evolving story. *Pediatr Allergy Immunol* 2022;33 Suppl 27(Suppl 27):61-4.
7. Aykut A, Durmaz A, Karaca N, Gulez N, Genel F, Celmeli F, et al. Severe combined immunodeficiencies: Expanding the mutation spectrum in Turkey and identification of 12 novel variants. *Scand J Immunol* 2022;95(6):e13163.
8. Ochs HD, Petroni D. From clinical observations and molecular dissection to novel therapeutic strategies for primary immunodeficiency disorders. *Am J Med Genet A* 2018;176:784-803.
9. Murguia-Favela L. The expanding spectrum of primary immune defects. *Pediatr Ann* 2019;1;48(12):e489-e94.
10. Yamashita M, Inoue K, Okano T, Morio T. Inborn errors of immunity-recent advances in research on the pathogenesis. *Inflamm Regen* 2021;25;41(1):9.
11. Perez E. Future of therapy for inborn errors of immunity. *Clin Rev Allergy Immunol* 2022;63(1):75-89.

12. Meng Q, Sun H, Liu J. Precise somatic genome editing for treatment of inborn errors of immunity. *Front Immunol.* 2022;26:13:960348.
13. Szczawinska-Poplonyk A, Schwartzmann E, Bukowska-Olech E, Biernat M, Gattner S, Korobacz T, et al. The pediatric common variable immunodeficiency - from genetics to therapy: A review. *Eur J Pediatr* 2022;181(4):1371-83.
14. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1473-507.
15. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, Al-Herz W, et al. The 2022 update of IUIS phenotypical classification for human inborn errors of immunity. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1508-20.
16. Fischer A, Notarangelo LD, Neven B, Cavazzana M, Puck JM. Severe combined immunodeficiencies and related disorders. *Nat Rev Dis Primers* 2015;29:1:15061.
17. Marsh RA, Orange JS. Antibody deficiency testing for primary immunodeficiency: A practical review for the clinician. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2019;123(5):444-53.
18. Peng XP, Caballero-Oteyza A, Grimbacher B. Common variable immunodeficiency: More pathways than roads to Rome. *Annu Rev Pathol* 2023;18:283-310.

İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları/Primer İmmün Yetersizlik Hastalarında Tanısal Yaklaşım: Hangi Durumda Hangi Test/Testleri İsteyelim?

Prof. Dr. Elif KARAKOÇ AYDINER

1. GİRİŞ

Çocukluk çağında yaşamın diğer dönemlerine göre daha sık enfeksiyon geçirmek ve hastalanmak doğaldır. Bu durum çocukluk çağının fizyolojisinden kaynaklanmaktadır. Yaşla birlikte bağışıklık sisteminin gerek sayı gerekse işlev olarak gelişmesiyle bu durumun ortadan kalkması beklenmektedir. Sık hastalanan çocuklarda yapılan değerlendirmeler sonucunda bu çocukların yarısından çoğunun fizyolojik gelişimini sürdüren sağlıklı çocuklar olduğu, bir kısmının ise kalabalık ortamlarda enfeksiyon maruziyeti, allerjik yatkınlık, ikinci el sigara içiciliği gibi nedenlerle sık hastalandığı anlaşılmaktadır. Benzer şekilde erişkinler de yaşamları sırasında sık ve/veya ağır enfeksiyonlar ya da hastalıklar geçirebilmekte ve bu nedenle sık hastane başvuruları olabilmektedir. Ancak günümüzde bu durum başka sistemlerdeki hastalıklara, kullanılan ilaçlara veya malignitelere bağlı yani sekonder olabilirken bazı hastalarda primer olarak doğuştan bağışıklık kusuru saptanabilmektedir. Özellikle yineleyen enfeksiyonlar, olağan dışı veya ağır enfeksiyonlar geçiren ya da enfeksiyon sonrası ciddi komplikasyonlar gelişen hastalar immün yetersizlik açısından mutlaka incelenmelidir (1, 2).

2. NE ZAMAN İMMÜN YETERSİZLİK DÜŞÜNELİM?

Bağışıklık sisteminde görevli herhangi bir elemanın ya da hücre grubunun sayısal ya da işlevsel geçici ya da kalıcı kusuru ile ortaya çıkan tablo immün yetersizlik olarak tanımlanmaktadır (1, 2). İmmün yetersizlik kronik hastalıklar (diabetes mellitus-DM, kronik böbrek yetersizliği-KBY, malnütrisyon), kanserler, kemoterapiler, biyolojik ajanlar,

steroid, prematürite, bazı enfeksiyonlar (HIV), ilaçlar gibi nedenlere bağlı ortaya çıkıyorsa sekonder immün yetersizlik olarak isimlendirilmektedir (2). Öte yandan immün yetersizlik kliniği doğuştan gelen nedenlerle oluşuyorsa primer olarak tanımlanmaktadır (1). Primer immün yetersizlik (PİY) hastalıkları diğer bir deyişle immün sistemin doğuştan kusurları (IEI) 450'den fazla farklı alt hastalıktan oluşmaktadır. Ortalama 1/200 ile 1/10.000 arasında görülen alt tipleri olmakla beraber çok daha nadir olan IEI de vardır (2). Pek çok immün yetersizliğin genetik kalıtımla aktarılması nedeniyle de akraba evliliği sık olan ülkemizde dünyada rastlanandan çok daha sık karşımıza çıkmaktadır. Çocuklarda klasik immün yetersizlik uyarıcı bulguları aşağıdaki 10 klinik soru ile taranması önerilmektedir (1).

2.1. Çocuklarda Klasik İmmün Yetersizlik Uyarıcı Bulguları

- Bir yılda 8'den fazla üst solunum yolu enfeksiyonu var mı?
- Bir yılda 2'den fazla ciddi sinüs enfeksiyonu var mı?
- İki aydan uzun süren ve etkisiz antibiyotik kullanımı var mı?
- Bir yılda 2'den fazla pnömoni var mı?
- Büyüme ve gelişme geriliği var mı?
- Yineleyen cilt, derin doku veya organ apseleri var mı?
- Bir yaşından sonra ağızda veya deride süregelen mantar enfeksiyonu var mı?
- Enfeksiyonu iyileştirmek için damar içi antibiyotik kullanımı gereksinimi var mı?

- İki'den fazla derin doku yerleşimli enfeksiyon var mı?
- Ailede primer immün yetersizlik öyküsü var mı?

İki veya daha fazla soruya evet cevabı alınıyorsa bir çocuk klasik immün yetersizlik uyarıcı bulgusu var kabul edilerek birinci basamak testler ile tetkik edilmelidir (1, 2). Bu tarama envanteri sadece sık enfeksiyona yatkınlıkla seyreden immün yetersizlikleri tanımakta özgün olduğundan bazı immün yetersizlikleri yakalamada ve erişkinlerde yetersiz kalmaktadır. Dolayısı ile benzer bir envanter erişkinlerde klasik immün yetersizlik uyarıcı bulguları adı altında klinik tarama için geliştirilmiştir (1).

2.2. Erişkinde İmmün Yetersizlik Uyarıcı Bulguları

- ≥ 2 /yıl otit
- ≥ 2 /yıl sinüzit (allerji yokluğunda)
- 1 yılda 1'den fazla pnömoni
- Kilo kaybına neden olan kronik ishal
- Tekrarlayan viral enfeksiyonlar (siğil, herpes, kondilom)
- Tekrarlayan parenteral antibiyotik kullanımı ile iyileşen enfeksiyonlar
- Tekrarlayan derin cilt ya da organ apseleri
- Persistan cilt ya da ağız içinde mantar enfeksiyonu
- Tüberküloz dışı mikobakterial enfeksiyonlar
- Ailede primer immün yetersizlikli birey

Erişkin ve çocuklarda enfeksiyon dışı ancak immün yetersizlik düşündüren bazı klinik tabloların varlığında altta yatan bir immün yetersizlik mutlaka akılda tutulmalıdır. Bunlar klasik olmayan immün yetersizlik uyarıcı bulguları olarak tanımlanmalı ve taranmalıdır (1, 2).

2.3. Klasik Olmayan İmmün Yetersizlik Uyarıcı Bulguları

- Çoklu otoimmünite
- Ağır egzema
- Neonatal eritrodermi
- Lenfoproliferasyon
- Hemofagositoz
- Granülomlar
- Erken başlangıçlı kolit/enflamatuvar bağırsak hastalığı
- Ağır çoklu allerjiler
- Otoenflamasyon

- Persistan viral enfeksiyonlar
- Canlı aşılama sonrası sistemik enfeksiyon
- Ebstein-Barr virüs (EBV) ilişkili malinite, lenfoproliferasyon, hemofagositoz
- Kemik iliği nakli olmaksızın graft versus host hastalığı
- Ailevi mikobakteri enfeksiyonlarına yatkınlık

3. HANGİ HASTADA HANGİ İMMÜN YETERSİZLİK OLABİLİR?

Hangi hastada immün yetersizlik düşünelim ya da hastada hangi immün yetersizliği düşünelim ve tetkik yapalım sorusunun cevabı detaylı öykü, tepeden tırnağa fizik muayene, soy ağacı çizimi ve birinci basamak laboratuvar testleri sonrasında oluşturulacak olan problem listesi ile ortaya konulabilmektedir. Aşağıdaki tabloda immün sistemin elemanlarının sayısal ve/veya işlevsel yetersizlikleri hâlinde ortaya çıkan bulgular ve ortak özellikleri özetlenmektedir (Tablo 1).

4. İMMÜN YETERSİZLİKLERİN GÜNCEL SINIFLANDIRMASI

Günümüzde primer immün yetersizlikler 485 farklı hastalıktan oluşmaktadır ve immün sistemin doğuştan kusurları olarak adlandırılarak genetik tanılara yönelik yapılan sınıflandırmalar ön plana çıkmaktadır (3). Ancak gerek monogenik immün yetersizliklere ek olarak önemli sayıda monogenik olmayan ve günlük pratikte sıkça karşılaşılan bazı antikör eksikliklerinin de varlığı gözetildiğinde klinik olarak aşağıdaki şekilde ana kategorilere ayrılmaktadır (4). Bunlara ek olarak Avrupa İmmünoloji Dernekleri Birliği (ESID) sık rastlanan immün yetersizlik hastalıklarına yönelik klinik tanı kriterleri belirleyerek genetik testlerin gerekli ya da mümkün olmadığı koşullar için yol gösterici kılavuzlar yayınlamakta ve bunları belirli aralıklarla güncellemektedir (5). Sonuç olarak, günümüzde 10 ana kategoride klinik ve genetik açıdan primer immün yetersizlikler ya da immün sistemin doğuştan kusurları sınıflandırılmakta ve basamaklı olarak tetkikleri planlanmaktadır (3, 4) (Tablo 2).

5. LABORATUVAR TESTLERİ VE SEÇİMİ

İmmün yetersizlik şüphesi olan hastada laboratuvar testleri basamaklı olarak, ön planda düşünülen alt kategoriye özgün ve uzmanlık alanına uygun olarak planlanmalıdır. Değerlendirmeler ise mutlaka yaşa göre sağlıklı kontrollerden elde edilmiş referans veri ile karşılaştırmalı olarak

Tablo 1. Ana kategorilerde yer alan immün sistem yetersizliklerinin klinik özellikleri

	Antikor eksiklikleri	Hücresele immün yetersizlikler	Fagositer yetersizlikler	Kompleman eksiklikleri
Klinik özellikler	6 aydan sonra başlayan tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar, ishaller	İlk 6 ayda persistan ağır enfeksiyonlar, büyüme gelişme geriliği	Tekrarlayan apse, sepsis, granülomlar, gingivitis	Tekrarlayan menenjit ya da otoimmünite, vaskülit, protein kaybettiren enteropati
Virüsler	Enterovirüsler	Tüm virüsler (EBV, CMV)	-	-
Bakteriler	<i>Streptokokus pneumoniae</i> , <i>Hemafilus influenzae</i> , <i>Moraksella kataralis</i> , <i>Psödomonas aeruginosa</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Mikoplazma pneumoniae</i>	Soldakilere ek olarak, <i>Listeria monositogenes</i> , <i>Salmonella tifi</i> , enterik bakteriler	<i>Stafilokokus aerius</i> , <i>Psödomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella tifi</i> , <i>Nocardia astroides</i>	C5-9 eksikliklerinde <i>Neisseria meningitidis</i>
Mikobakteriler	-	Non-tüberküloz mikobakteriler (BCG dahil)	Non-tüberküloz mikobakteriler (BCG dahil)	-
Mantarlar	-	Kandida, Aspergillus, Histoplazma	Kandida, Aspergillus	-
Protozoa	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Pnomoistis jiroveci</i> , <i>Criptosporidyum parvum</i>	-	-

EBV: Epstein Barr virüsü, CMV: Cytomegalo virüs, BCG: Bacillus Calmette-Guérin

Tablo 2. Primer immün yetersizliklerde ana klinik fenotipik kategoriler

Fenotip No	Kategori
1	Hücresele ve hümmoral immüniteyi etkileyen immün yetersizlikler
2	Sendromik özellikleri olan veya ilişkili kombine immün yetersizlik
3	Antikor eksikliği baskın primer immün yetersizlikler
4	İmmün disregülasyon hastalıkları
5	Fagositlerin sayısı ya da fonksiyonlarındaki konjenital kusurlar
6	Doğal immünite kusurları
7	Otoinflamatuvar yetersizlikleri
8	Kompleman eksiklikleri
9	Kemik iliği yetmezlikleri
10	İmmün sistemin doğuştan kusurlarının fenokopileri

her bir hasta için tek tek yapılmalıdır. Burada detaylandırılan algoritma ve öneriler için Barış ve ark tarafından yakın zamanda yayınlanan derleme esas alınmıştır (2).

İmmün yetersizlik şüphesi olan hastalarda en sık olası sebep antikor eksiklikleri olduğundan birinci basamak değerlendirilmede öykü, fizik muayene, tam kan sayımı ve

Kutu 1: Birinci basamak laboratuvar testleri ve genel yaklaşım

Olağan etkenlerle tekrarlayan, sık ve/veya ağır enfeksiyonlar	
Çocuk hastalar için	Erişkin hastalar için
Öyküde klasik ya da klasik olmayan uyarıcı bulguların varlığında ve/veya Tablo 1'deki etkenlerle enfeksiyonların varlığında	Öyküde klasik ya da klasik olmayan uyarıcı bulguların varlığında ve/veya Tablo 1'deki etkenlerle enfeksiyonların varlığında
Fizik muayenede tonsil yokluğu, işitme kaybı, timpan membran perforasyonu, dismorfik bulgular, akciğerde dinleme bulguları, lenfoproliferasyon, büyüme geriliği, çomak parmak, albinizm ve gümüş rengi saç, göbek kordonunun geç düşmesi varsa	Fizik muayenede tonsil yokluğu, işitme kaybı, timpan membran perforasyonu, dismorfik bulgular, akciğerde dinleme bulguları, lenfoproliferasyon, büyüme geriliği, çomak parmak varsa
Laboratuvar testleri	
Tam kan sayımı ve periferik yayma IgG, IgA, IgM ve IgE (yaşa uygun referanslara göre) (6)	

immünoglobulinlerin (IgG, IgA, IgM, IgE) sayısal ölçümleri yer almaktadır.

Tam kan sayımı ve periferik yayma günlük pratikte pediatri sıklıkla kullanılan ancak immün yetersizlik tanısındaki önemi açısından vurgulanması gereken bir testtir. Lenfopeni ve nötropeni tanısında altın standart olması ve doğrudan

taniya yönlendirmesi açısından çok değerlidir. Yaşamın ilk 1 yılında mutlak lenfosit sayısının $3000/\text{mm}^3$ altında olması lenfopeni olarak tanımlanmaktadır ve yukarıdaki tabloda belirtilen klinik bulguların varlığında aksi ispat edilene kadar hasta ağır kombine immün yetersizlik olarak kabul edilip acilen pediatrik immünoloji ve allerji kliniğine konsulte edilmelidir. Bir yaş üzeri hastalarda mutlak lenfosit sayısının $1500/\text{mm}^3$ altında olması kombine/hücrel immün yetersizlikler açısından uyarıcı olmalıdır. Mutlak nötrofil sayısının yaşam boyu $1500/\text{mm}^3$ altında olması konjenital nötropeniler, $500/\text{mm}^3$ altında olması ise ağır konjenital nötropeni açısından uyarıcıdır (2).

Antikor eksiklikleri tüm immün yetersizliklerin %60 kadarını oluşturmaktadır. Antikor kusurlarına bağlı farklı immün yetersizliklerde antikor izotiplerinin izole ya da birlikte eksiklikleri saptanabileceği gibi bazı izotipler normal hatta normalden yüksek saptanabileceği, normal antikor seviyelerinde fonksiyonel antikor kusurlarının olabileceği unutulmamalıdır. Yaşamın ilk 6 ayında ölçülen IgG değerleri anneden plasmantal yolla geçen IgG olduğundan normal saptanması immün yetersizlikleri dışlamamaktadır. Plasmantal IgG geçişi antenatal 32. haftada gerçekleştiğinden prematüritenin kendisi bir hipogamaglobuline-

mi nedeni olarak karşımıza çıkabilmektedir. Ayrıca IgG alt gruplarının fizyolojik gelişimleri nedeniyle 3 yaştan önce değerlendirilmesi yanlış yönlendirebileceğinden uygun değildir. İmmün yetersizlik şüphesi olan hastada immüno-globulinler değerlendirilirken serum IgE seviyesi mutlaka dahil edilmelidir. İlaçlar, enfeksiyonlar, renal ya da gastrointestinal sistemin protein kaçakları da sekonder hipogamaglobulinemiye neden olduğundan bu durumlar değerlendirme öncesi dışlanmalıdır. Yaşa göre immüno-globulinlerin alt ve üst sınırlarına erişmek için yakın zamanda ülkemizde yapılan bir çalışmadan elde edilen veriler referans olarak kullanılmaktadır (6).

Primer immün yetersizlik tanısında kullanılan ikinci basamak testlere lenfosit alt grup analizi dahildir. Lenfosit alt grup analizinde öncelikle T, B ve NK hücreleri, CD4 (yardımcı) ve CD8 (sitotoksik) T hücre oranları ve aynı gün yapılan tam kan sayımı eşliğinde bu hücrelerin mutlak sayıları hesaplanmaktadır. Bu test özellikle ağır kombine immün yetersizlik tanısını kesinleştirmek ve immün fenotipi belirlemek için aynı günde sonuçlandırılmaktadır. Bu analizlerin yorumları klinik bulgular ve yaşa göre alt ve üst sınırların elde edildiği referans veriler eşliğinde yapılmaktadır (7).

Kutu 2: İkinci basamak laboratuvar testleri ve uzman hekimler için yaklaşım

Birinci basamaktaki yaklaşıma ek olarak	
Çocuk hastalar için	Erişkin hastalar için
Tekrarlayan derin cilt ya da organ apseleri (karaciğer, akciğer vb) ve/veya ≥ 2 derin enfeksiyon (menenjit, septisemi vb) ve/veya <i>Pnomoistis jiroveci</i> , yaygın CMV, kronik EBV enfeksiyonu varlığında diğer atopik ya da fonksiyonel hastalıkları dışlayarak	Tekrarlayan derin cilt ya da organ abseleri (karaciğer, akciğer vb) ve/veya ≥ 2 derin enfeksiyon (menenjit, septisemi vb) ve/veya <i>Pnomoistis jiroveci</i> , yaygın CMV, kronik EBV enfeksiyonu varlığında diğer atopik ya da fonksiyonel hastalıkları dışlayarak
Laboratuvar testleri	
Tam kan sayımı ve periferik yayma	
IgG, IgA, IgM, ve IgE (yaşa uygun referanslara göre) (6)	
Lenfosit alt grup analizi ile T, B, NK hücrelerin değerlendirilmesi: CD3, CD4, CD8, CD19, CD16-56 pozitif lenfositler (yaşa uygun referanslara göre) (7)	
Izohemagglutininler (A ve B kan grubu antijenlerine karşı IgM antikor)	
Solunum ve gastrointestinal viral paneller (PCR veya Antijen testleri)	
HIV testi	
Mikrobiyolojik testler (bakteriyal, mantar ve mikobakteriyel)	
Enfeksiyon bölgesine radyolojik görüntüleme	
Enfeksiyon bölgesinden örnek alınması	
Ter testi (kistik fibrozis dışlamak için)	
Aşılarla karşı özgün antikor yanıtları (hepatit B, difteri, tetanos, <i>Haemophilus influenzae</i> B)	Aşılarla karşı özgün antikor yanıtları (hepatit B, difteri, tetanos, <i>Haemophilus influenzae</i> B, meningokok, pnömokok)
Saçın mikroskopik yapı ve pigment incelemesi	
Nazal mukozal biyopsi (immutile silya sendromunu dışlamak için)	

CMV: Cytomegalo virüs, **EBV:** Epstein-Barr virüs, **PCR:** Polimeraz zincir reaksiyonu, **HIV:** İnsan immün yetersizlik virüsü

Tablo 3. Antikor eksikliklerinde laboratuvar testlerinin yorumlanması ve ayırıcı tanısı

IgG	IgA	IgM	IgG ₁₋₄	Aşı yanıtı	B hücre	Olası tanı
N	N	N	N	N	N	Normal
N	N/D	N	N	D	N	Spesifik antikor eksikliği
N	N	N	≥ 1 D	D	N	IgG alt grup eksikliği
N	Yok	N	N	N/D	N	Selektif IgA eksikliği
N	Yok	N	≥ 1 D	D	N	Selektif IgA eksikliği ve IgG alt grup eksikliği
D	N	N		N	N	Sınıflandırılmayan ya da süt çocukluğunun geçici hipogamaglobulinemisi
D	N/D	N/D		N	N/D	Sınıflandırılmayan ya da süt çocukluğunun geçici hipogamaglobulinemisi
D	D	N/Y		D	N	Hiper IgM sendromu
D	D	N/D		D	N/D	Yaygın değişken immün yetersizlik
Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Agamaglobulinemi

N: Normal, **D:** Düşük, **Y:** Yüksek

Antikor eksikliklerine yönelik ise 2. basamakta sayısal immüno globulin değerlendirilmesine ek olarak özgün antikor üretimi, B lenfositler ve gerekli durumlarda sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücreler (CD19⁺CD27⁺IgD⁻ B hücreler) kontrol edilmektedir. Bu veriler ışığında sık rastlanan antikor eksikliklerine yaklaşımda ekteki tablonun kullanılması önerilmektedir (Tablo 3).

İleri değerlendirme ya da 3. basamak testler klinik immünoloji ve allerji uzmanı tarafından yukarıda belirtilen 10 fenotipten, hasta ile en uyumlu olana öncelik verilerek yapılmalıdır. Bu ileri analizlere B hücre alt grupları (naif ve sınıf dönüşümü yapmış hafıza B hücreler, transiyonel B hücreler) CD4 ve CD8 hücre alt grupları (naif ve hafıza hücreler) HLA-DR ekspresyonu, yeni timik göçmen (RTE) T hücreleri, hücre içi/yüzeyi sitokin/protein boyama, oksidatif patlama, apoptoz testi, nitrobluetetrazolium testi (NBT), CH50 ve AH50 testi, lenfosit proliferasyon testi, T hücre reseptör ekspresyon halkaları (TREC) analizi, mutasyon analizi (sanger, egzom ya da genom dizileme) vb örnek olarak verilebilir.

6. İMMÜN YETERSİZLİKLERDE TANISAL YAKLAŞIM ÖZETİ

- Hastada sık tekrarlayan enfeksiyonlara sebep olabilecek durumlar dışlanarak primer veya sekonder immün yetersizlikler açısından değerlendirme yapılmalıdır.
- Sekonder immün yetersizlik yapan nedenler değerlendirilmeli ve öncelikle tabloya neden olan asıl hastalık uygun şekilde yönetilmelidir. Ön planda primer immün yetersizlik düşünülüyorsa algoritmalar esas alınarak ayırıcı tanı yapılmalıdır (Şekil 1).

- Primer immün yetersizlikler kalıtsal olanlarla birlikte 485 farklı hastalıktan oluşmaktadır. En sık rastlanan immün yetersizlikler antikor eksiklikleridir.
- Monogenik doğuştan bağışıklık kusurları nadir hastalıklardır ancak ülkemizdeki akraba evliliği oranı nedeniyle daha sık görülmektedir.
- Primer immün yetersizlik uyarıcı bulguları klasik ve klasik olmayan olarak ayrılmaktadır.
- Primer immün yetersizlikler klasik uyarıcı bulguları tekrarlayan, fırsatçı, tedaviye dirençli, komplike ya da ağır enfeksiyonlar olarak sıralanmaktadır.
- Primer immün yetersizlikler klasik olmayan uyarıcı bulgularından otoimmünite, malinite, egzama, lenfoproliferasyon, hemofagositoz, granülom, kolit/enflamatuvar bağırsak hastalığı, ağır allerjiler, otoenflamasyon, persistan viral enfeksiyonlar, canlı aşı suşu ile sistemik enfeksiyon akılda tutulmalıdır.
- Ailede immün yetersizlik öyküsü ya da ilk 1 yaş içinde enfeksiyon nedeniyle kaybedilen çocuk öyküsü varlığı immün yetersizlikler açısından tek başına uyarıcı değildir.
- İmmün yetersizlik şüphesi olan hastada öykü, fizik muayene ve soy ağacı ile problem listesi yapılarak klinik fenotip belirlenmelidir.
- Klinik fenotipe göre laboratuvar testleri basamaklı, olası ayırıcı tanıya ve uzmanlık alanına özgü planlanmalıdır.
- Tam kan sayımı ve periferik yayma immün yetersizlik tanısında birinci basamak testlerde yer almaktadır.

Kutu 3: Üçüncü basamaktaki laboratuvar testleri ve klinik immünoloji ve allerji uzmanı için yaklaşım**İkinci basamaktaki yaklaşıma ek olarak****Çocuk hastalar için****Erişkin hastalar için**

Mutasyon analizi (Sanger, hedeflenmiş gen panel, tüm ekzom, tüm genom dizileme)

Antikor eksiklikleri

IgG alt grupları (IgG1, IgG2, IgG3 ve IgG4) (6)
 B lenfosit alt grupları (naif, CSB, transiyonel (CD24^{yüksek} CD38^{yüksek}), CD21^{düşük} CD38^{düşük} B) (7)
 Akan hücre ölçerle Bruton tirozin kinaz ekspresyonu (BTK)
 KREC analizi (8)
In vitro PBMC ya da B hücrelerde IgG sentezi (anti-CD40, IL-4 ile)

Hüresel immün yetersizlikler

T lenfosit alt grupları (naif, hafıza, DNT, RTE, CD3-TCR α/β ve γ/δ T) (7)
In vitro mitojenle (anti-CD3/CD28, PHA, PMA/IO) ve spesifik antijenle (kandida, tetanus toxoid) T lenfosit proliferasyonu
 Geç tip hipersensitivite cilt testi (Kandida)
 TREC analizi (8)

TCR V β repertuar analizi (9)

Enzim analizi (ADA, PNP)

Mitojen uyarısı ile aktivasyon belirteçlerinin analizi (CD40L, CD69, CD25, ICOS)

Spesifik hücre yüzey belirteçleri (IL-2R γ c)

Hücre içi protein boyama (DOCK8, WASP, ZAP70)

MHC-I ve MHC-II gösterimi

Aktive T lenfositlerden sitokin üretimi

Karyotip analizi (ICF, AT, NBS)

FISH analiz (22q11.2 deletion)

Microarray (Sendromik kombine immün yetersizlikler)

Biyopsiler (cilt, kemik iliği, gastrointestinal mukoza, lenf nodu, timus)

Fagositlerin sayısal ve işlevsel kusurları

Nötrofil sayısı, periferik yayma

Antinötrofil antikorlar

Enzimler (MPO, G6PD)

NADPH oksidaz aktivitesi (Dihidrorodamin veya Nitrobluetetrazolium)

Granulositlerde adhezyon molekülleri (CD18, CD11a/b/c)

Kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi

Kemotaksi ve fagositik aktivite

İmmün regülasyon kusurları

Hücre içi protein boyamaları (FOXP3, LRBA, CTLA4)

Treg hücre sayıları ve supresyon kapasitesi

Geniş otoantikor analizleri

Lenfosit aracılı sitotoksosite ve degranulasyon - NK ve CTL hücrelerde

In vitro apoptoz testleri**Kompleman sistem kusurları**

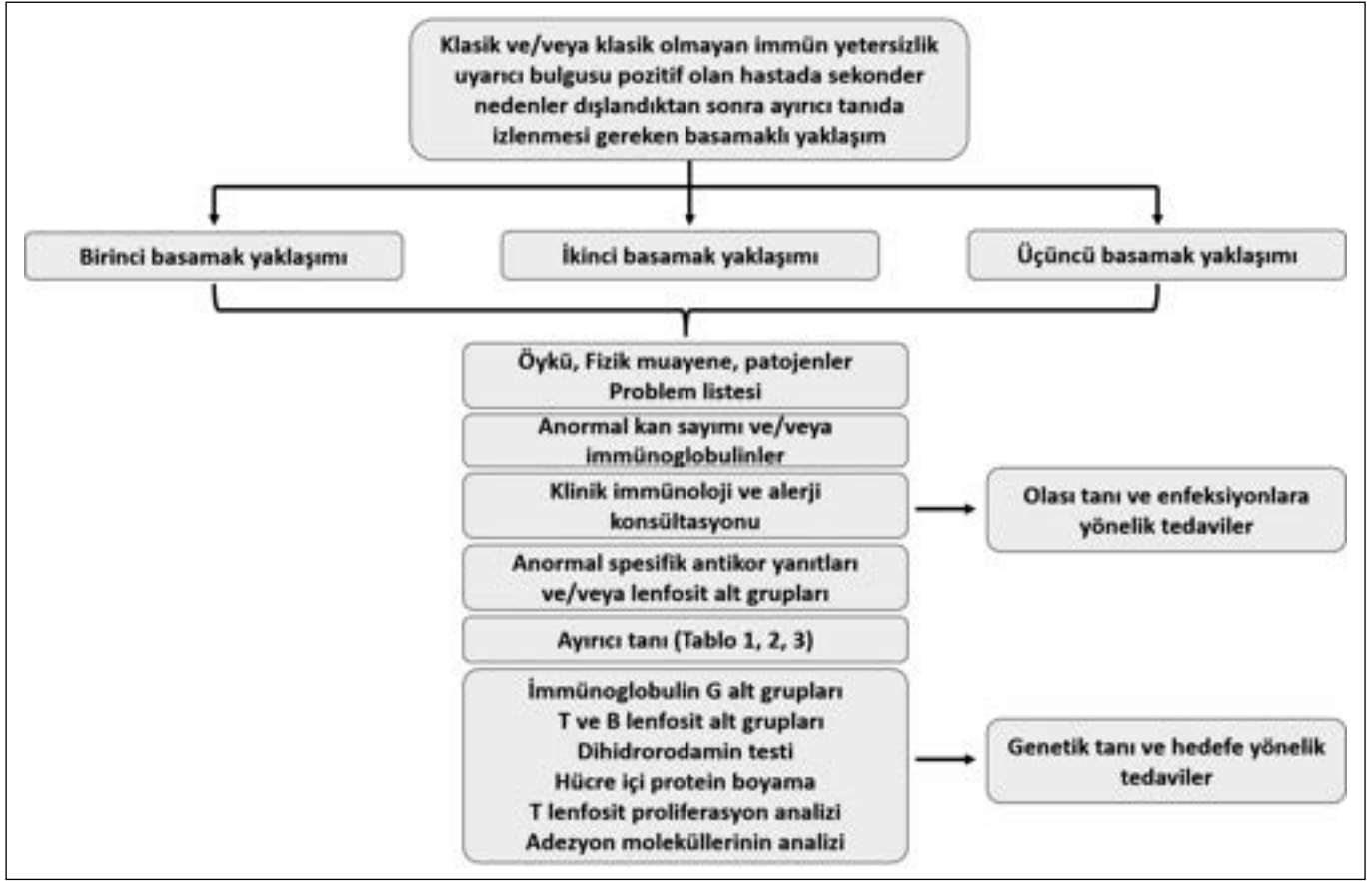
Total (CH50) ve alternatif (AH50) kompleman aktivitesi

Kompleman ölçümleri ve işlevleri

Kompleman yıkım ürünlerinin ölçülmesi (C3a, C5a)

CD55 yüzey boyama

NK: Natural killer, **CTL:** Sitotoksik T lenfosit, **CSB:** Sınıf dönüşümü yapmış B, **PBMC:** Periferik kan mononükleer hücreleri, **DNT:** Çift negatif T hücreleri, **RTE:** Yeni timik göçmen, **TCR:** T hücre reseptörü, **KREC:** Kappa silen rekombinasyon eksizyon halkaları, **TREC:** T hücre reseptör eksizyon halkaları, **KREC:** Kappa silen rekombinasyon eksizyon halkaları, **PHA:** Fitohemaglutinin, **PMA:** Forbol miristat asetat, **IO:** İonomisin, **MPO:** Miyeloperoksidaz, **G6PD:** Glikoz 6 fosfat dehidrogenaz, **ICF:** Kromozom1, 9 ve 16'da sentromer instabilitesi ve fasiyel anamali ile ilişkili immün yetersizlik, **AT:** Ataksi telenjiektazi, **NBS:** Nijmegen kırılma sendromu, **ADA:** Adenozin deaminaz, **PNP:** Pürin nükleozid fosforilaz, **FISH:** Floresan in situ hibridizasyon, **Treg:** Regülatör T



Şekil 1. Primer immün yetersizlik hastalarında tanısal yaklaşım

- Yaşamın ilk 1 yılında mutlak lenfosit sayısının 3000/mm³ altında olması lenfopeni olarak tanımlanmaktadır ve ağır kombine immün yetersizlik için klinik bulguların varlığında tanı koydurucudur. Ağır kombine immün yetersizlik bir pediatrik acildir hematopoetik kök hücre nakli yapılamaması hâlinde fataldir.
- İmmüoglobulinler yaşa göre referans aralıklarına göre değerlendirilmelidir. Sekonder hipogamaglobulinemi yapan ilaç, enfeksiyon, prematürite, malnütrisyon, gastrointestinal ya da renal kayıplar dışlanmalıdır. İmmüoglobulinlerin yaşa göre normal hatta yüksek saptanması immün yetersizlikleri dışlamamaktadır.
- Lenfosit alt grup analizi eş zamanlı tam kan sayımı ile birlikte ve yaşa göre referans aralıklarına göre değerlendirilmelidir.
- İleri immünolojik, fonksiyonel ve moleküler genetik testler immünoloji ve allerji uzmanına konsulte edilerek bu merkezlerle iş birliği içinde yapılmalıdır. Öykü, fizik muayene ve soy ağacı bulguları eşliğinde tüm laboratuvar testleri yorumlanmalıdır. Laboratuvarın tek başına yorumlanarak immün yetersizlik var/yok yorumu yapılması hatalıdır.
- Primer immün yetersizlik hastalarında klinik ve immünolojik fenotiplerine göre tedavi planlamaları ivedilikle yapılmalı, tedaviler başlanmalıdır ve moleküler tanı sonrası mümkünse diğer hedeflenmiş tedaviler gündeme gelmelidir.

KAYNAKLAR

1. Jeffrey Modell Foundation, 10 PID Warning Signs <http://jmfworld.com/library>
2. Baris S, Abolhassani H, Massaad MJ, Al-Nesf M, Chavoshzadeh Z, Keles S, et al. The Middle East and North Africa diagnosis and management guidelines for inborn errors of immunity. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2023;11(1):158-80.e11.
3. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1473-507.
4. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, Al-Herz W, et al. The 2022 update of IUIS phenotypical classification for human inborn errors of immunity. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1508-20.
5. <https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working-Party/Diagnosis-criteria>
6. Bayram RO, Özdemir H, Emsen A, Türk Dağı H, Artaç H. Reference ranges for serum immunoglobulin (IgG, IgA, and IgM) and IgG subclass levels in healthy children. *Turk J Med Sci* 2019;49(2):497-505.
7. Besci Ö, Başer D, Öğülür İ, Berberoğlu AC, Kiykim A, Besci T, et al. Reference values for T and B lymphocyte subpopulations in Turkish children and adults. *Turk J Med Sci* 2021;51(4):1814-24.
8. Şentürk G, Ng YY, Eltan SB, Başer D, Ogulur I, Altındirek D, et al. Determining T and B cell development by TREC/KREC analysis in primary immunodeficiency patients and healthy controls. *Scand J Immunol* 2022;95(3):e13130.
9. Ozturk E, Catak MC, Kiykim A, Baser D, Bilgic Eltan S, Yalcin K, et al. Clinical and laboratory factors affecting the prognosis of severe combined immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2022;42(5):1036-50.

Antikor Eksikliği Baskın Primer İmmün Yetersizlikler

Doç. Dr. Derya ÜNAL
Prof. Dr. Uğur MUŞABAK

1. GİRİŞ

Uluslararası İmmünoloji Dernekler Birliği tarafından (International Union of Immunological Societies- IUIS), in-sanda immün sistemin doğuştan kusurları sınıflandırmasının 2022 güncellemesinde, antikor eksikliği baskın primer immün yetersizlikler (PİY) aşağıdaki gibi alt gruplara ayrılmaktadır;

1. Tüm serum immünoglobulin (Ig) izotiplerinde ciddi azalma ile birlikte B hücrelerinde ciddi azalma veya yokluk, agammaglobulinemi fenotipi
2. En az iki serum Ig izotipinde ciddi azalma ile birlikte normal veya düşük sayıda B hücresi, yaygın değişken immün yetersizlik (CVID) fenotipi
3. Normal/yüksek IgM ile birlikte serum IgG ve IgA'da ciddi azalma ve normal sayıda B hücresi, hiper IgM fenotipi
4. Genellikle normal B hücre sayıları ile seyreden izotip, hafif zincir veya fonksiyonel eksiklikler (Bölüm 1, Tablo 3) (1-4)

Antikor eksikliği baskın PİY (AEBPİY) spektrumu agammaglobulinemi gibi hastalıklarda gözlenen tam eksikliklerden, daha hafif spesifik antikor eksikliklerine kadar değişiklik göstermektedir. B hücrelerine özgü moleküler kusurlar veya B ve T hücreleri arasındaki etkileşimin kusurlu olması nedeniyle bozulmuş antikor üretimi görülmektedir (2).

2. KLİNİK ÖZELLİKLER

Antikor eksiklikleri; enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan komplikasyonlar ile geniş bir yelpazede karşımıza çıkabilmektedir.

2.1. Enfeksiyonlar

Sıklıkla uzun süreli veya intravenöz antibiyotik tedavisi gerektiren, tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları ile karakterizedir (3). Tekrarlayan enfeksiyon nedenlerinin, öncelikle yapısal anomaliler, kistik fibrozis veya allerjik hastalıklar gibi diğer predispozan faktörlere bağlı olup olmadığının ayırımı yapılmalıdır (4). Enfeksiyon kliniği, anneden geçen IgG'nin yaşamın ilk 6-12 ayından sonra önemli ölçüde azalmasından sonra ortaya çıkmaya başlanmaktadır (5).

Tekrarlayan üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları özellikle gram pozitif (pnömokok, streptokok ve stafilokok) ve bazı gram negatif kapsüllü (*Haemophilus influenzae* ve *Neisseria meningitidis*) bakterilere bağlı gelişebilmektedir. Bu enfeksiyonlara ciddi komplikasyonlar (örn. mastoidit, kronik kulak akıntısı, beyin apsesi ve ampiyem) eşlik edebilmektedir. Bazı spesifik enfeksiyonlar, spesifik antikor eksikliklerini düşündürmektedir. Örnek olarak; X'e bağlı agammaglobulinemili (XLA) çocuklarda, potansiyel olarak ölümcül bir meningoensefalite, enterovirüslerin neden olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte tekrarlayan *Giardia lamblia* enfeksiyonları CVID ve selektif IgA eksikliğini ön planda düşündürmektedir (6).

2.2. Enfeksiyon Dışı Komplikasyonlar

Kronik akciğer hastalığı, gastrointestinal sistem/karaciğer hastalıkları, çeşitli organlarda granümatöz hastalıklar, otoimmünite, lenfoid hiperplazi gibi bir dizi hastalık grubunu kapsamaktadır (3). Bu hastalarda özellikle lenfoma ve mide kanseri başta olmak üzere artan malignite riski de bulunmaktadır. Bunun yanında antikor eksikliği baskın PİY asemptomatik dönemlerle de karakterize olabilmektedir (1, 3, 5).

3. TANI

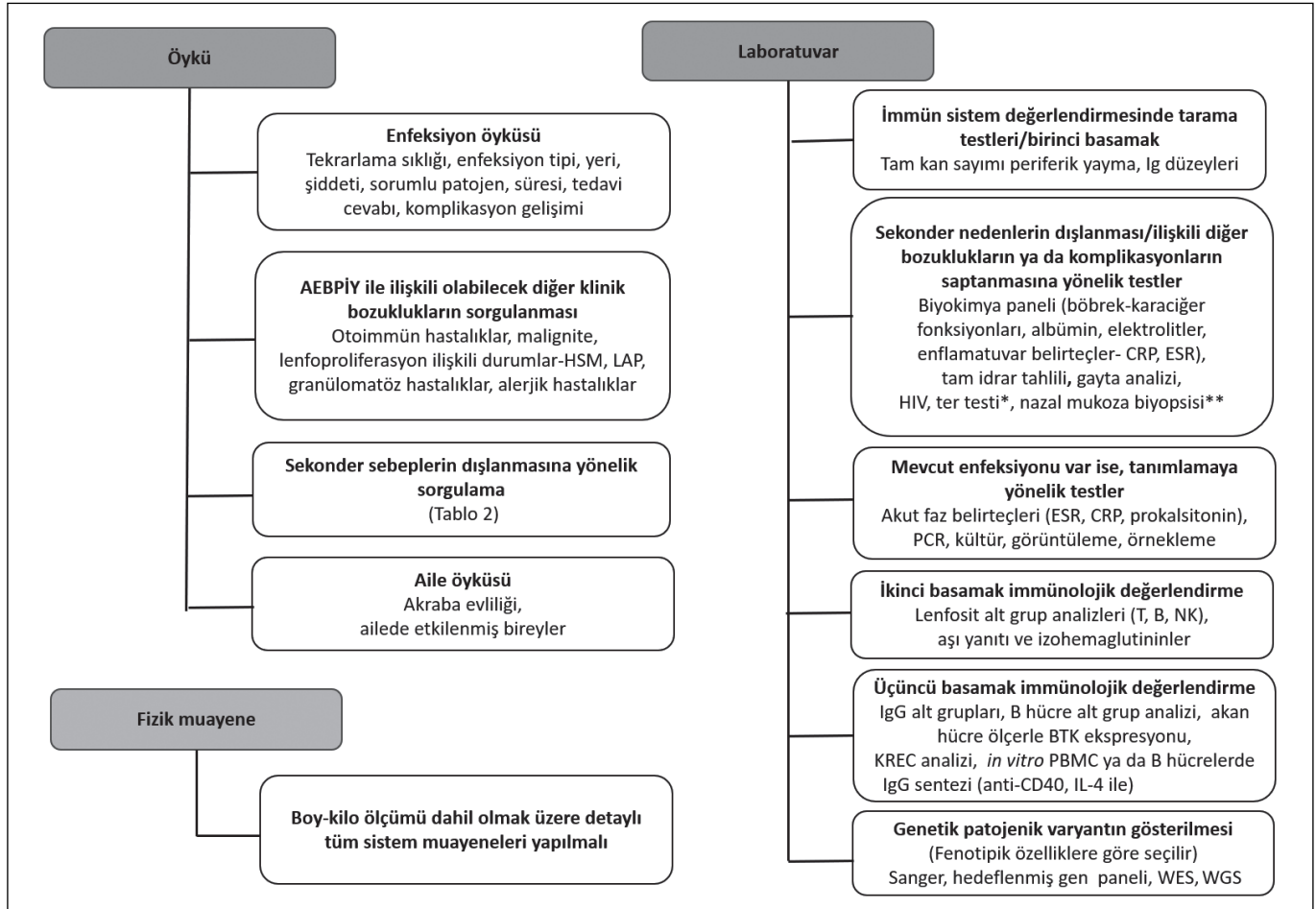
Kimlerde AEBPİY varlığından şüphe edelim? Öncelikle iyi bir klinik öykü, aile anamnezi, fizik muayene ile şüphe edilmeli daha sonra uygun immünolojik değerlendirme

yapılmalıdır. Nihayetinde fenotiple ilişkili olan genetik patojenik varyantın tanımlanması ile AEBPİY tanısı konulmaktadır (3, 7). Antikor aracılı immünitenin genel değerlendirilmesi ve AEBPİY şüphesi olan hastaya temel yaklaşım Şekil 1’de verilmiştir.

3.1. Öykü

• Klinik belirtilerin başlangıç yaşı

Öyküde öncelikle klinik belirtilerin başlangıç yaşının belirlenmesi, o hastalığın PİY sınıflamasında hangi gruba dahil edileceğini belirlemek için ipuçları verebilmektedir. X’e bağlı agammaglobulinemi (XLA) tipik olarak, anneden geçen antikorların kaybolmaya başladığı 6-9 aylıkken belirti vermeye başlamaktadır (8). CVID yaşamın birinci ve



Şekil 1. Antikor eksikliği baskın primer immün yetersizlik şüphesi olan hastanın temel değerlendirmesi

*Kistik fibrozu dışlamak için, **Siliyer diskineziyi dışlamak için yapılmalı, **HSM**: Hepatosplenomegali, **LAP**: Lenfadenopati, **Ig**: İmmünoglobulin, **CRP**: C reaktif protein, **ESR**: Eritrosit sedimentasyon hızı, **HIV**: İnsan immün yetersizlik virüsü, **PCR**: Polimeraz zincir reaksiyonu, **NK**: Doğal öldürücü, **BTK**: Bruton tirozin kinaz, **KREC**: Kappa silen rekombinasyon eksizyon halkaları, **PBMC**: Periferik kan mononükleer hücreleri, **WES**: Tüm ekzom dizileme, **WGS**: Tüm genom dizileme

üçüncü dekatlarında olmak üzere 2 pik yapmaktadır (9). Selektif IgA eksikliği, IgG alt grup eksikliği yaşamın geç dönemlerinde belirti verirken, sekonder immün yetersizlikler, altta yatan nedene bağlı olarak herhangi bir yaşta ortaya çıkabilmektedirler (10).

• **Geçirilen enfeksiyonların özellikleri (tipi, yeri, şiddeti, süresi, tedavi cevabı, ajanın ismi)**

Hastalığın PiY sınıflandırılmasındaki yeri ve hangi hücre tipinde bozukluk olduğu hakkında ipuçları verebilmektedir. Sinopulmoner enfeksiyonlar, aşılınmış bir çocukta *H. influenzae* ve *S. pneumoniae*'ye bağlı sepsis, menenjit veya selülit, septik artrit ve osteomyelit XLA, bakteriyel enfeksiyonlar CVID ve solunum yolları enfeksiyonları spesifik antikor yanıtı bozukluğunu düşündürmektedir (9-11).

• **Gastrointestinal sisteme ait şikâyetler**

İshal, kabızlık, karın ağrısı, mide şikâyetleri ayrıntılı olarak öyküde sorgulanmalıdır. CVID hastalarının bir kısmında tekrarlayan veya kronik ishal görülmektedir. Bu hastalarda enfeksiyöz, enflamatuvar ya da otoimmün enteropati gelişebilmektedir. Enteropati ilişkili belirti ve bulguları olan hasta bu açılardan mutlaka değerlendirilmelidir. Kronik ya da tekrarlayan ishali olan CVID hastalarının yaklaşık yarısında *Giardia lamblia* saptanmaktadır. Ayrıca CVID hastalarına sıklıkla *Helicobacter pylori*'nin neden olduğu akut ve kronik gastrit tanısı konulmaktadır.

• **Kilo kaybı**

Öyküde kilo kaybı olduğu öğrenilen hastalarda CVID'nin gastrointestinal tutulumu veya malignite gelişimi ön planda düşünülmelidir. Yaygın lenfadenopati, mide karsinomu veya lenfoma öyküsü olan hastalarda CVID başta olmak üzere AEBPiY araştırılmalıdır (11-13).

• **Kan transfüzyonu sırasında anafilaksi öyküsü:**

Kan transfüzyonu sırasında anafilaksi öyküsü veren hastalarda selektif IgA eksikliği akla gelmelidir (10).

3.2. Aile Öyküsü

Anne baba akrabalığı, akrabalarda immün yetersizlik tanısı, etkilenmiş bireylerin yaş ve cinsiyeti, ailede benzer hastalıktan kaybedilmiş çocuk veya erişkin birey olup olmadığı belirlenmelidir. Sekonder immün yetersizliğe neden olabilecek hastalıkları belirlemek için ailelerinde otoimmün, hematolojik hastalıklar ve neoplazm öyküsü öğrenilmelidir (14).

Öyküde sekonder immün yetersizliğe neden olabilecek hastalıklar için olası semptomlar ve klinik bulgular, ayrıca ilaç kullanım öyküsü ayrıntılı olarak sorgulanmalıdır.

3.3. Fizik Muayene

Ayrıntılı fizik muayene ile AEBPiY düşündürecek bulgular belirlenmelidir.

- **Boy ve kilo ölçümü:** Çocuk hastalarda; büyüme-gelişme geriliğini değerlendirmek için boy-kilo ölçümü değerlendirilmelidir.
- **Cilt muayenesi:** Cilt enfeksiyonları, vitiligo, ürtiker ve egzema açısından deri muayenesi yapılmalıdır.
- **Baş boyun muayenesi:** Ağız içinde mantar enfeksiyonu, ülser ve gingivostomatit açısından ağız muayenesi; tonsil dokusunda atrofi/hipertrofi açısından tonsil muayenesi; lenfadenopati açısından lenf bezleri muayenesi; tekrarlayan otit sekelleri açısından kulak muayenesi; otoimmün hastalıklar açısından saçlı deri (alopeci) ve tiroid bezi (tiroidit) muayenesi yapılmalıdır.
- **Solunum sistemi muayenesi:** Kronik akciğer hastalığı ve pnömoni açısından solunum sistemi muayenesi yapılmalıdır.
- **Kardiyovasküler sistem muayenesi:** Viral myokardit, dilate kardiyomyopati ve kalp yetmezliği açısından kardiyovasküler sistem muayenesi yapılmalıdır.
- **Karın muayenesi:** Hepatosplenomegali ve asit açısından karın muayenesi yapılmalıdır.
- **Ekstremiteler:** Artrit ve artrit sekelleri açısından değerlendirilmelidir.
- **Nörolojik muayene:** Nörolojik muayene ile AEBPiY'in nörolojik tutulumu değerlendirilmelidir.

Gelişme geriliği, tonsil ve/veya adenoidlerin yokluğu, XLA'yu; timpanik membran skarları (tekrarlayan otit sekelleri), kronik akciğer hastalığı bulguları (kronik öksürük, raller, çomak parmak, solunum sayısı, hışıltı, yutma refleksinin kaybı), lenfoid doku anormallikleri, hepatosplenomegali CVID'yi; artrit, endokrinopati, vitiligo gibi otoimmün belirtiler ise genellikle spesifik antikor eksiklikleri veya CVID'yi düşündürmektedir. Nörolojik bulguların olması da daha çok CVID tanısını akla getirmektedir. Bununla birlikte bu hastalarda, fizik muayenenin normal olabileceği de unutulmamalıdır (9, 15).

3.4. Antikor Eksikliğinden Şüphelenilen Hastalarda İmmünolojik Değerlendirmede Birinci Basamak Testler

Antikor eksikliğinden şüphelenilen hastalarda başlangıç değerlendirmesinde tam kan sayımı, periferik yayma ve immünooglobulin düzeylerinin (IgG, IgM, IgA, IgE) belirlenmesi yer almaktadır. Ayrıca sekonder sebeplerin dışlanması ve AEBPIY ilişkili olabilecek diğer bozuklukların ya da komplikasyonların belirlenebilmesi için için temel ve spesifik laboratuvar testleri yapılmalıdır (Şekil 1) (16-19).

Tam Kan Sayımı ve Periferik Yayma

Kronik trombositopeni ve nötropeni XLA hastalığında, otoimmün hemolitik anemi, trombositopeni, nötropeni gibi hematolojik hastalıklar CVID ve selektif IgA eksikliğinde sık görülebilmektedir.

Serum İmmünooglobulin Seviyelerinin Ölçümü

- Hümorale bağışıklığın değerlendirilmesinde öncelikli olup genellikle IgA, IgM ve IgG'nin ölçülmesine odaklanılır.
- IgE seviyelerinin ölçümü hiper-IgE sendromları olabilecek hastaların belirlenmesinde ve tekrarlayan solunum

yolu semptomları olan kişilerde atopinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte düşük IgE veya IgE'nin yokluğu antikor eksikliği tanısını destekleyebilmektedir. Bu nedenle antikor ölçümlerine IgE isteği de eklenmelidir.

- PİY tanısı için serumda IgD ölçümü yararlı değildir (15, 19).
- Normal serum IgA düzeyinde sekretuar IgA eksikliği nadir görüldüğünden, sekretuar IgA ölçümü rutin olarak önerilmemektedir (3, 15).

Ig değeri düşük saptandığında doğrulamak için en az bir ölçüm daha yapılmalıdır. Ig düzeyleri için yaşa özgü referans aralıkları kullanılmalıdır. Hipogamaglobulinemi, yaşa göre belirlenmiş olan normal düzeylerin 2 standart sapmasının altındaki IgG düzeyi olarak tanımlanmaktadır. IgG<100 mg/dL olması agamaglobulinemi olarak değerlendirilmektedir (20, 21).

Hipogamaglobulinemi saptanan hastada, öncelikle sekonder hipogamaglobulinemi yapan nedenler dışlanmalıdır (Tablo 1). Ig düşüklüğüne albümin düşüklüğü eşlik ediyorsa nefrotik sendrom, protein kaybettiren entero-

Tablo 1. Sekonder antikor eksiklik nedenleri

B hücre Lenfoproliferatif Hastalıkları ve Hematolojik Hastalıklar	İlaçlar	Transplantasyon	Protein kaybı	Lenfatik dolaşım	Diğer
Kronik lenfositik lösemi Lenfoma Multiple myelom Diğer hematolojik hastalıklar: Lösemiler (akut, kronik) Myelodisplastik sendrom Waldenstrom makroglobulinemisi Amiloid solid tümörler	B hücreyi hedef alan tedaviler: anti-CD20, anti-CD22, anti-CD19, anti-CD52, anti-CD38, anti-BAFF, Kortikosteroidler Bortezomib Anti-FcRn tedavisi Rozanolixumab Mikofenolat Alkilleyici ajanlar Sülfasalazin Altın D penisilamin Klorpromazin Metotreksat Klozapin Tirozin kinaz inhibitörleri Atacicept Pürin analogları Antikonvülzanlar Diğer (nadiren) Ramipril, asetilsalisilik asit	Kalp, Böbrek, Akciğer, Hematopoetik Kök hücre, Karaciğer, Bağırsak transplantasyonları	Renal kayıp: Nefrotik sendrom GİS'ten kayba neden olan hastalıklar: Crohn, Ülseratif kolit, İntestinal lenfanjiyektazi, Turner sendromu, Noonan's sendromu, Çölyak hastalığı, Enterik enfeksiyon, Menetriers hastalığı, konstrüktif perikardit Deriden kayba neden olan durumlar: Ağır yanıklar Ağır dermatit	İntestinal lenfanjiyektazi, Proteus sendromu, Sarı tırnak sendromu, Noonan's sendromu, Şilotoraks	Plazma değişimi Katabolizma artışı, Malnütrisyon, HIV enfeksiyonu, Periton diyalizi

GİS: Gastrointestinal

pati gibi protein kaybettiren hastalıklar düşünülmelidir. Serum albümini, idrar protein/kreatinin oranı ile nefrotik sendrom, serum ve 24 saatlik dışkı örneği ölçülerek alfa1-antitripsin klirensinin belirlenmesi ile şüpheli protein kaybettiren enteropati tanısı doğrulanabilmektedir (22, 23).

3.5. Antikor Eksikliğinden Şüphelenilen Hastalarda İmmünolojik Değerlendirmede İkinci Basamak Testler

Antikor eksikliğinden şüphelenilen hastaların ikinci aşama değerlendirilmesinde; antikor yanıtının (aşı yanıtı) değerlendirmesi, izohemaglutininler ve lenfosit alt grup analizleri yer almaktadır (Şekil 1) (3).

Antikor Yanıtının Değerlendirilmesi

Serum Ig seviyeleri normal olsa dahi, spesifik antikor yanıtında bozulmalar olabilirken serum Ig seviyeleri düşük olan bazı AEBPİY hastalıklarında aşılama karşı normal bir antikor yanıtı oluşabilmektedir. Antikor yanıtı, hastanın ya mikrobiyal bir patojene veya onun ürünlerine karşı cevap olarak üretilen antikor titrelerinin (varicella zoster) ya da aşılama yoluyla üretilen antikor titrelerinin (tetanoz, difteri, pnömokok, salmonella) ölçülmesiyle değerlendirilmektedir (23-27).

İzohemagglutininer

İzohemagglutininer genellikle 6 aylıkken kanda saptanabilmektedirler. Kan grubu A olan bir kişi anti-B izohemagglutininerine, kan grubu B olan bir kişi anti-A izohemagglutininerine, kan grubu 0 olan bir kişi hem anti-A hem anti-B izohemagglutininerine sahiptir. AB kan grubu olan bir kişide ise izohemagglutininer yoktur. İzohemagglutininer ölçümü ile IgM ve IgG tipi antikorlar ölçülmektedir (28). İzohemagglutininerin yetersiz oluşu AEBPİY’de destekleyici bulgudur.

Lenfosit Alt Grupları Tayini

PİY hastalıklarının tanılarda testlerinde akan hücre kullanılmaktadır. Akan hücre ölçer sistemi ile lenfosit alt gruplarının (T, B ve NK) sayısı ve yüzdeleri belirlenerek bazı AEBPİY tipleri belirlenebilmektedir (29).

3.6. Antikor Eksikliğinden Şüphelenilen Hastalarda İmmünolojik Değerlendirmede Üçüncü Basamak Testler

Antikor eksikliğinden şüphelenilen hastaların üçüncü aşama değerlendirilmesinde, IgG alt grupları, B lenfosit alt grupları, akan hücre ölçer ile BTK gibi hastalığa özgü proteinlerin analizi, kappa silen rekombinasyon eksizyon halkaları (KREC) ve *in vitro* periferik kan mononükleer hücrelerinde (PBMC) ya da B hücrelerinde CD40L analizi yer almaktadır. Daha sonra hastanın fenotipik ve laboratuvar özellikleri baz alınarak genetik analiz ile kesin tanı konulabilmektedir (36).

IgG Alt Grup Seviyeleri

Antikor eksikliğinden şüphelenilen hastalarda immünolojik değerlendirilmede; IgG1, IgG2, IgG3 ve IgG4 gibi IgG alt grup değerlendirilmesi üçüncü basamak testler arasında kullanılmaktadır. IgG alt grup ölçümü için öneriler Tablo 2’de verilmiştir (25, 18, 30, 31). IgG1 toplam IgG düzeylerinin %70’ine kadar katkıda bulunması nedeniyle, IgG1 seviyesi düşük saptanan hastaların toplam IgG düzeylerinin de azalması beklenmektedir. Bu da IgG1 testini bir ölçüde gereksiz kılmaktadır. Sağlıklı bireylerde IgG2 düzeyleri düşük ancak anti-polisakkarit antikorları normal olabilmektedir. İyi bir humoral bağışıklık değerlendirmesi her zaman polisakkarit yanıtlarına yönelik spesifik antikor testini içereceğinden, IgG2 seviyeleri ölçümü gerekli olmayabilir. IgG4 10 yaşına kadar yetişkin düzeyine ulaş-

Tablo 2. IgG alt gruplarının ölçümü için öneriler

<p>Tanı koyma amaçlı</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. İzole IgG alt grup eksikliği 2. Spesifik antikor eksikliği 3. Klinik olarak anlamlı IgG alt grup eksikliği 4. Bebeklik döneminde geçici hipogammaglobulinemi
<p>Destekleyici bilgi/enfeksiyon riski değerlendirilmesi amaçlı</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Selektif IgA eksikliği olan hastalar 2. Yaygın değişken immün yetersizlik
<p>İzleme amaçlı</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Bebeklik dönemi geçici hipogammaglobulinemisinin daha karmaşık bir antikor eksikliğine doğru ilerleyip ilerlemeyeceği
<p>Tedavi kararını destekleme amaçlı</p> <p>Yeniden aşılama, antibiyotikler, intravenöz immüno globulin tedavisi alan hastalar</p>

madığından, küçük çocuklarda IgG4 eksikliği tanısı konulmamalıdır. Ayrıca birçok sağlıklı yetişkin bireyde seviyesi düşüktür. Bu nedenle düşük IgG4 tek başına antikor eksikliği tanısı için yeterli değildir (15, 30).

B Hücre Alt Grup Tayini

B hücreleri dolaşımdaki toplam lenfositlerin yalnızca %5 ila %15'ni oluşturduğundan, az sayıda olması veya hiç olmaması tam kan sayımında tespit edilen toplam lenfosit sayısını etkileyebilir (15, 32). Akan hücre ölçer sistemi ile B lenfositlerin alt grupları olarak naif B lenfosit (CD27⁻), hafıza B lenfositleri (CD27⁺), sınıf dönüşümünü tamamlamış hafıza B lenfositleri (IgM⁻), sınıf dönüşümü olmayan hafıza B lenfositleri (IgM⁺) değerlendirilmektedir.

B hücre eksikliğinin gözlemlenmesi, X'e bağlı veya otozomal resesif agammaglobulinemi tanısını, belirli CVID formlarını veya diğer önemli hümmoral eksiklikleri (ya da yaşlı yetişkinlerde potansiyel timoma varlığı) akla getirmektedir. Düşük sayıda B hücrelerinin gözlemlenmesi çeşitli hümmoral eksikliklerle ilişkilendirilebilir. Normal veya makul sayıda B hücre olmasına rağmen, sınıf dönüşümü olan hafıza B hücrelerinin yokluğu, X'e bağlı ve otozomal resesif hiper-IgM sendromları gibi bozuklukları düşündürmektedir. Diğer bazı hümmoral eksikliklerde de sınıf dönüşümü olan hafıza B hücre sınıfı düşük seviyelerde bulunabilmektedir (15, 33). Yaşlı erişkinlerde, yüksek B hücre sayısı ise B hücreli neoplastik hastalıkları akla getirmelidir (34).

Mitojenlere Karşı *In Vitro* Antikor veya Çoğalma Yanıtı

In vitro olarak B hücrelerin Ig üretimini ölçümü olup, nadiren başvurulan ileri düzey bir testtir (35).

Genetik Testler

Tanıyı doğrulamada, prognozu tahmin etmede, genotip-fenotip ilişkilerinin etkilerini değerlendirmede ve aile planlamasında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca erken ve doğru moleküler tanı, genetik tedavi de dahil olmak üzere pek çok konuda belirleyici olabilmektedir. Bunun yanında sonuçların doğru yorumlanması, maliyeti ve erişimi gibi sınırlamaları da bulunmaktadır (37).

KAYNAKLAR

1. Stuart G, Tangye SG, AlHerz W, Bousfha A, Cunningham Rundles C, Franco JL, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022;42:1473-507.
2. Bousfha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, AlHerz W. The 2022 Update of IUIS phenotypical classification for human inborn errors of immunity. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1508-20.
3. Šedivá A, Milota T, Litzman J, Quinti I, Meyts I, Burns S, et al. Medical algorithm: Diagnosis and management of antibody immunodeficiencies. *Allergy* 2021;76:3841-4.
4. Hammond A, Halliday A, Thornton HV, Hay AD. Predisposing factors to acquisition of acute respiratory tract infections in the community: A systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2021;21(1):1254.
5. McCusker C, Upton J, Warrington R. Primary immunodeficiency. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2018;14(Suppl 2):61.
6. Plebani A, Soresina A, Rondelli R, Amato GM, Azzari C, Cardinale F, et al. Italian Pediatric Group for XLA-AIEOP. Clinical, immunological, and molecular analysis in a large cohort of patients with X-linked agammaglobulinemia: An Italian multicenter study. *Clin Immunol* 2002;104(3):221-30.
7. Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, Hsu JT, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(5):1186-205.
8. Bean P, Jani P. X-linked agammaglobulinemia leading to chronic obstructive lung disease. *Cureus* 2022;14(12):e32470.
9. Irina Odnoletkova I, Kindle G, Quinti I, Grimbacher B, Knerr V, Gathmann B. The burden of common variable immunodeficiency disorders: a retrospective analysis of the European Society for Immunodeficiency (ESID) registry data. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2018;13(1):201.
10. Yazdani R, Azizi G, Abolhassani H, Aghamohammadi A. Selective IgA deficiency: epidemiology, pathogenesis, clinical phenotype, diagnosis, prognosis and management. *Scand J Immunol* 2017;85(1):3-12.
11. Winkelstein JA, Marino MC, Lederman HM, Jones SM, Sullivan K, Burks AW, et al. X-linked agammaglobulinemia: Report on a United States registry of 201 patients. *Medicine (Baltimore)* 2006;85(4):193-202.
12. Agarwal S, Mayer L. Pathogenesis and treatment of gastrointestinal disease in antibody deficiency syndromes. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(4):658-64.
13. Aghamohammadi A, Allahverdi A, Abolhassani H, Moazzami K, Alizadeh H, Gharagozlu M, et al. Comparison of pulmonary diseases in common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinemia. *Respirology* 2010;15(2):289-95.

14. Patel SY, Carbone J, Jolles S. The expanding field of secondary antibody deficiency: causes, diagnosis, and management. *Front Immunol* 2019;10:33.
15. Sorensen RU, Moore C. Antibody deficiencies syndrome. *Pediatr Clin North Am* 2000;47(6):1225-52.
16. Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, Hsu JT, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(5):1186-205.
17. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1473-507.
18. Marsh RA, Orange JS. Antibody deficiency testing for primary immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2019;123(5):444-53.
19. Lawrence MG, Palacios-Kiblera TV, Workmana LJ, Schuyler AJ, Steinke JW, Payne SC, et al. Low serum IgE is a sensitive and specific marker for common variable immunodeficiency (CVID). *J Clin Immunol* 2018;38(3):225-33.
20. Agarwal S, Cunningham-Rundles C. Assessment and clinical interpretation of reduced IgG values. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007;99(3):281-3.
21. Samson M, Audia S, Lakomy D, Bonnotte B, Tavernier C, Ornetti P. Diagnostic strategy for patients with hypogammaglobulinemia in rheumatology. *Joint Bone Spine* 2011;78(3):241-5.
22. Otani IM, Lehman HK, Jongco AM, Tsao LR, Azar AE, Tarrant TK, et al. Practical guidance for the diagnosis and management of secondary hypogammaglobulinemia: A Work Group Report of the AAAAI Primary Immunodeficiency and Altered Immune Response Committees. *J Allergy Clin Immunol* 2022;149(5):1525-60.
23. Fried AJ, Bonilla FA. Pathogenesis, diagnosis, and management of primary antibody deficiencies and infections. *Clin Microbiol Rev* 2009;22(3):396-414.
24. McCusker C, Upton J, Warrington R. Primary immunodeficiency. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2018;14(Suppl 2):61.
25. Parker AR, Skold M, Ramsden DB, Ocejo-Vinyals JG, López-Hoyos M, Harding S. The clinical utility of measuring IgG subclass immunoglobulins during immunological investigation for suspected primary antibody deficiencies. *Lab Med* 2017;48(4):314-25.
26. Orange JS, Ballou M, Stiehm ER, Ballas ZK, Chinen J, De La Morena M, et al. Use and interpretation of diagnostic vaccination in primary immunodeficiency: A working group report of the Basic and Clinical Immunology Interest Section of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(3 Suppl):S1-24.
27. Bausch-Jurken MT, Verbsky JW, Gonzaga KA, Elms NP, Hintermeyer MK, Gauld SB, et al. The use of Salmonella typhim vaccine to diagnose antibody deficiency. *J Clin Immunol* 2017;37(5):427-33.
28. Schaballie H, Vermeulen F, Verbinnen B, Frans G, Vermeulen E, Proesmans M, et al. Value of allohaemagglutinins in the diagnosis of a polysaccharide antibody deficiency. *Clin Exp Immunol* 2015;180(2):271-9.
29. Fleisher TA, Madkaikar M, Rosenzweig SD. Application of flow cytometry in the evaluation of primary immunodeficiencies. *Indian J Pediatr* 2016;83(5):444-9.
30. Maguire GA, Kumararatne DS, Joyce HJ. Are there any clinical indications for measuring IgG subclasses? *Ann Clin Biochem* 2002;39(Pt 4):374-7.
31. Paris K, Sorensen RU. Assessment and clinical interpretation of polysaccharide antibody responses. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007;99(5):462-4.
32. Fettke F, Schumacher A, Costa SD, Zenclussen AC. B cells: The old new players in reproductive immunology. *Front Immunol* 2014;23:5:285.
33. Attila Kumanovics A, Akha AAS. Flow cytometry for B-cell subset analysis in immunodeficiencies. *Journal of Immunological Methods* 2022;509:113327.
34. Hallek M, Al-Sawaf O. Chronic lymphocytic leukemia: 2022 update on diagnostic and therapeutic procedures. *Am J Hematol* 2021;96:1679-705.
35. Martínez-Riaño A, Delgado P, Tercero R, Barrero S, Mendoza P, Oeste CL, et al. Recreation of an antigen-driven germinal center in vitro by providing B cells with phagocytic antigen. *Commun Biol* 2023;6(1):437.
36. Smith T, Cunningham-Rundles C. Primary B-Cell Immunodeficiencies. *Hum Immunol* 2019;80(6):351-62.
37. Borte S, von Döbeln U, Fasth A, Wang N, Janzi M, Winiarski J, et al. Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. *Blood* 2012;119(11):2552-5.

T Hücre Eksikliği ya da Kombine B ve T Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

Doç. Dr. Funda ÇİPE

Prof. Dr. Sara Şebnem KILIÇ GÜLTEKİN

1. GİRİŞ

Primer immün yetersizlikler (PİY) 10 ayrı alt gruba ayrılmaktadır. Tanı oranı hastalıkların komplike bir tabloda olabilmesi, bazen az bilinmesinden kaynaklı olarak maalesef düşüktür ve doğru tanıya ulaşmak geç olabilmektedir. Bu nedenle şüphe indeksini yüksek tutmak çok önemlidir. T hücre eksiklikleri sayısal ya da fonksiyonel eksiklikler şeklinde sınıflandırılabilir. T hücre eksiklikleri durumunda T ve B hücre etkileşimi ve devamında gelen B hücre fonksiyonları da etkilendiği için immün sistemin doğuştan bozuklukları konusunda yapılan son sınıflamada T hücre yetersizlikleri ya da hücresele immün yetersizlik yerine kombine immün yetersizlikler olarak isimlendirilmiştir. Kombine immün yetersizlikler arasında da 134 genetik mutasyon ve tanımlanmış 95 farklı hastalık bulunmaktadır (1, 2). Ağır kombine immün yetersizlikler (AKİY) bunların içinde en ağır ve fatal seyreden hastalıklar grubudur ve pediatrik acil olarak tanımlanmaktadır. Klinik bulgular, genel olarak enfeksiyonlar, otoimmün ya da allerjik hastalıklar, maligniteler veya bu hastalıkların birlikteliği şeklinde iken, kombine immün yetersizliğin alt tipine göre değişik şiddetlerde ve yaşlarda kendini gösterebilmektedir. Klinik bulgularla birlikte aile öyküsü mutlaka primer immün yetersizlik odaklı olarak, daha önceki nesilleri de içerecek şekilde detaylı olarak sorulmalıdır (3-5). AKİY tanısında bildirilen en son değişiklikler Tablo 1'de özetlenmiştir (3, 5).

Kombine immün yetersizliklerden şüphelenilmesini gerektiren durumlar:

- Pozitif aile öyküsü
 - Anne-baba arasında akrabalık olması

- Daha önce erken çocukluk döneminde ya da PİY düşündürecek bir nedenle kardeş ölüm öyküsü olması
- Anne ve babanın geçmişte erken bebeklikte ölen kardeşlerinin olması
- Geniş ailede hâlihazır semptomu olan çocuk ya da bireylerin varlığı
- Enfeksiyonlar
 - Toplum kökenli mikrobiyal ajanlarla (düşük virulansli) tekrarlayan, ağır, uzamış enfeksiyonlar (akciğer, sinüs, cilt enfeksiyonları, otitis media, sepsis, menenjit gibi)
 - Toplum kökenli olmayan, nadir etkenlerle tek ağır ya da tekrarlayan enfeksiyonlar
 - Persistan/ yaygın oral ya da diaper bölgesinde kandidiasis
 - Pneumosisis *jiroveci*, candida ya da Cytomegalovirüs (CMV) gibi fırsatçı etkenlerle enfeksiyonlar
 - Rotavirus, giardia gibi etkenlerle kronik ya da şiddetli gastrointestinal enfeksiyonlar
- Otoimmün bulgular: Özellikle aynı hastada birden fazla otoimmün hastalık olması ya da klasik tedavilere dirençli ya da tedavi edilmesi çok zor otoimmün hastalıklar
- Maligniteler: Özellikle ailede birden fazla bireyde aynı tip malignensi görülmesi ya da klasik tedavilere dirençli, atipik seyreden ya da tedavi edilmesi zor maligniteler
- Allerjik hastalıklar

Tablo 1. AKİY tanısında bildirilen en son değişiklikler tabloda özetlenmiştir (3, 5)

	Tipik AKİY		Atipik AKİY	
	2014 Kriterleri	2022 Kriterleri	2014 Kriterleri	2022 Kriterleri
1	CD3 T hücreleri <300/mm ³ olması	Çok düşük T hücre sayısı (<50/mm ³)	Düşük CD3 T hücre sayıları: . <2 yaş, <10000/mm ³ . 2-4 yaş arası, <800/mm ³ . >4 yaş, <600/mm ³	>2 kriter . Düşük T hücreler (50-1000/mm ³) . Oligoklonal T hücreler . Anormal TREC ya da naif CD4 T hücrelerin <%20
2	PHA proliferasyon yanıtının <%10 olması	Patojenik gen varyantı	Transplasental maternal engraftment olmaması	Patojenik gen varyantı
3	Transplasental maternal engraftment olması	Düşük T hücre sayısının başka bir nedeninin olmaması, çok düşük TREC ya da CD4 ⁺ T hücrelerin <%20 olması	PHA proliferasyon yanıtının <%30 olması	PHA, anti-CD3 ya da anti-CD3/28 proliferasyon yanıtının <%50 olması
4	- HIV enfeksiyonunun dışlanması - Di George Sendromu olmaması - MHC Sınıf 1 ve 2 eksikliği olmaması - AKİY i taklit eden metabolik hastalıklar olmaması	Transplasental maternal engraftment olması	HIV enfeksiyonunun dışlanması - Di George Sendromu olmaması - MHC Sınıf 1 ve 2 eksikliği olmaması - AKİY i taklit eden metabolik hastalıklar olmaması	Diğer AKİY olmaması Timik bozukluk olmaması Düşük T hücre nedeni olabilecek diğer nedenlerin olmaması
Tanı için gerekli kriterler	1, 2 ve 4 ya da 3 ve 4	1 ve 2, 1 ve 3 ya da 4	Tüm 4 kriter	1, 2 ve 4 ya da 1, 3 ve 4

PHA: Fitohemaglutinin, **TREC:** T hücre reseptör eksizyon halkaları, **AKİY:** Ağır kombine immün yetersizlik, **HIV:** İnsan immün yetersizlik virüsü

- Diğer
 - Canlı aşılarla bağlı komplikasyonlar (BCGitis, Polio)
 - Büyüme ve gelişme geriliği
 - Jeneralize lenfoproliferasyon

T hücre yetersizlikleri için:

- 2-6 ay arası başlangıç
- Klinik Bulgular:

En sık; Yaygın mukokutanöz candidiasis, gelişme geriliği, uzamış diyare

Daha nadir; Maternal engraftmana ya da ışınlanmamış kan ürünü verilmesine bağlı greft versus host hastalığı, aşı sonrası diseminan BCG, varicella, süt çocuğu döneminde hipokalsemik tetani

- Olası enfeksiyöz etkenler; Gram (-) ve Gram (+) bakteriler, mikobakteriler, CMV, Epstein-Barr virüs (EBV), adenovirüs, parainfluenza 3, varicella, enterovirus gibi viruslar ve *Candida ve Pneumocystis jirovecii* gibi fırsatçı enfeksiyonlar
- T hücre yetersizlikleri için testler;

Fonksiyonel T hücre testleri (Lenfosit proliferasyon testleri): *in vivo*; antijenlerle intradermal deri tes-

ti (ppd, candidin, tetanus toxoid), *in vitro*; mitojenlere (Fitohemaglutinin-PHA, anti CD3 gibi) T hücre stimülasyon ve proliferasyon yanıtı

B hücre yetersizlikleri:

- Maternal antikolar azaldıktan sonra, 5-7 ay arası başlangıç
- Klinik bulgular:

En sık; Tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar, kronik gastrointestinal semptomlar, artrit, enteroviral meningoensefalit

Daha nadir; Otoimmünite, lenfoproliferasyon, aşı sonrası paralitik polio

- Olası enfeksiyöz etkenler; *Pneumococcus, Spretococcus, Staphilococcus, Hemophilus influenza, Campylobacter jejuni, Mycoplasma, enterovirus*, parazitler (*Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum*)
- B hücre yetersizlikleri için testler;

Serum IgG, IgA, IgM, IgE düzeyleri

İzohemaglutininin titresi (anti A/B): AB kan grubunda bulunmaz. İki yaşından sonra oluşur ve 1/8'in üzeri (+), normal olarak kabul edilir.

Spesifik antikor titreleri (bilinen geçirilmiş hastalıklar ya da yapılan aşılarla karşı IgG ve IgM tipi antikorlar)

2. TETKİKLER VE TANISAL ALGORİTMA

Tanısıl adımlar mutlaka aile öyküsü, hastanın klinik bulguları, fizik muayenesi ve şüphelenilen PIY tipine göre belirlenmelidir ve öncelikle temel testlerden başlanarak testlerin detaylandırılması önerilen tanısıl yaklaşımdır.

İlk sırada önerilen testler:

- Tam kan sayımı:
- IgG, IgA, IgM, IgE düzeyleri

İkinci sırada önerilen testler:

- Fonksiyonel T hücre testleri: *in vivo/in vitro*
- Düşünülen hastalığa yönelik testler: Moleküler ya da genetik testler olabilir. Uzman bir doktor tarafından belirlenmelidir.
- Diğer testler:

Kan testleri: karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, otoantikorlar, eritrosit sedimentasyon hızı, CRP, tiroid fonksiyon testleri, viral testler (CMV, EBV, RSV)

Solunum fonksiyon testleri, difüzyon kapasitesi ölçümü, yüksek çözünürlüklü akciğer tomografisi

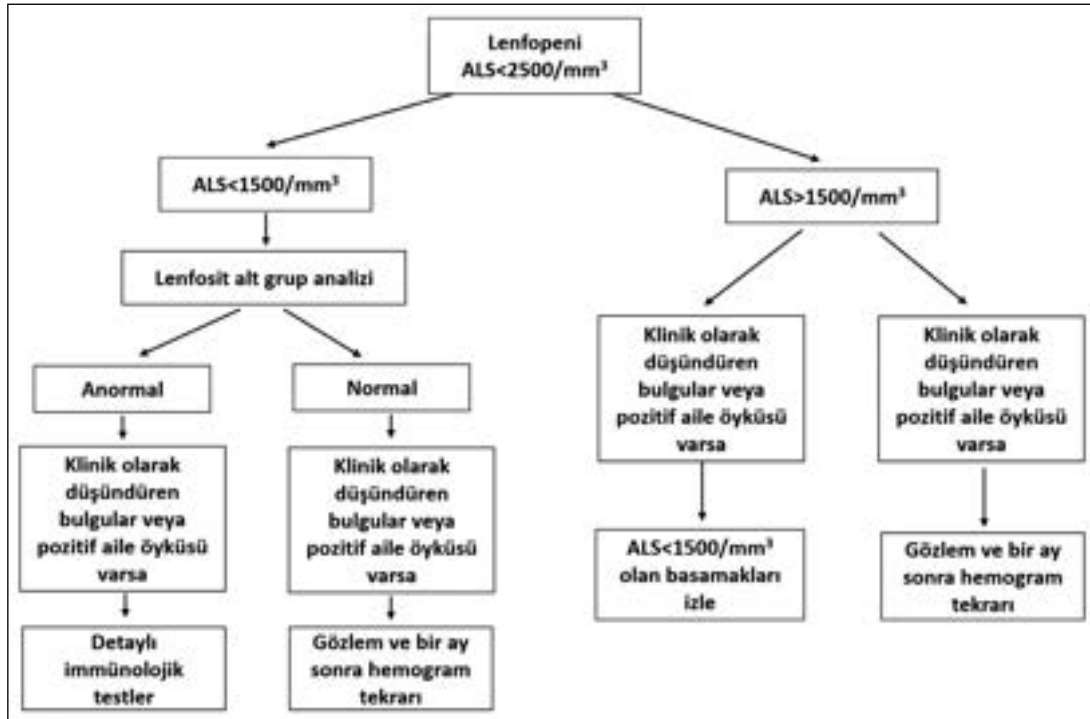
Bu testlerin bir kısmı takip sırasında belli aralıklarla tekrar edilmelidir.

Genetik testler ise,

- Eğer belli bir hastalık kuvvetle düşünülüyorsa: hedeflenmiş gen testi
- Eğer belli bir grup hastalık düşünülüyorsa (antikor eksikliği, kombine PIY gibi) genetik panel testleri
- Eğer birbiri içine geçebilecek hastalıkların şüphesi varsa tüm ekzom ya da genom testleri önerilmektedir (6).

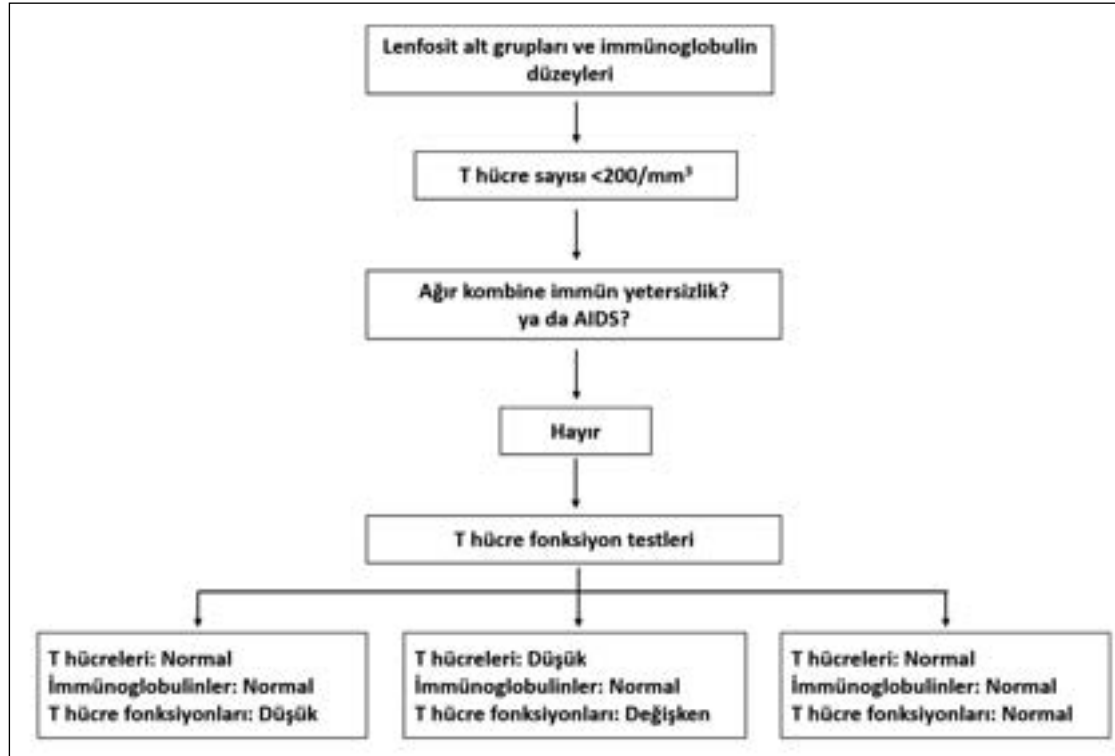
AKİY dışı kombine immün yetersizlikler için istenmesi gereken tetkikler (7);

- IgG, A, M, E
- Lenfosit alt grupları
- Lenfosit proliferasyon testleri
- Maternal engrafman testleri
- CMV PCR/HIV DNA
- 22q11 delesyon sendromu için genetik test
- Sendromik özellikler eşlik ediyorsa: tüm ekzom analizi istenir.
- Lenfopenik olan hastaya yaklaşım şeklinde özetlenmiştir (Şekil 1) (4).



Şekil 1. Lenfopenik hastaya yaklaşım

ALS: Absolü lenfosit sayısı



Şekil 2. Kombine immün yetersizlik bulguları olan hastaya temel yaklaşım

AIDS: Kazanılmış immün yetersizlik sendromu

Kombine immün yetersizlik bulguları olan hastaya temel yaklaşım şekilde özetlenmiştir (Şekil 2) (8-10).

KAYNAKLAR

1. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, Al-Herz W, et al. The 2022 update of IUIS phenotypical classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1508-20.
2. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1473-507.
3. Dvorak CC, Haddad E, Heimall J, Dunn E, Buckley RH, Kohn DB, et al. The diagnosis of severe combined immunodeficiency (SCID): The Primary Immune Deficiency Treatment Consortium (PIDTC) 2022 Definitions. *J Allergy Clin Immunol* 2023;151(2):539-46.
4. Aluri J, Gupta MR, Dalvi A, Mhatre S, Kulkarni M, Desai M, Shah NK, et al. Lymphopenia and Severe Combined Immunodeficiency (SCID) - Think Before You Ink. *Indian J Pediatr* 2019;86(7):584-9.
5. Shearer WT, Dunn E, Notarangelo LD, Dvorak CC, Puck JM, Logan BR, et al. Establishing diagnostic criteria for severe combined immunodeficiency disease (SCID), leaky SCID, and Omenn syndrome: the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium experience. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(4):1092-8.
6. Heimall JR, Hagin D, Hajjar J, Henrickson SE, Hernandez-Trujillo HS, Tan Y, et al. Use of genetic testing for primary immunodeficiency patients. *J Clin Immunol* 2018;38:320-9.
7. Dorsey M, Puck J. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in the US: Current status and approach to management. *Int J Neonatal Screen* 2017;3(2):15.
8. Roifman CM, Somech R, Kavadas F, Pires L, Nahum A, Dalal I, et al. Defining combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(1):177-83.
9. Sulcebe G. Establishing a primary immunodeficiency diagnosis: Increasing the awareness about a not so uncommon pediatric condition. *AJMHS* 2016;47(2/3):1-17.
10. Aranda CS, Guimarães RR, de Gouveia-Pereira Pimentel M. Combined immunodeficiencies. *J Pediatr (Rio J)* 2021;97 Suppl 1(Suppl 1):S39-S48.

Fagositer Sistem Kusurları İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

Doç. Dr. Ayça KIYKIM

1. GİRİŞ

Uluslararası İmmünoloji Dernekleri 2022 sınıflamasına göre fagositer sistem bozuklukları; konjenital nötropeniler, hareket kusurları, solunumsal patlama bozuklukları ve non-lenfoid değişimler olmak üzere dört ana başlıkta incelenmektedir (1). Bu başlıklar altında toplanan fagositer sistem bozuklukları, mantarlar (*Candida*, *Aspergillus* vb) ve bakterilerle (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp., *Nocardia* vb) tekrarlayan ve/veya ağır enfeksiyonlara neden olmaktadır (2). Göbek kordonunun düşmesinde gecikme, periodontal hastalık, abseler, ağız içi ülserler ve yara iyileşmesinde gecikme fagositer sistem bozukluklarını düşündürmelidir (3).

2. NÖTROPENİLER TANIMLAMA; KONJENİTAL/ KAZANILMIŞ, SENDROMİK/SENDROMİK OLMAYAN

Erişkin ve çocuklarda nötrofil sayısının $1500/\text{mm}^3$, yeni doğanlarda $2500/\text{mm}^3$ altında olması nötropeni olarak isimlendirilmektedir. Asemptomatik olabilmekte veya ağır enfeksiyonlarla gürültülü seyredabilmektedir. Nötropeniler konjenital ve kazanılmış olarak iki alt başlıkta toplanmaktadır. Konjenital nötropeniler immün sistemin doğumsal hastalıkları içerisinde yer almakta, enfeksiyonlar, ilaçlar, otoimmünite, maligniteler ve beslenme bozuklukları kazanılmış nötropeniye neden olabilmektedir (4). Ağır konjenital nötropenilerde mutlak nötrofil sayısı çoğunlukla $200/\text{mm}^3$ 'ün altında kalmakta ve doğumdan itibaren bulgu verebilmektedir. Kemik iliği incelemesinde promyelosit-myelosit evresinde gelişimde duraksama görülmektedir. Siklik nötropenide ise, 21 günde bir tekrarlayan, yaklaşık 4-6 gün süren nötropeni dönemleri tipiktir. Siklik nötropeni tanısı koyabilmek için 4-6 hafta süreyle, haftada 2-3 gün kan nötrofil sayısı izlemi gerekmektedir.

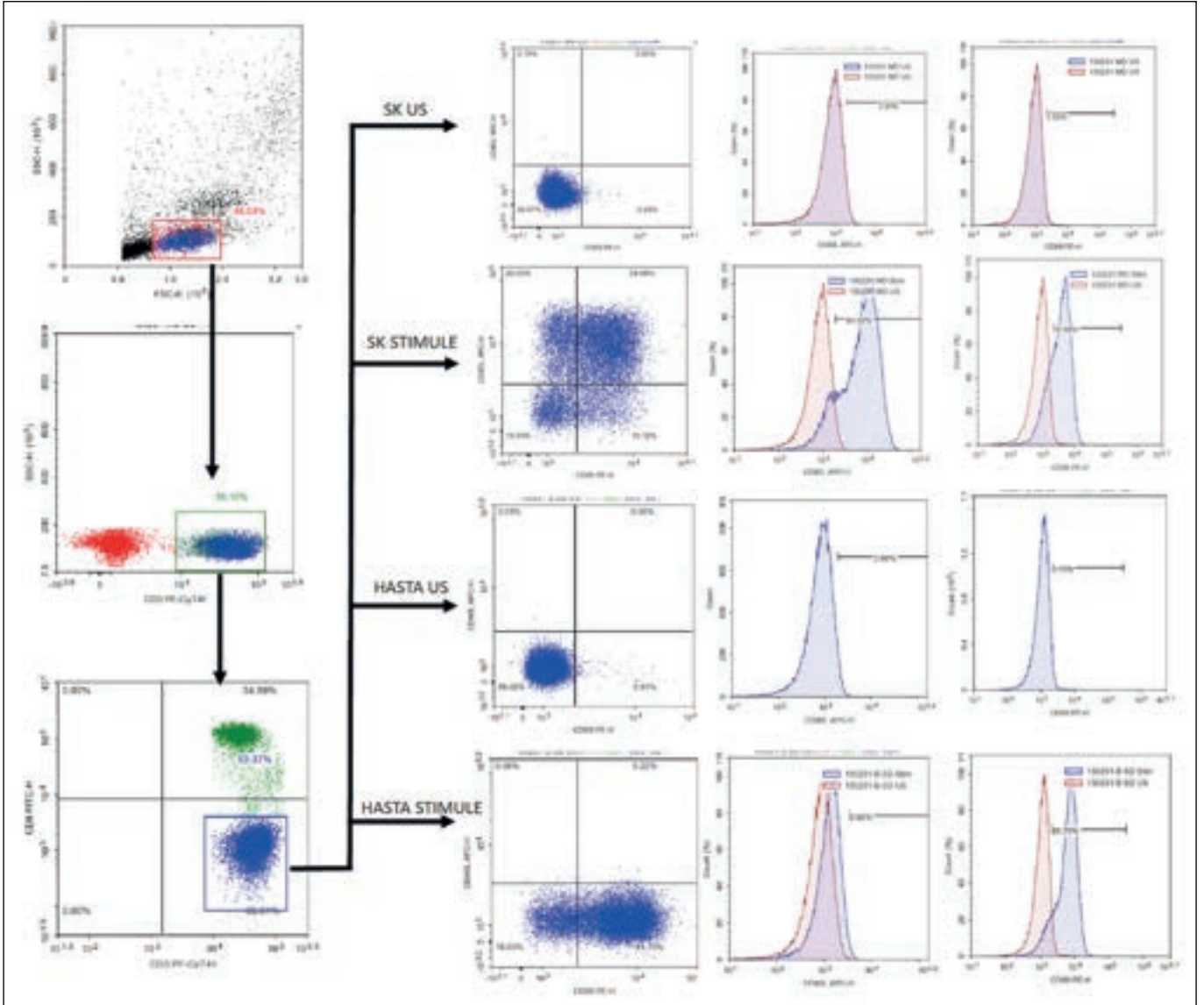
Nötropenik dönemlerde hastalar klasik klinik bulguları gösterirler. Otozomal dominant kalıtılan ELANE gen mutasyonları siklik nötropeniye yol açabilmektedir. Diğer ağır konjenital nötropenilerin tersine miyelodisplazi veya lösemik dönüşüm siklik nötropenide nadirdir (4, 5). Nötropenilerde mukozalarda, oral kavite ve deriye lokalize, tekrarlayan ağır bakteriyel enfeksiyonlar görülebilmektedir. Periodontit, aftöz stomatit, abse oluşumu ve tekrarlayan gingivite bağlı olarak dişlerde hasar ve dökülmeler en sık görülen klinik bulgulardır. Yara iyileşmesinde gecikme eşlik edebilmektedir (6-8).

Konjenital nötropeniler içerisinde bazı genler izole nötropeniye neden olabilirken bazılarında sendromik özellikler eşlik eder; bu ayırıcı özellikleri tanımak tanı yolunda yardımcı olacaktır (Tablo 1) (1). Saptanan mutasyonun özelliğine göre değişmekle birlikte bazı olgularda nörolojik bulgular, gelişme geriliği, bilişsel işlevlerde bozulma, kardiyak anomaliler, yüzeysel venlerde belirginleşme görülebilmektedir (9, 10). Nötropeni ile başvuran bir hastada öncelikle ayrıntılı bir öykü sorgulanmalıdır. Ağır konjenital nötropenilerde nötropeni doğuştan itibaren mevcuttur. Sonradan gelişen nötropenilerde altta yatan başka nedenler bulunmaktadır. Ancak nötropeni ile uyumlu klinik bulgu varlığında sendromik nötropeniler açısından eşlik eden diğer ipuçları aranmalı ve gerektiğinde kemik iliği incelemesi yapılmalıdır.

Nötropeni başka primer immün yetersizliklere de eşlik edebilmektedir. Bunlar arasında X'e bağlı hiperIgM sendromu ve X'e bağlı agammaglobulinemi (Bruton hastalığı) yer almaktadır. HiperIgM sendromunda laboratuvar incelemesinde IgM düzeyleri normal veya artmış, diğer Ig'ler (IgA, IgG ve IgE) düşüktür. X'e bağlı hiperIgM sendromu CD40 ligandı kodlayan gende hatanın neden olduğu has-

talıktır. CD40 ligand (CD154) varlığı akan hücre ölçer ile değerlendirilebilmektedir. Periferik kan mononükleer hücrelerin ayrımı sonrası forbol miristat asetat (PMA) ve ionomisin ile uyarılmış CD4⁺ T lenfositlerde önce aktivasyon belirteci CD69 ifadesi bakılıp ardından bu aktive T lenfositlerde CD154 proteininin ifade edilememesi ile akan hücre ölçerlerde gösterilmektedir (Şekil 1). Tüm hastalarda protein eksik olmasa da saptanamaması tanıda yardımcı olabilmektedir (11).

Bruton hastalığında ise, Bruton tirozin kinaz (BTK) gen mutasyonlarına bağlı B lenfosit gelişim duraksaması görüldüğünden periferik B lenfosit sayısı çoğunlukla %2'nin altındadır. Hastalarda tüm immünglobulin tiplerinin düşük olması beklenir. Nötropeniyle beraber ağır B lenfopenisinin varlığı tanıda yardımcıdır. Bu olgularda da monositlerde BTK protein ifadesi akan hücre ölçer ile değerlendirilebilir ancak BTK proteininin gösterilmesi tanıyı dışlamamaktadır (12).



Şekil 1. Akan hücre ölçerlerde CD40L ifadesi

US: Unstimule, SK: Sağlıklı kontrol

*Kullanılan akan hücre ölçer görüntüsü, Aziz Sancar Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü'nde çalışılmış olup, Prof. Dr Günnur Deniz ve Doç. Dr. Yusuf Metin Gelmez'in izniyle paylaşılmıştır.

Tablo 1. Konjenital nötropeniler (1)

Hastalık	Genetik bozukluk	Kalıtım tipi	Klinik bulgular
Elastaz eksikliği (Ağır konjenital nötropeni 1)	ELANE	OD	MDS/lösemiye yatkınlık Ağır konjenital nötropeni Siklik nötropeni
GFI 1 eksikliği (Ağır konjenital nötropeni 2)	GFI1	OD	B/T lenfopeni
HAX1 eksikliği (Ağır konjenital nötropeni 3)	HAX1	OR	Kognitif ve nörolojik bozukluklar MDS/lösemiye yatkınlık
G6PC3 eksikliği (Ağır konjenital nötropeni 4)	G6PC3	OR	Yapısal kalp bozuklukları, ürogenital anomaliler, sağırılık, gövde ve bacaklarda venöz damarlarda genişleme
VPS45 (Ağır konjenital nötropeni 5)	VPS45	OR	Ekstramedüller hematopoez, kemik iliği fibrozisi, nefromegali
Glikojen depo tip 1 b	G6PT1	OR	Açlık hipoglisemisi, laktik asidoz, hiperlipidemi, hepatomegali
X'e bağlı nötropeni/miyelodisplazi	WAS	X'L GOF	Nötropeni, miyeloid matürasyon bozukluğu, monositopeni, değişken lenfosit sayısı
P14/LAMTOR2 eksikliği	LAMTOR2	OR	Nötropeni, hipogamaglobulinemi, azalmış CD8 sitotoksitesi, parsiyel albinizm, büyüme gelişme geriliği
Barth sendromu (3-Metilglutakonik asidüri tip II)	TAZ	X'L	Kardiyomyopati, myopati, gelişme geriliği, nötropeni
Cohen sendromu	VPS13B	OR	Dismorfik bulgular, mental gerilik, obezite, sağırılık
Clericuzio sendromu (Poikiloderma ve nötropeni)	USB1	OR	Retinopati, gelişme geriliği, tırnak distrofisi, orta yüz hipoplazisi, poikiloderma
JAGN1 eksikliği	JAGN1	OR	Myeloid gelişimde duraksama, osteopeni
3-metil glutakonik asidüri	CLPB	OR	Nörokognitif gelişim bozuklukları, mikrosefali, hipoglisemi, hipotoni, ataksi, nöbet, katarakt, IUGG
G-CSF reseptör eksikliği	CSF3R	OR	
SMARCD2	SMARCD2	OR	Gelişimsel bozukluklar, myelodisplazi
Spesifik granül eksikliği	CEBPE	OR	Bilobe çekirdekli nötrofiller
	SBDS	OR	Pansitopeni, ekzokrin pankreas yetmezliği, kondrodizplazi
Schwachman-Diamond sendromu	DNAJC21	OR	Pansitopeni, ekzokrin pankreas yetmezliği
	EFL1	OR	
HYOU1 eksikliği	HYOU1	OR	Hipoglisemi, enflamatuvar komplikasyonlar
SRP54 eksikliği	SRP54	OD	Ekzokrin pankreas yetmezliği
CXCR2 eksikliği	CXCR2	OR	Ağır nötropeni, myelokateksis, rekürren gingivitis, oral ülserler, hipergammaglobulinemi

OD: Otozomal dominant, **OR:** Otozomal resesif, **GOF:** Fonksiyon kazandıran mutasyon (gain of function), **IUGG:** İntrauterin gelişme geriliği, **MDS:** Myelodisplastik sendrom, **G-CSF:** Granülosit koloni uyarıcı faktör

Otoimmün nötropeniler, primer immün yetersizlikler ve romatolojik hastalıkların seyri gibi pek çok durumda görülebilmektedir. Anti nötrofil antikorların ölçümü (nötrofil yüzeyine bağlı antikorların saptanması için) yanlış negatiflik ve pozitiflik oranlarının yüksek olması nedeniyle tanıda yardımcı değildir. Nötrofillerin antijenik yapılarına karşı gelişmiş antikorların plazmada araştırılması daha yararlıdır (13).

Tedavide granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) olgularında nötrofil sayılarının ve işlevlerinin artırılmasında yardımcı olabilmektedir. Kemik iliği incelemesinden sonra başlanmalıdır. Myelodisplazi ve akut myeloid lösemiye dönüşüm ağır konjenital nötropenilerde görülebilmektedir. Bu nedenle izlemde gerekirse aralıklı kemik iliği biyopsisi yapılmalı ve G-CSF reseptör mutasyonu açısından dikkatle incelenmelidir (14).

Nötropeniyle gelen hastada aşağıdaki sorular sorulmalıdır (14).

- Hastanın eşlik eden klinik bulguları var mı? Ateş, gingivitis, oral ülser, pnömoni, abse, perianal hastalık eşlik ediyor mu?
- Daha önceki nötrofil sayıları nasıl (akut/kronik)?
- Ailede benzer olgu varlığı?

Fizik bakıda tüm sistemler, özellikle ağız içi ve perianal bölge incelenmelidir. Eşlik eden deri döküntüleri (poikilodermi), tırnak distrofisi, yüzeysel venlerde belirginleşme (G6PC3 gen mutasyonu) gibi bulgular tanıya yardımcı olabilmektedir.

Laboratuvar incelemede kemik iliği baskılanması veya hipersplenizm düşündürecek eşlik eden diğer sitopeniler, trombositopeni varlığı araştırılmalıdır.

Kemik iliği incelemesinde olgunlaşmada duraksama olabileceği gibi WHIM (sigiller, hipogamaglobulinemi, myelokateksis sendromu) sendromunda myelokateksis görülmektedir.

- Özetle nötrofil defekti düşünülen hastalarda öncelikle kan sayımı ve periferik yayma değerlendirilmelidir.
- Ağır konjenital nötropenilerde hipergammaglobulinemi ve monositoz görülebilmektedir (15).
- Otoimmün nötropenilerde nötrofil yüzeyinde antikorların taranmasına yönelik anti nötrofil antikor testleri istenebilir ancak yanlış negatiflik ve pozitiflik oranı yüksektir.
- Ağır konjenital nötropenilerde doğumdan itibaren çoğunlukla 200-500/mm³ altında değerler görülmektedir. Kemik iliğinde gelişimde duraksamanın görülmesi tanıya yardımcıdır.
- Siklik nötropenilerde tanı için 4-6 hafta süreyle, haftada 2-3 kez nötrofil sayımı yapılmalıdır.
- İkincil nötropeniye neden olan Bruton agammaglobulinemisi ve X'e bağlı hiperIgM sendromunda BTK ve CD40L protein ifadeleri akan hücre ölçerde çalışılabilir.

3. FAGOSİTER SİSTEMİN HAREKET (MOTİLİTE) KUSURLARI

Hareket bozuklukları arasında en önemli grup lökosit adezyon bozukluklarıdır (LAD). Lökositlerin patojenlere karşı savunma işlevlerini yerine getirebilmeleri için inflamasyonun olduğu bölgeye göç etmeleri gerekmektedir.

dir. Periferik dolaşımdan olay yerine göçleri sırasında pek çok farklı adezyon molekülü görev alır ve dört basamakta gerçekleşir: 1) önce damar duvarına gevşek bağlantılarla lökositlerin yuvarlanma evresi başlar (*rolling*). Burada aracı molekül aktif endotelde bulunan selektinler ve onların lökositler üzerine karşılık gelen siyalize ligandlarıdır, 2) bu evreyi endotel duvarına yaklaşan lökositlerin kemokin ve sitokinlerle etkileşimi ve integrinlerin aktif hale gelişimleri (*aktivasyon*), 3) ardından aktifleşmiş integrinlerin ICAM ligandlarıyla bağlanması sonucu sıkı bağlantı gerçekleşir ve 4) kemoatraktif faktörlerle lökositlerin iltihaplı dokuya geçişi sağlanır (*transmigirasyon*) (16). Yuvarlanma fazındaki bozukluk LAD-II'ye neden olurken LAD III'te lökositlerin aktivasyonu, yani ikinci evre bozuktur. LAD tip I'de ise lökositlerin endotele sıkı bağlantısı (3. evre) gerçekleşmez. Klinik olarak hastalarda nötrofilik lökositoz ve enfeksiyon bölgesinde püy yokluğu görülmektedir. Göbek bağının düşmesinde gecikme en tipik bulgularındandır. Tekrarlayan bakteriyel ve mantar enfeksiyonları, deriyi, derin dokuları, gastrointestinal ve solunum yollarını, oral-genital mukozayı tutabilmektedir (16). Enfeksiyon LAD tip 2'de daha az görülürken, bu hastalarda mental gerilik belirgindir. H antijeni yokluğuna bağlı Bombay tipi kan grubu tipiktir. Bombay tipi kan grubunda kanda antijenik yapı görülmez, Rh ve AB kan gruplarına karşı antikor içerirler. LAD tip 3'te trombosit agregasyonu da bozuk olduğundan kanama diyatezi eşlik edebilmektedir. Kemik rezorpsiyonu yapan osteoklastlarda da adezyon kusurlu olduğundan osteopetrozis benzeri kemik tutulumu görülebilmektedir. Hepatosplenomegali eşlik ettiğinden juvenil myeloid monositik lösemi ile karışabilmektedir (16).

LAD tip 1'de integrin beta 2 zincir (CD18) akan hücre ölçerde gösterilebilir. CD18, CD11a, CD11b, CD11c ve CD11d'ye bağlanabilir. En iyi değerlendirme granülositler üzerinde CD18 ve CD11a, CD11b, CD11c protein ifadelerine bakmaktır. CD18 ifadesinin <%2 olduğu hastalar ağır, %2-30 arasında görülenler orta şiddette değerlendirilmektedir (17). LAD II'de sialyl-Lewis X'e karşılık gelen CD15a düzeyine akan hücre ölçerde bakılabilir (16). Tip I ve tip II tanısında akan hücre ölçer yardımcıdır (Tablo 2).

4. SOLUNUMSAL PATLAMA BOZUKLUKLARI

Nötrofiller konak savunması sırasında oksijen bağımlı ve bağımlı olmayan mikrobisidal mekanizmalar kullanırlar. Oksijen bağımlı olanlar reaktif oksijen radikallerinin (ROS) oluşumunu içerir ve mikrobisidal etkiye sahiptir. Oksijen bağımsız olanlar; kemotaksis, fagositoz, degranü-

Tablo 2. Lökosit adezyon bozuklukları özellikleri

	LAD-1	LAD-2	LAD-3
Kalıtım ve gen	Otozomal resesif ITGB2	Otozomal resesif SLC35C1	Otozomal resesif FERMT3
Patogenez	B2 integrin CD18 işlevi bozuk	Postranslasyonel fukozilasyonda bozukluk	Integrin adaptor molekül kindlin-3 işlev kaybı
Klinik	Umbilikal kordun düşmesinde gecikme Tekrarlayan enfeksiyon Yara iyileşmesinde gecikme	Tekrarlayan enfeksiyon Pnömoni	Umbilikal kordun düşmesinde gecikme Tekrarlayan enfeksiyon Yara iyileşmesinde gecikme
Laboratuvar	Nötrofili	Nötrofili	Nötrofili
Diğer		Mental retardasyon Boy kısalığı Dismorfik yüz Bombay kan grubu	Glanzman trombastenisi gibi trombosit işlev bozukluğu Kanama diyatezi Osteopetroz benzeri kemik bulguları
Tedavi	Enfeksiyonların tedavisi Ustekinumab KHN	Fukoz	Enfeksiyonların tedavisi Faktör VIIa KHN
Sağkalım	%75 14.6±1.9 yıl	%50 14.3±6.5 yıl	%40 4.4±1.6 yıl

KHN: Kök hücre nakli, **LAD:** Lökosit adezyon defekti, **ITGB2:** Intergin altınite beta 2, **SLC35C1:** Solüt taşıyıcı aile 35 üye C1, **FERMT3:** FERM domanı içeren Kidlin 3

lasyon ve bakterisidal peptidlerin salınımı gibi mekanizmaları içermektedir (18).

Kronik granülatöz hastalık (KGH) nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz enzim sistemindeki kusurlardan kaynaklanmaktadır. Fagositer hücrelerin ROS üretmek için kullandıkları NADPH oksidaz enzim kompleksinin bileşenlerinden herhangi birinin eksikliği KGH'a neden olabilmektedir (19). Hastalarda katalaz pozitif mikroorganizmalarla tekrarlayan ve ağır enfeksiyonlar görülmektedir. En sık akciğer, lenf nodları, deri ve karaciğer tutulmaktadır. Granülom oluşumuyla giden enflamatuvar komplikasyonlar akciğerler, gastrointestinal ve ürogenital sistemde görülebilmektedir (19). En sık görülen etkenler; *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens* gibi katalaz pozitif bakteriler, *Nocardia* ve *Aspergillus* gibi mantarlardır (20, 21). Tekrarlayan lenfadenit, akciğer enfeksiyonu, deri ve/veya organ abselerinin varlığında, uzamış ateş ve hemofagositik lenfositosisizoz durumlarında KGH düşünülmelidir.

Enzim kompleksi esas olarak 5 bileşenden oluşur; membrana bağlı gp91phox ve p22phox, sitozolde bulunan p47phox, p67phox ve p40phox. Her bir bileşenin kodlandığı gendeki patojenik varyant KGH kliniğine neden olabilmektedir (gp91phox→CYBB, p22phox→CYBA, sitozolde bulunan p47phox→NCF1, p67phox→NCF2 ve p40phox→NCF4). Sitokromun bir araya gelmesi, diğer beş

bileşenin endoplazmik retikulum membranında stabilize olması için altıncı bir protein olan EROS'a ihtiyaç duymaktadır (CYBB1 geni kodlar). Oksidazın işlevsel olması için aynı zamanda Rac2'nin katılımı gerekmektedir. CYBB geni X'e bağlı KGH'a neden olurken diğer gen mutasyonları otozomal resesif kalıtılmaktadır. NADPH oksidaz oluşumundan sonra bir elektron koparılmakta ve oksijene eklenerek süperoksit oluşmakta. Daha sonra kendiliğinden veya süperoksit dismutaz aracılığıyla enzimatik olarak hidrojen peroksit dönüşmektedir. Hidrojen peroksit süperoksit anyon ile reaksiyona girdiğinde hidroksil radikalleri oluşmakta, miyeloperoksit ve klorin varlığında hipoklorik asite dönüşmektedir. Oksijenin kullanılarak süperoksit ve metabolitlerinin oluşumu "solunumsal patlama" olarak isimlendirilmektedir. Reaktif oksijen radikallerinin oluşumu fagolizozoma potasyum ve proton akımına neden olur böylece elastaz ve katepsin G gibi granül proteazların aktivasyonu sağlanmaktadır. Bu proteazlar fagosite edilmiş mikroorganizmanın ortadan kaldırılmasına yol açmaktadır (22).

Kronik granülatöz hastalıkta kan sayımı, lenfosit alt grupları, immünglobulinler ve aşı antikor yanıtları çoğunlukla normaldir. Kronik enflamasyona bağlı hipergamaglobulinemi görülebilmektedir. Nötrofil fonksiyonlarına yönelik testler tanıda kullanılmaktadır. Bu amaçla en sık nitroblue tetrazolium (NBT) testi ve dihidrorodamin (DHR) 123 testi kullanılmaktadır. DHR testi CYBB gen de-

fekti taşıyıcılarının belirlenebilmesi, enzim aktivitesinin daha objektif ölçülmesi ve kullanım kolaylığı nedeniyle daha çok tercih edilmektedir. NBT ile daha çok semi-kantitatif sonuçlar elde edilmektedir. *In vitro* yolla bir uyarın aracılığıyla nötrofillerdeki sarı boya, mavi-siyah formazana dönüşür ve ışık mikroskopunda boyalı hücreler sayılır. DHR testi benzer ilkelerle akan hücre ölçerde çalışılan yöntemdir. Dihidrorodamin oksitlendiğinde rodamine dönüşür, uyarılmış ve uyarılmamış rodaminin ortalama floresan yoğunluğu oranı değerlendirilir (stimülasyon indeksi). Ölçüm ile elde edilen oran ROS üretimini yansıtır, rezidüel oksidaz aktivitesi hastaların uzun dönem sağ kalımıyla korelidir (23). Akan hücre ölçer aynı zamanda NADPH oksidaz bileşenlerinin işlevlerini de göstererek moleküler tanıdan daha hızlı sonuç verebilir (24). Kan örneklerinin geç çalışılması gibi bazı durumlarda DHR yanlış sonuçlara yol açabilmektedir. *In vitro* çalışmalarda asetaminofenin süperoksiti uzaklaştırma ve miyeloperoksidaz aktivitesini inhibe ederek nötrofil işlevlerini bozduğu gösterilmiştir (25). *In vivo* çalışmalarda da asetaminofen kullanımı sırasında %22'ye varan oranda DHR testinin KGH hastaları ile karışacak kadar yanlış pozitifliğe yol açtığı gösterilmiştir (26).

Miyeloperoksidaz (MPO) enziminde tam eksiklik varlığında DHR sonucu yanıltıcı olabilmektedir. Bu nedenle DHR testinde stimülasyon indeksi düşük saptandığında akan hücre ölçer ile granülositlerde hücre içi boyama ile MPO ifadesi çalışılması gerekebilmektedir (27).

5. NON-LENFOİD BOZUKLUKLAR

Bu grup içerisinde otozomal dominant kalıtılan GATA2 eksikliği ve pulmoner alveoler proteinozis (PAP) yer almaktadır. X'e bağlı kalıtılan CSF2RA ve otozomal resesif kalıtılan CSFR2B mutasyonları PAP'a neden olmaktadır. GATA2 hematopoetik sistem gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Eksikliği monositopeni ve mikobakteriyel enfeksiyonlar sendromu (monoMAC), dendritik hücre, monosit, B ve NK hücre eksikliği (DCML eksikliği), familial myelodisplastik sendromlar (MDS)/akut myeloid lösemi (AML), Emberger sendromu (MDS ile beraber primer lenfödem) gibi farklı klinik tiplerle karşımıza çıkabilmektedir. Pulmoner alveoler proteinozis görülen hastalar immün yetersizlikler açısından araştırılmalıdır. Adenozin deaminaz eksikliği, STAT5B eksikliği de aynı tabloya neden olabilmektedir (28).

KAYNAKLAR

1. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1473-507.
2. Boxer LA. How to approach neutropenia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:174-82.
3. Uzel G, Holland SM. Phagocyte deficiencies. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT Schroeder Jr HW et al. editors. *Clinical Immunology principles and practice*. 4th ed. Elsevier: Elsevier Saunders 2013;270-83.
4. Gibson C, Berliner N. How we evaluate and treat neutropenia in adults. *Blood* 2014;124(8):1251-8.
5. Farruggia P. Immune neutropenias of infancy and childhood. *World J Pediatr* 2016;12(2):142-8.
6. Walkovich K, Connelly JA. Congenital neutropenia and rare functional phagocyte disorders in children. *Hematol Oncol Clin North Am* 2019;33(3):533-51.
7. Rezaei N, Moazzami K, Aghamohammadi A, Klein C. Neutropenia and primary immunodeficiency diseases. *Int Rev Immunol* 2009;28(5):335-66.
8. Klein C. Congenital neutropenia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009:344-50.
9. Boztug K, Appaswamy G, Ashikov A, Schäffer AA, Salzer U, Diestelhorst J, et al. A syndrome with congenital neutropenia and mutations in G6PC3. *N Engl J Med* 2009;360(1):32-43.
10. Boztug K, Rosenberg PS, Dorda M, Banka S, Moulton T, Curtin J, et al. Extended spectrum of human glucose-6-phosphatase catalytic subunit 3 deficiency: Novel genotypes and phenotypic variability in severe congenital neutropenia. *J Pediatr* 2012;160(4):679-83.e2.
11. Lee WI, Torgerson TR, Schumacher MJ, Yel L, Zhu Q, Ochs HD. Molecular analysis of a large cohort of patients with the hyper-immunoglobulin M (IgM) syndrome. *Blood* 2005;105:1881.e90.
12. Kanegane H, Futatani T, Wang Y, Nomura K, Shinozaki K, Matsuura H, et al. Clinical and mutational characteristics of X-linked agammaglobulinemia and its carrier identified by flow cytometric assessment combined with genetic analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:1012-20.
13. Palmblad J, Nilsson CC, Höglund P, Papadaki HA. How we diagnose and treat neutropenia in adults. *Expert Rev Hematol* 2016;9(5):479-87.
14. Dale DC. How I diagnose and treat neutropenia. *Curr Opin Hematol* 2016;23(1):1-4.
15. Welte K, Zeidler C, Dale DC. Severe congenital neutropenia. *Semin Hematol* 2006;43(3):189-95.
16. Kambli PM, Bargir UA, Yadav RM, Gupta MR, Dalvi AD, Hule G, et al. Clinical and genetic spectrum of a large cohort of patients with leukocyte adhesion deficiency type 1 and 3: A multicentric study from India. *Front Immunol* 2020;11:612703.

17. Harris ES, Weyrich AS, Zimmerman GA. Lessons from rare maladies: Leukocyte adhesion deficiency syndromes. *Curr Opin Hematol* 2013;20(1):16-25.
18. Elloumi HZ, Holland SM. Diagnostic assays for chronic granulomatous disease and other neutrophil disorders. *Methods Mol Biol* 2007;412:505-23.
19. Marciano BE, Spalding C, Fitzgerald A, Mann D, Brown T, Osgood S, et al. Common severe infections in chronic granulomatous disease. *Clin Infect Dis* 2015;60(8):1176-83.
20. Winkelstein JA, Marino MC, Johnston RB Jr, Boyle J, Curnutte J, Gallin JI, et al. Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. *Medicine (Baltimore)* 2000;79(3):155-69.
21. Roos D. Chronic granulomatous disease. *Br Med Bull* 2016;118(1):50-63.
22. Reeves EP, Lu H, Jacobs HL, Messina CG, Bolsover S, Gabella G, et al. Killing activity of neutrophils is mediated through activation of proteases by K⁺ flux. *Nature* 2002;416(6878):291-7.
23. Köker MY, Camcıoğlu Y, van Leeuwen K, Kılıç SŞ, Barlan I, Yılmaz M, et al. Clinical, functional, and genetic characterization of chronic granulomatous disease in 89 Turkish patients. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(5):1156-63.e5.
24. Baris HE, Ogulur I, Akcam B, Kiykim A, Karagoz D, Saraymen B, et al. Diagnostic Modalities based on flow cytometry for chronic granulomatous disease: a multicenter study in a well-defined cohort. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020;8(10):3525-34.e1.
25. Freitas M, Costa VM, Ribeiro D, Couto D, Porto G, Carvalho F, et al. Acetaminophen prevents oxidative burst and delays apoptosis in human neutrophils. *Toxicol Lett* 2013;219:170-7.
26. Almutairi A, Zaman F, Day-Lewis M, Tsitsikov E, Reiter A, Xue K, et al. Acetaminophen inhibits the neutrophil oxidative burst: Implications for diagnostic testing. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020;8(10):3543-8.
27. Mauch L, Lun A, O’Gorman MR, Harris JS, Schulze I, Zychlinsky A, et al. Chronic granulomatous disease (CGD) and complete myeloperoxidase deficiency both yield strongly reduced dihydrorhodamine 123 test signals but can be easily discerned in routine testing for CGD. *Clin Chem* 2007;53(5):890-6.
28. Roncareggi S, Girardi K, Fioredda F, Pedace L, Arcuri L, Badolato R, et al. A Nationwide study of GATA2 deficiency in Italy reveals novel symptoms and genotype-phenotype association. *J Clin Immunol* 2023;43(8):2192-207.

Doğal Öldürücü ya da Sitotoksik T Hücre Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

Doç. Dr. Saliha ESENBOĞA
Prof. Dr. Deniz N. ÇAĞDAŞ AYVAZ

1. SİTOTOKSİK T LENFOSİT VE DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ HÜCRELER

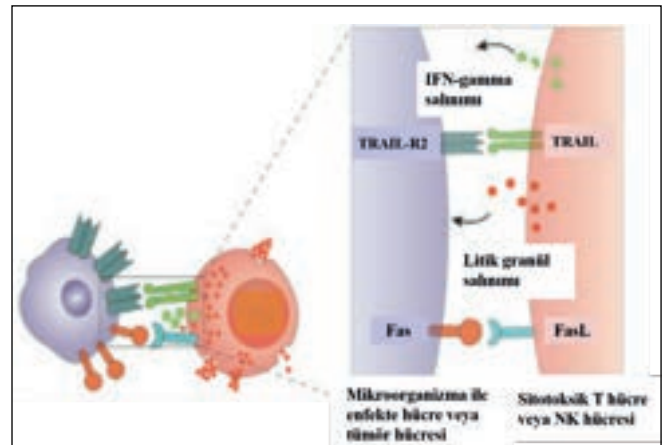
Sitotoksik T lenfositler (Tc) ve doğal öldürücü (natural killer - NK) hücreler anti-viral ve anti-tümör immünite ve sitotoksiteden sorumlu immün hücrelerdir. Perforin ve granzim içeren litik granüller salarak hedef hücrelerde apoptozu indüklemektedirler. Yüzeylerinde Fas ligand (FasL) ve tümör nekroz faktör ilişkili apoptozisi indükleyen ligand (TRAIL) eksprese etmekte interferon-gamma (IFN- γ) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) salgılamaktadırlar (Şekil 1). IFN- γ , hücre içi mikroorganizmalara karşı yanıtta önemli olup antijen sunumunu ve hücre içi öldürmeyi artıran önemli bir sitokindir. TNF- α ise proenflamatuar özellik göstermektedir. Sitotoksik hücrelerin aktivasyonu, IL-12, IL-18 ve IL-15 gibi sitokinler tarafından kolaylaştırılmaktadır (1).

Sitotoksik hücrelerin fonksiyonlarını düzenleyen en önemli transkripsiyon faktörleri Eomesodermin (Eomes) ve T-bet'tir. Eomes ve T-bet hem Tc hem de NK hücre gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar. Ancak bu faktörler, farklı hücre tiplerinde farklılık göstermektedirler. Eomes NK hücre gelişimi için kritik öneme sahipken, T-bet doğal (innate) lenfoid hücre 1 (ILC1) gelişimi için gereklidir ve Tc hücre işlevinde rol oynamaktadır. Eomes, perforin ve granzim B ekspresyonunu uyarırken NK hücreleri için kritik öneme sahiptir, T-bet ise IFN- γ ve IL-12R β 2 ekspresyonunu uyarılmaktadır (1).

Sitotoksik hücreler (Sitotoksik T lenfositler ve NK hücreleri) hücre içi patojenlere (*Salmonella*, *Listeria*, *M. tuberculosis* gibi hücre içi bakterilere ve virüslere) karşı savun-

mada önemli rol oynamakta, sitotoksik ve sitolitik fonksiyonlar göstermektedirler. Sitotoksik granül oluşumu, FasL aracılı ölüm, IFN- γ ve TNF- α gibi sitokinleri salgılamak gibi pek çok ortak özellik ve fonksiyona sahiptirler. Bu hücreler vücuttaki enfekte olmuş, dönüşüme uğramış ve stres altındaki hücreleri hedef almaktadırlar. Bu şekilde, sadece istenmeyen hücreleri ortadan kaldırmakla kalmamakta, aynı zamanda hücre homeostaza da katkıda bulunmaktadırlar.

Sitotoksik T lenfositler gelişim süreçlerini timusta tamamlamaktadırlar. CD8 eksprese eden ve yüksek oranda anti-jene özgü T hücre reseptörü taşımaktadırlar. Sitotoksik T



Şekil 1. Sitotoksik özellik gösteren hücrelerle (sitotoksik T lenfosit ve NK hücresi) mikroorganizmayla enfekte hücre ilişkisi (2)

NK: Doğal öldürücü, **TRAIL:** Tümör nekroz faktör ilişkili apoptozisi indükleyen ligand

lenfositler, naif CD8⁺T hücrelerinin farklılaşmasıyla ortaya çıkmaktadırlar. Antijen sunan hücrelerle etkileşime girdiklerinde aktive olurlar. Antijenleri tanıyabilmeleri için özel koşullar gerekli olup, konağın kendi hücrelerinde bulunan protein yapıdaki ana doku-uyumluluk yapısının yani major histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf I moleküllerine bağlanan ve bu moleküller tarafından sunulan özgül peptidleri tanırlar. Bu özgüllük sonucunda belirli bir antijenle karşılaşıldığında hafıza oluşumu ve uzun süreli bağışıklık sağlanmaktadır. Özellikle mikroorganizmalar ile enfekte olmuş hücrelerin veya tümör hücrelerinin doğrudan öldürülmesi sağlanır.

Doğal öldürücü hücre gelişiminde kemik iliği kritik yerdir; ancak NK hücre gelişiminin mikro çevre tarafından şekillendiği söylenebilir. Ortak lenfoid öncüden gelişen ve doğal immün sisteme ait bir lenfosit türü olan NK hücrelerinin T ve B hücrelerinin aksine somatik olarak yeniden düzenlenmiş antijene özgü reseptörleri yoktur; bunun yerine, hedef hücreleri tanımak için farklı reseptörleri vardır (1, 3). Antijen özgüllüğünden yoksun olup antijene özgü uyarıma, antijen sunumuna ihtiyaç duymaz, hafıza yanıtları sergilemez, klonal seçilime ihtiyaç duymazlar (1, 3, 4). Hücre-içi patojenlerin, özellikle virüslerin kontrolünde ve tümöral büyümenin baskılanmasında önemli bir rol oynarlar. NK hücreleri, ILC'ler ile aynı aileye üyedirler. Sitotoksik T lenfosit ve ILC1 hücrelere benzer çeşitli özellikler gösterirler. ILC1 hücrelere benzer şekilde TBX21 eksprese eder, IFN- γ üretirler, sitotoksik ve sitolitik fonksiyonlar gösterirler. Sitotoksik T lenfositlerden farklı olarak antitümör etki göstermek için antijen sunumuna ihtiyaç duymazlar (5, 6). NK hücreler, immünomodülatör etkilerini, iki kritik efektör fonksiyon aracılığı ile gerçekleştirirler. NK hücreleri, malign transformasyon gösteren veya hücre-içi patojenle enfekte hücreleri degranülasyon veya ölüm reseptörünün bağlanması ile doğrudan yıkıma uğratırlar. NK

hücreler, bol miktarda proenflamatuvar ve immünsüpresif sitokin üretebilirler. Bu sitokinler enflamatuvar mikro çevreye göre belirlense de NK hücreler temel olarak Th1 tipi sitokin üretirler. NK hücreler, aynı zamanda kemotaktik sitokinler de üretirler. Bu kemokinler efektör lenfosit ve miyeloid hücreleri enflamasyonun bulunduğu dokuya çağırır ve etkendirler (5, 6). İnsanlarda NK hücrelerin CD56 (nöral hücre adezyon molekülü) ekspresyon düzeyi, NK hücrelerin fonksiyonel olarak sınıflandırılmasını sağlamaktadır. Periferik dolaşımdaki NK hücrelerin %10 kadarı CD56 molekülünü düşük düzeyde (CD56) eksprese ederler. Bu hücreler granüllerinde perforin, granzim gibi litik proteinleri içeren ve sitolitik fonksiyonlar gösteren hücrelerdir. CD56 molekülünü yüksek düzeyde (%90) eksprese eden (CD56^{parlak}) NK hücreler ise daha az olgunlaşmış hücrelerdir ve sekonder lenfoid organlarda kalırlar, enflamatuvar sitokin üretim potansiyeli bu hücrelerde daha fazladır. NK hücre aktivasyonu aktive edici ve inhibe edici yüzey reseptörlerinin dengesine dayanmaktadır (5-7).

Sitotoksik T lenfosit (Tc) ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

2. DOĞAL (İNNATE) LENFOİD HÜCRELER

ILC'ler, ortak lenfoid öncü hücrelerden köken alan ve gelişimi için interlökin-2 reseptörünün ortak gama zincirine (IL-2RG, γ c) ihtiyaç duyan hücrelerdir. ILC ve T hücrelerinin gelişim ve farklılaşması için temel transkripsiyon faktörleri ortak olup, bu hücrelerin benzer olan işlevlerini yönlendirirler (8).

Geleneksel T ve B hücrelerinin aksine ILC'ler ve doğal öldürücü T (NKT) hücrelerin VDJ rekombinasyonu ile oluşmuş olan antijene özgü reseptörleri yoktur, antijene özgü reseptör sinyaline ihtiyaç duymadan mikro çevredeki si-

Tablo 1. Sitotoksik T lenfosit ve doğal öldürücü hücre özellikleri

	Sitotoksik T Lenfosit (Tc)	Doğal Öldürücü Hücre (NK)
Gelişim	Timus	Kemik iliği
Reseptörler	CD3, CD8, TCR, CD28	Öldürücü hücre immünoglobulin benzeri reseptörü (KIR), Doğal sitotoksikite reseptörü (NCR) (NKp30, NKp44, NKp46) CD16 (Fc γ RIII), NKG2D, CD56
İşlev	Antijen spesifik tanıma, hücre aracılı sitotoksikite, immün hafıza	Doğal immün yanıt, nonspesifik tanıma, sitotoksikite, antijen bağımlı hücrel sitotoksikite, immünregülasyon
Sitokinler	IFN- γ , TNF- α , IL-2	IFN- γ , TNF- α , IL-10, GM-CSF
Antijen tanıma	Spesifik tanıma, Antijen-MHC sınıf I kompleksini tanıma	Nonspesifik tanıma, malign transformasyon gösteren veya virüsle, hücre içi patojenle enfekte hücreleri tanıma

TCR: T hücre reseptörü, **GM-CSF:** Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör

tokin sinyallerine doğrudan yanıt verir ve epitel ile çapraz konuşma yoluyla immün homeostazda önemli rol oynarlar.

ILC alt grupları, CD4⁺ T yardımcı (Th) hücre alt gruplarına benzer işlevleri ve gelişim aşamaları vardır. ILC1, ILC2 ve ILC3 alt gruplarının, Th1, Th2 ve Th17'nin doğal immün sistemdeki muadilleri olduğu kabul edilmektedir. Benzer şekilde NK hücreleri CD8⁺ Tc hücrelerin muadilleridirler (Şekil 2) (8, 9).

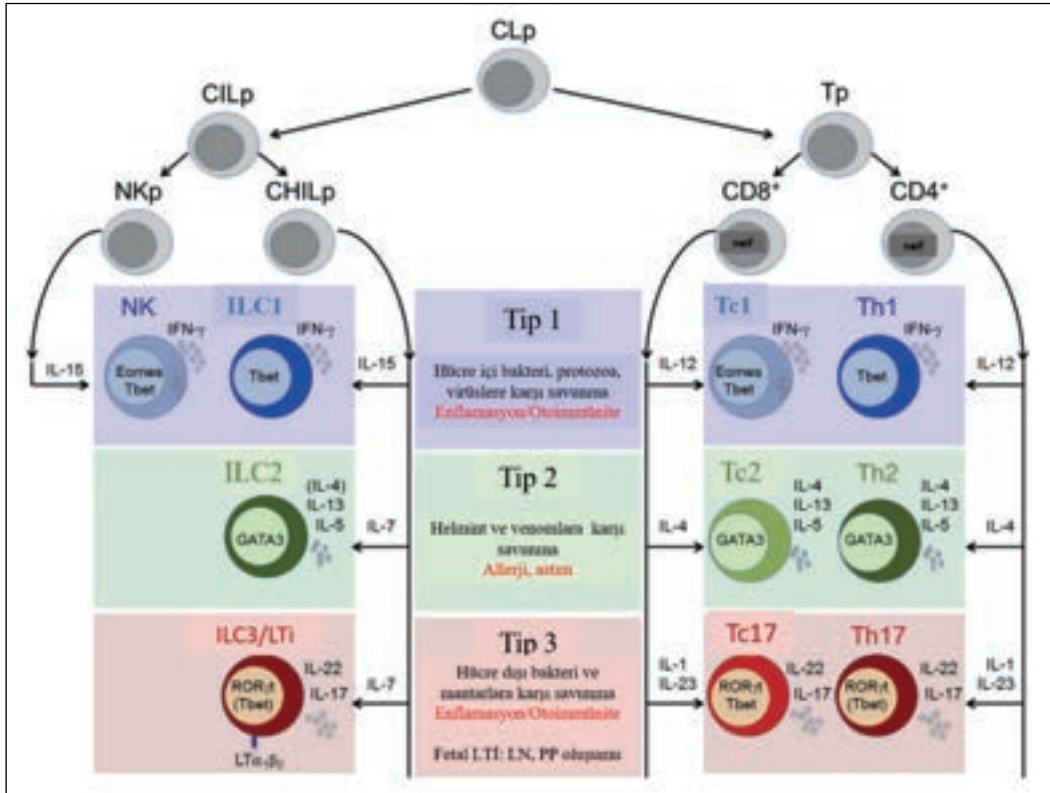
ILC1 alt grubu, IFN- γ ve TNF- α üreterek tip 1 immün yanıtlara katkıda bulunan bir grup hücredir (Şekil 2). Hem ILC1 hem de NK hücreleri tip 1 immün yanıtı destekler, ancak gelişimleri farklı evrimsel ilişkili transkripsiyon faktörlerine (T-box TF) bağlıdır. NK hücreleri hem Eomes hem de T-bet ifade eder ve gelişimleri için Eomes gereklidir, ILC1 tipi hücreler ise T-bet ifade eder, ancak Eomes ifade etmezler (8, 9).

ILC2 alt grubu hücrelerin gelişimi için GATA-3 ve BCL11B gerekmektedir, tip 2 sitokinleri (IL-5, IL-9, IL-13) ve diğer efektör molekülleri üreterek paraziter enfeksiyonlara yanıtı ve dokuların yeniden şekillenmesi ile ilgili yanıtları desteklemektedirler (8, 9).

ILC3 alt grubu ise fetal lenfoid doku tetikleyici (LTi) hücreler de dahil olmak üzere, ROR γ t bağımlı CCR6⁺ ILC3 ve CCR6⁻ ILC3 olarak ikiye ayrılırlar. Epitel bariyerini güçlendirmek için IL-22 üretirler. CCR6⁺ ILC3 grubu hücreler ayrıca IL-17 üretir ve mantar enfeksiyonlarına karşı koruma sağlarken, CCR6⁻ ILC3 grubu hücreler ILC1 benzeri hücrelere dönüşebilirler (4, 8, 9).

3. SİTOTOKSİK T LENFOSİT VE DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ HÜCRE EKSİKLİĞİ İLİŞKİLİ PRİMER İMMÜN YETERSİZLİKLER

Sitotoksik T lenfositler ve NK hücreler gibi immün hücreler tarafından düzenlenen sitotoksikite, immün gözetim ve savunma için çok önemlidir. Sitotoksikitede bozulmaya yol açan genetik bozukluklar, özellikle hücre içi patojenler tarafından tekrarlayan ve şiddetli enfeksiyonlar olarak kendini gösterirler. Kronik enfeksiyonlar, enfekte hücreleri ortadan kaldırma yeteneğinin etkilendiğini gösteren bir bulgudur. Bunun yanı sıra yaşamı tehdit eden hiperenflamatuvar bir sendrom olan hemofagositik lenfohistiyositoza (HLH) yatkınlık ortaya çıkmakta ve immün sistemin kontrolsüz aktivasyonu organ hasarına ve sistemik komplikasyonlara yol açmaktadır.



Şekil 2. Doğal ve edinsel immün sistemde hücre-aracılı immün yanıtın üç ana tipi, Tip 1, 2 ve Tip3 immün yanıt (9)

CLp: Ortak innate lenfoid prekürsör, CLp: Ortak lenfoid prekürsör, ILC: Doğal lenfoid hücre, LN: Lenf nodu, LTi: Lenfoid doku tetikleyici, PP: Payer plağı, Tp: T-hücre progenitor, Tc: Sitotoksik T hücre

Tablo 2. Sitotoksitenin etkilendiği primer immün yetersizlikler

Gen	Kalıtım şekli	Fonksiyonu
Granül Aracılı Sitotoksitede Moleküler Kusurlar		
PRF1	OR	Perforin, hedef hücre membranında porlar oluşturmak, granzimlerin girişini kolaylaştırmak ve apoptozu indüklemek için gereklidir.
GZMB	OR	Granzim B, hedef hücre içinde apoptotik yolların başlatılmasından sorumlu kilit bir efektör moleküldür.
STXBP2	OR	STXBP2 genindeki mutasyonlar sitotoksik granüllerin plazma membranı ile düzgün füzyonunu bozar. Bu da sitotoksik moleküllerin salınımını bozarak etkili hedef hücre yıkımını engeller.
UNC13D	OR	UNC13D genindeki mutasyonlar sitotoksik granüllerin plazma membranı ile düzgün füzyonunu bozar. Bu da sitotoksik moleküllerin salınımını bozarak etkili hedef hücre yıkımını engeller.
Sinyal Yollarında Moleküler Kusurlar		
IL-2/IL-15 Sinyalizasyon Eksiklikleri (IL2, IL2RA, IL2RB, IL2RG, IL15, IL15RA)		IL-2 veya IL-15 sinyal yollarıyla ilişkili genlerdeki mutasyonlar Tc ve NK hücre aktivasyonunu ve olgunlaşmasını bozar. Bu kritik sitokinlere verilen yanıtın azalması, fonksiyonel sitotoksik hücrelerin gelişimini bozar.
SH2D1A	X'e bağlı	XLP-1 hastaları, SLAM ailesi reseptörlerinin aracılık ettiği sinyal yollarındaki kusurlar nedeniyle sitotoksitede bozulmaya yol açar.

PRF1: Perforin 1, **GZMB:** Granzim B, **OR:** Otozomal resesif, **STXBP2:** Synaxtin bağlayan protein 2, **IL:** Interlökin, **NK:** Doğal öldürücü, **XLP:** X'e bağlı lenfoproliferasyon, **SLAM:** Sinyal veren lenfositik aktivasyon molekülü

Tablo 2'de sitotoksitenin etkilendiği yani NK ve Tc hücre işlevlerinin bozulduğu primer immün yetersizlikler özetlenmiştir.

3.1. Sitotoksik T Lenfosit Eksiklikleri ile İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

Sitotoksik T lenfositleri etkileyen primer immün yetersizlikler, temel sinyal moleküllerindeki eksikliklerden sitotoksik mekanizmanın kendisindeki anormalliklere kadar farklı bir spektrumda karşımıza çıkabilmektedirler. Tc hücrelerin etkilendiği primer immün yetersizlikler, genellikle T hücresi gelişimi, aktivasyonu veya sitotoksik işlevi için önemli olan genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. PRF1 (perforin), GZMB (granzim B), IL-2-indüklenebilir T-hücre kinaz (ITK) vb. genlerdeki mutasyonlar, sitotoksitede ve immün yanıtta bozulmaya neden olmaktadır. CD8 ko-reseptör aktivasyon yolu gibi T hücresi aktivasyonu ve işlevi için gerekli sinyal yollarındaki kusurlar Tc hücre eksikliklerine yol açabilmektedir. Bu bozukluklar genellikle hedef hücrenin tanınmasının ve sitotoksitenin bozulması ile sonuçlanmaktadır.

Sitotoksik T lenfosit eksikliği olan hastalarda tipik olarak virüsler, bakteriler ve mantarlar dahil olmak üzere hücre içi patojenlerle tekrarlayan, ağır enfeksiyonlar gelişmektedir. Bu enfeksiyonlar çok çeşitli organlarda geniş bir klinik yelpazede görülmektedir. Tc hücre eksiklikleri sıklıkla,

immün hücrelerin kontrolsüz aktivasyonu ve organ hasarı ile birliktelik gösteren yaşamı tehdit eden hiperenflamatuvar bir sendrom olan HLH ile ilişkilidir.

Sitotoksik T lenfosit eksikliklerinin ayırt edici özelliği, enfekte veya dönüştürülmüş hücreleri etkili bir şekilde ortadan kaldırma yeteneğinin bozulmasıdır. Bu durum, perforin aracılı hücre lizisinde, granzim aracılı apoptozda veya sitotoksik granül ekzositozundaki aksaklıklardan kaynaklanmaktadır. Tc hücrelerin düzenleyici işlevlerinin etkilenmesine bağlı olarak aşırı enflamasyon veya enfeksiyonların yetersiz kontrolü gibi immün yanıtların düzensizliği ortaya çıkmaktadır (10).

3.2. Doğal Öldürücü Hücre Eksiklikleri ile İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

NK hücre eksiklikleri, NK hücrelerinin bulunmadığı ya da çok az sayıda bulunduğu klasik NK hücre eksikliği ve normal sayıda buldukları, ancak işlevlerini yerine getiremedikleri fonksiyonel NK eksikliği olarak sınıflandırılmaktadır. NK hücreleri etkileyen PİY'ler genellikle NK hücre gelişimi, olgunlaşması ve işlevi için kritik olan genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. NK hücre sitotoksitesinde rol oynayan GATA2, PRF1 ve UNC13D gibi genlerde, fonksiyonel bozukluklara yol açan mutasyonlar olabilmektedir. NK hücre aktivasyonu ve sitotoksitede için gerekli sinyal yollarındaki kusurlar NK hücre eksiklikleri

ne katkıda bulunmaktadır. IL-2, IL-15 gibi sitokinleri ve bunların reseptörlerini içeren yollardaki anormallikler NK hücrelerinin olgunlaşmasını ve aktivasyonunu bozmaktadır. Klasik NK hücre eksikliklerinde, NK hücre gelişimini, olgunlaşmasını veya hayatta kalmasını engelleyen bir gen kusuru vardır. Periferik kanda NK hücreleri yoktur veya çok az sayıdadır. Fonksiyonel NK hücre eksikliklerinde, NK hücreleri periferik kanda normal sayıda ve normal fenotipte bulunur, ancak NK hücre fonksiyonları bozulmuştur (11). NK hücre eksikliğinin monogenik nedenleri Tablo 3’te sunulmuştur.

NK hücre eksikliğinde klinik bulgular değişkendir. VZV, HSV, EBV, CMV gibi Herpes virüslerle viral enfeksiyonlar sıklıkla görülmektedir. Raporlanan NK eksikliklerinin %60’ında viral enfeksiyonlar mevcuttur. Malignitelere yatkınlık NK eksikliklerinde nadiren tanımlanmıştır ve tanımlananlar arasında en sık EBV ilişkili tümörler görülmektedir. GATA2 eksikliğinde lenfoma, klasik NK eksikliklerinde EBV ilişkili düz kas tümörü, fonksiyonel NK eksikliklerinde EBV ilişkili Castleman hastalığı, EBV kaynaklı kanserler tanımlanmıştır. Bunun dışında GATA2 eksikliği olan hastaların %35’inde HPV ilişkili displazi ve HPV-ilişkili baş ve boyun kanserleri bildirilmiştir.

Fonksiyonel NK hücre eksikliğinde, NK hücre olgunlaşma, gelişim ve fenotipleri etkilenmez, hedef hücreler tarafından indüklenen doğal sitotoksosite için sinyaller azalır, böylece NK hücre öldürme yeteneği azalır ve NK hücre sitotoksitesi bozulur, ancak antikor bağımlı hücresel sitotoksosite normaldir. Şimdiye dek birbiri ile akraba olmayan 3 hastada tekrarlayan HSV ve HPV enfeksiyonları ve bir hastada EBV ilişkili Castleman hastalığı tanımlanmıştır.

Tablo 2’de yer alan bozuklukların dışında pek çok PİY’de NK - ağır kombine immün yetersizlik (T-NK-AKİY) Wis-kott-Aldrich sendromu gibi hücre iskeleti bozuklukları, fosfatidil inositol 3 kinaz (PI3K) sinyal yolağını etkileyen bozukluklar gibi lipid sinyal yolak bozukluklarında, NK hücrelerinin etkilenmesi söz konusudur. Ancak bu kombine bozukluklarda immün sistemdeki diğer kusurlu bileşenler primer klinik belirtilere yol açmaktadır. Bu durum, NK hücre sitotoksitesinin bozulmasının yanı sıra CD8⁺ Tc hücrelerin de öldürme yeteneğinin bozulduğu, ağır bir klinik fenotip gösteren HLH de görülmektedir. Bu bağlamda, moleküler olarak tanımlanmış her altı PİY tanısının yaklaşık birinde NK hücrelerinin de etkilendiği söylenebilir (11).

Tablo 3. Doğal öldürücü hücreleri etkileyen primer immün yetersizlikler (11)

Gen	Kalıtım şekli	Yatkınlık olan enfeksiyonlar	Klinik bulgular	Laboratuvar bulguları
Klasik NK hücre eksikliği				
GATA2	OD	VZV, HSV, CMV, HPV, Mikobakteri	Bazı hastalarda izole NK hücre eksikliği; diğerlerinde AML/ MDS’ye yatkınlık, lenfödem, PAP, sağırılık, AML	NK hücre sayısı az, CD56 ^{parlak} alt grubu azalmış, sitotoksosite azalmış; Bazı hastalarda monositopeni, B hücre eksikliği, dendritik hücre eksikliği
MCM4	OR	EBV, HSV, VZV, tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları	Boy kısalığı, adrenal yetmezlik, mikrosefali	NK hücre sayısı az, CD56 ^{solak} alt grubu azalmış
MCM10	OR (LOF)	CMV	MCM4 ve GINS1 eksikliğine benzer	NK hücre sayısı az, hafif T hücre lenfopenisi, HLH belirteçleri
RTEL1	OR	VZV	Diskeratozis konjenita, Kİ yetmezliği, serebellar hipoplazi, gelişim geriliği, telomer kısalığı	NK hücresi yok
GINS1	OR	CMV	Boy kısalığı, dismorfik bulgular, intrauterin büyüme geriliği	NK hücre sayısı az, CD56 ^{solak} alt grubu azalmış, nötropeni, hafif T hücre lenfopenisi
IRF8	OR, OD	EBV	BCG enfeksiyonu, tekrarlayan akciğer enfeksiyonu	NK hücre sayısı az, CD56 ^{solak} alt grubu azalmış, sitotoksosite azalmış
Fonksiyonel NK hücre eksikliği				
FCGR3A		EBV, HSV, HPV		NK hücre sayıları normal, sitotoksosite azalmış

AML: Akut miyeloid lösemi, **Kİ:** Kemik iliği, **LOF:** Fonksiyon kaybı (loss of function), **MDS:** Miyelodisplastik sendrom, **NK:** Doğal öldürücü, **OD:** Otozomal dominant, **OR:** Otozomal resesif, **PAP:** Pulmoner alveolar proteinozis, **HLH:** Hemofagositik lenfositosis

4. TANISAL TESTLER VE ALGORİTMALAR

Mutlak lenfosit sayılarının değişken olabileceği göz önüne alındığında, klasik NK hücre eksikliğinde NK hücrelerinin periferik kan lenfositlerinin $\leq 1\%$ 'ini oluşturduğu veya CD56^{soluk} NK hücrelerinin eksik olduğu durumlardır. Yüksek çözünürlüklü akan hücre ölçer sistemi ile fenotipik değerlendirme sonucunda NK hücrelerin olgunlaşmasında ve gelişimindeki bozukluklara dair bulgular saptanabilir. Periferik kan popülasyonu içinde NK hücre alt kümelerinin olağan dışı dağılımı olabilmekte, bu da NK hücre gelişimi veya homeostazındaki problemi göstermektedir. NK hücreleri normal sayılarda olsa bile, klasik NK hücre eksikliğinde oluşan gelişimsel kusur, NK hücre gelişimsel alt küme çalışmasıyla değerlendirilebilir. NK hücre sito-

toksitesinde görülen bozulma hücrenin işlevsel olgunlaşmasının bozulduğunu göstermektedir.

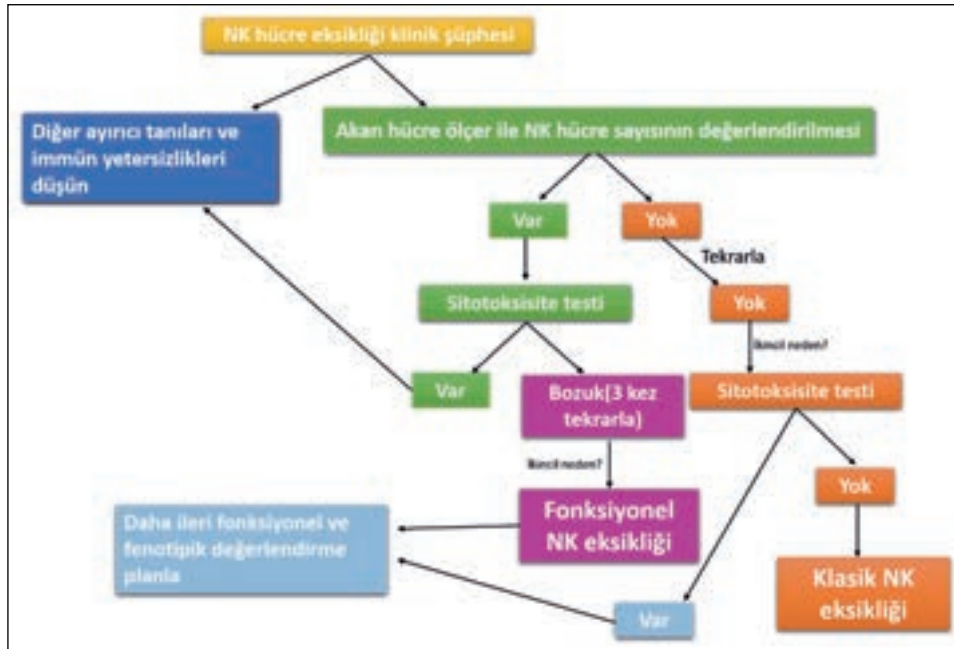
Fonksiyonel NK hücre eksikliklerinde, NK hücreleri periferik kanda normal sayıda ve normal fenotiptedir (standart klinik laboratuvar NK hücre fenotipleme kullanılarak), ancak NK hücre işlevleri bozulmuştur (12, 13). NK hücre eksikliklerinde kullanılacak algoritma Şekil 3'de, NK hücre eksikliklerinde kullanılacak testler ise Tablo 4'te sunulmuştur.

Sitotoksitesite testi NK hücrelerinin olduğu gibi, Tc hücrelerin de hücre öldürme yeteneğinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bu testte genellikle işaretlenmiş hedef hücreler kullanılmakta ve hücre sel sitotoksitenin gösterdiği olan perforin ve granzimler gibi sitotoksik granüllerin

Tablo 4. NK hücreler ve fonksiyonlarını değerlendirmeye yönelik testler ve kullanıldıkları durumlar (13)

Metot	Klasik NK hücre eksikliği için faydalı	Fonksiyonel NK hücre eksikliği için faydalı
Standart lenfosit alt grup analizi (akan hücre ölçer)	Evet	Hayır
NK hücre alt grup analizi (akan hücre ölçer)	Evet	Evet
NK hücre degranülasyonu- CD107a upregülasyonu (akan hücre ölçer)	Bazılarında	Evet
NK hücre sitotoksitesite - K562 hedef hücre öldürme (⁵¹ Cr salınımı veya akan hücre ölçer)	Evet	Evet
Antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksitesite (ADCC) (⁵¹ Cr salınımı veya akan hücre ölçer)	Evet	Evet
NK hücre sitokin üretimi (hücre içi akan hücre ölçer)	Bazılarında	Evet
Sitokin ile indüklenen NK hücresi fonksiyonu (sitotoksitesite veya akan hücre ölçer)	Evet	Evet

NK: Doğal öldürücü



Şekil 3. Klasik ve fonksiyonel NK hücre eksikliklerinde tanısal yaklaşım algoritması (12)

NK: Doğal öldürücü

salınımı ölçülmektedir. Akan hücre ölçer, degranülasyon sırasında hücre yüzeyinde ifade edilen CD107a gibi temel sitotoksik belirteçlerin ve CD8 ifadesinin değerlendirilmesinde çok önemli bir yer almaktadır. İmmünofenotipleme, immün hücre gruplarının bileşimini ve dağılımını değerlendirmeye yardımcı olarak lenfositlerdeki herhangi bir sayısal veya işlevsel anormalliğin tanımlanmasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca sitokin ölçümü ve sinyal yolak analizleri kullanılabilir (13).

Genetik testler, PRF1, GZMB, synaxtin bağlayan protein 2 (STXBP2) ve UNC13D gibi sitotoksikite ile ilişkili genler ve Tc hücre aktivasyonu için çok önemli olan sinyal yollarını etkileyenler gibi sitotoksik T lenfosit işleviyle ilişkili genlerdeki mutasyonları tanımlamak için kullanılabilir (13).

KAYNAKLAR

1. Rosenberg J, Huang J. CD8(+) T cells and NK cells: Parallel and complementary soldiers of immunotherapy. *Curr Opin Chem Eng* 2018;19:9-20.
2. Lai H, Zeng D, Liu C, Zhang Q, Wang X, Chen T. Selenium-containing ruthenium complex synergizes with natural killer cells to enhance immunotherapy against prostate cancer via activating TRAIL/FasL signaling. *Biomaterials* 2019;219:119377.
3. Stokic-Trtica V, Diefenbach A, Klose CSN. NK cell development in times of innate lymphoid cell diversity. *Front Immunol* 2020;11:813.
4. Narni-Mancinelli E, Vivier E, Kerdiles YM. The 'T-cell-ness' of NK cells: Unexpected similarities between NK cells and T cells. *Int Immunol* 2011;23(7):427-31.
5. Di Vito C, Mikulak J, Mavilio D. On the way to become a natural killer cell. *Front Immunol* 2019;10:1812.
6. Crinier A, Narni-Mancinelli E, Ugolini S, Vivier E. SnapShot: Natural killer cells. *Cell* 2020;180(6):1280-0.e1.
7. Abel AM, Yang C, Thakar MS, Malarkannan S. Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. *Front Immunol* 2018;9:1869.
8. Robinette ML, Colonna M. Immune modules shared by innate lymphoid cells and T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138(5):1243-51.
9. Annunziato F, Romagnani C, Romagnani S. The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(3):626-35.
10. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, Al-Herz W, et al. The 2022 update of IUIS phenotypical classification for human inborn errors of immunity. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1508-20.
11. Mace EM, Orange JS. Emerging insights into human health and NK cell biology from the study of NK cell deficiencies. *Immunol Rev* 2019;287(1):202-25.
12. Orange JS. Natural killer cell deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(3):515-25.
13. Orange JS. How I manage natural killer cell deficiency. *J Clin Immunol* 2020;40(1):13-23.

Kronik Mukokütanöz Kandidiyazis İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

Doç. Dr. Ceyda TUNAKAN DALGIÇ
Prof. Dr. Fatma Ömür ARDENİZ

1. GİRİŞ

Kronik mukokütanöz kandidiyazis (KMK), otoimmüniteye ek olarak; deri, tırnaklar ve mukozalarda görülen ve esas olarak *Candida albicans*'a bağlı kronik ve/veya tekrarlayan non-invaziv enfeksiyon tablosudur. Temel immün defekt, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 1 (STAT1) geninin fonksiyon kazandıran (gain of function:GOF) mutasyonları sonucunda ortaya çıkan IL-17'de görülen bozukluklardır. Mantar enfeksiyonlarının ilk uygun tedavisi azollerdir. Ancak ilaç direnci etkinliği sınırlamaktadır. Bu nedenle, KMK'deki altta yatan defektin tanımlanması, hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin genişletilmesine izin verebilmektedir. Tip I ve II Janus kinaz inhibitörlerinin (JAK1/2), STAT1 GOF ile ilişkili vakalarda KMK'yi kontrol ettiği gösterilmiştir. Bu bölümde KMK'nin patogenezi, altta yatan bağışıklık mekanizmaları ve ilgili genetik defektlerden bahsedilecek ve devamında yaklaşımlar sunulacaktır.

2. KLİNİK BULGULAR

KMK, başta *Candida albicans*'ın ve daha az sıklıkla *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve ciltteki dermatofit mantarlar gibi diğer türlerin neden olduğu, tırnaklar ve mukozalarda gelişen kronik, non-invazif heterojen bir klinik fenotip sergileyen bir enfeksiyon hastalığıdır (1).

İlk klinik kanıt genellikle dili, yumuşak damağı ve yanak mukozasını kaplayan bir veya daha fazla beyaz psödomembranla karakterize kalıcı pamukçuktur. Tırnaklarda renklenme, onikoliz ve distrofi görülebilmektedir. Candi-

da ve diğer dermatofitler esas olarak tırnakların proksimal kısmını ve yan/serbest kenarını etkilemektedir. Ayrıca cilt, saç ve mukoza da genellikle tutulmaktadır (1, 2).

KMK, tek başına/bakteriyel ve viral enfeksiyonlarla ilişkili olarak veya endokrinopatiler, otoimmün sitopeniler ve romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklarla birlikte görülebilmektedir. *Candida* enfeksiyonunun neden olduğu kronik lokal enflamasyon, özofagus ve ağız bölgesinde skuamöz hücreli karsinom gelişmesine zemin hazırlayabilmektedir (1, 2).

İzole KMK, doğuştan immün defektlerden kaynaklanabilmekte ve primer immün yetersizlikler (PIY) sınıflandırmasına dahil edilmektedir (3).

3. CANDİDAYA KARŞI DOĞAL İMMÜNİTE

Candida albicans sindirim sisteminde, ağız boşluğu ve vajina gibi vücudun diğer mukus yüzeylerinde bulunan polimorfik bir mantardır. Mikrobiyotanın normal bir bileşeni olarak kabul edilmektedir. *Candida albicans* ile normal flora dengesi, konağın immün yanıtından oldukça etkilenmektedir. *Candida* enfeksiyonlarına karşı immün yanıt; mukokütanöz koruyucu bariyerler, doğal bağışıklık ve edinsel bağışıklığı kapsamaktadır (4).

Candida albicans vücuda girdiğinde makrofajlar, nötrofiller ve dendritik hücreler tarafından Dectin-1 reseptörü ve toll benzeri reseptörler (toll-like receptor:TLR) gibi patern tanıma reseptörleri (patern recognition reseptörü - PRR) aracılığıyla tanınmaktadır (5).

TLR4, mannoz reseptörü ve beta-glukan reseptör kompleksi (Dectin 1/TLR2), *Candida* hücre duvarının ana bileşenleri olan mannanları tanımaktadır. Bu reseptörler hep birlikte sitokin üretiminin uyarılmasına katılırlar. Dectin-1, tümör nekroz faktörü (TNF) gibi TLR2 ve TLR4 kaynaklı sitokinlerin üretimini artırmaktadır. Fare modellerinde bu reseptörlerin yokluğunun *Candida albicans* ve *Pneumocystis jirovecii* enfeksiyonlarına karşı daha fazla duyarlılığa yol açtığı gösterilmiştir (6).

Bu hücreler, T yardımcı 17 (Th17) (temel olarak IL-17 ve IL-22 üretimi) ve Th1 (IFN- γ üretimi) gibi CD4⁺ T lenfosit (naif) polarizasyonunu teşvik eden sinyaller üretirler. İlk tanımanın ardından, Th17 ve Th1 hücrelerinin aracılık ettiği edinsel bağışıklık tepkisi etkinleştirilmektedir. Doğuştan ve edinsel bağışıklık arasındaki sürekli retro-aktivasyon, mantarın tamamen yok edilmesini sağlamaktadır (6).

IL-17'nin Anti-fungal Etkisi

IL-17 anti-fungal savunmada merkezi bir rol oynamaktadır. Nötrofillerin iltihap bölgesine toplanmasını teşvik etmekte ve keratinositler tarafından üretilen defensin seviyelerini artırmaktadır. IL-17 sitokin ailesi 6 üyeden (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F) ve IL-17 reseptör ailesi ise 5 üyeden (IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD, IL-17RE) oluşmaktadır. IL-17A ve IL-17RA, sırasıyla sitokin ve reseptör ailelerinin orijinal üyeleridir ve bu nedenle yaygın olarak IL-17 ve IL-17R olarak bilinmektedirler. IL-17A ve IL-17F, Th17 hücreleri tarafından üretilmektedir. Nükleer faktör kappa-beta aktivatörü 1'i (ACT1) hücre içi sinyalleme için aktive etmektedir (7). Bu aşamalarda herhangi bir unsurun bozulması *Candida* büyümesinin zayıf kontrolüne neden olabilmektedir.

4. KMK İLE İLİŞKİLİ İMMÜN KUSURLAR

KMK hastalarının ortak bir özelliği, *in vitro* olarak *Candida* antijenleri ile uyarıldığında T lenfositlerinin anerjistik saptanmasıdır. IL-17 kusuru çeşitli nedenlerden kaynaklanabilmektedir. Bunlar içerisinde;

1. **Lenfosit fonksiyonunda genel bir kusur** (doğal/edinsel T lenfosit bozuklukları olan hastalarda daha geniş bir enfeksiyon spektrumu içinde KMK gelişir)
2. **Th17 lenfositlere yönelik selektif defekt** veya
3. **IL-17 sentezinde/sinyallemesinde defekt** varlığı sayılmaktadır.

Bu kusurlar konjenital olduğunda Piy'ler grubuna dahil edilmektedirler (8).

Genetik temelli KMK vakalarının çoğu erken başlangıç yaşı gösterse de, yetişkin hastalarda da başlangıç rapor edilmiştir. Th17 lenfosit fonksiyonunu ve/veya IL-17 sinyalini seçici olarak etkileyen KMK ile tanımlanan Piy'ler anlatılacaktır. Bunlar arasında otoimmün düzenleyici (AIRE) gen defekti, STAT1 gen aktivatöründeki GOF mutasyonları, STAT3 ve ZNF341 genlerindeki mutasyonlar ve daha az sıklıkla IL-17RA ve IL-17RC mutasyonları, IL-17F eksikliği ve ACT1 eksikliği tanımlanmıştır. Yazının devamında, bu genetik defektler ayrı ayrı ele alınacaktır (9).

5. BASKIN BİR TH17 LENFOSİT DEFEKTİNE NEDEN OLAN PRİMER İMMÜN YETERSİZLİKLER

5.1. STAT3 Geninde Fonksiyon Kaybı Mutasyonu (STAT3 LOF - Loss of function)

STAT3 genindeki fonksiyon kaybı mutasyonu, *otozomal dominant (OD) hiper-immunoglobulin E sendromu (HIES) (OMIM 147060)* vakalarının %60-70'inin genetik nedenini oluşturmaktadır (10). STAT3, IL-6, IL-10, IL-17, IL-22, IL-23 ve IL-27 gibi çeşitli IL'lerin sinyal iletiminde önemli bir rol oynayarak yara iyileşmesi, anjiyogenez ve bağışıklık süreçlerine katılmaktadır.

OD HIES, yüksek serum IgE düzeyleri, döküntü/dermatit ve ciltte ve solunum yollarında tekrarlayan bakteriyel ve/veya mantar enfeksiyonlarıyla karakterize bir Piy'dir. Bu sendrom, tekrarlayan stafilokokkal apselerin varlığı nedeniyle ilk kez 1966 yılında Job Sendromu olarak tanımlanmıştır (10). Etkilenen hastalarda karakteristik olarak STAT3 gen mutasyonunun neden olduğu fonksiyon kaybına bağlı olarak Th17 hücrelerinin sayısı azalmaktadır. Bu durum, IL-6, IL-17 ve IL-22 kusurlarıyla ve dolayısıyla mantar enfeksiyonlarına karşı duyarlılıkla ilişkilidir. Kapsüllü organizmalara karşı spesifik antikor tepkileri bozulabilmektedir. Th17 sitokin üretiminde ve nötrofil kemotaksisinde azalma gözlenmektedir (11). *OD HIES* sendromundan etkilenen hastaların %80 kadarında oral, kutanöz, genital ve tırnak bölgelerinde kronik mukokutanöz kandidiyaz görülmektedir. Döküntüler ve püstüller çocukluk dönemindeki erken belirtilerdir ve genellikle yaşamın ilk aylarında ortaya çıkarlar. Hastalığın bir başka özelliği de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Staphylococcus aureus* mikroorganizmalarına bağlı enfeksiyonlar gelişebilmesidir. Bu enfeksiyöz etmenler bronşektazi ve pnömatosel ile komplike olabilen pnömoniye yol açabilmektedir (12).

5.2. ZNF341 Genindeki Fonksiyon Kaybı Mutasyonları

ZNF341 genindeki fonksiyon kaybı mutasyonlarına bağlı olarak otozomal resesif (OR) HIES formuna sahip hastalar rapor edilmiştir. ZNF341, çekirdekte yapısal olarak eksprese edilen bir transkripsiyon faktörüdür. ZNF341 eksikliği, STAT3 transkripsiyonunun indüklenmesini önlemektedir. OD STAT3 mutasyonları olan hastalara benzer şekilde, ZNF341 eksikliği olan hastalarda Th17 hücreleri yoktur, Th2 polarizasyonu görülür ve hafıza B hücreleri azalmıştır (13).

Klinik olarak, hafif yüz dismorfisi, erken başlangıçlı egzama, KMK, tekrarlayan bakteriyel cilt ve solunum yolu enfeksiyonları, eklem hiperekstansibilitesi, kemik kırıkları ve süt dişlerinin uzun süreli kalması gibi HIES benzeri bir fenotipe sahiptirler (13).

5.3. Fonksiyon Kazanımı ile Birlikte STAT1 Gen Mutasyonu

STAT1, mantarlara, virüslere ve bakterilere karşı hem doğal hem de edinsel immün yanıtta rol oynamaktadır. IFN- α , IFN- γ , epidermal büyüme faktörü (EGF), trombosit türevli büyüme faktörü (PDGF) ve IL-6 gibi çeşitli ligandlar tarafından aktive edilebilmektedir.

STAT1 genindeki (OMIM 614162) fonksiyon kazandıran (GOF) mutasyonlar fosforilasyonda artışa yol açarak IL-6, IFN- α ve β , IFN- γ ve IL-27 gibi STAT1'e bağımlı sitokinlerde artışa neden olmaktadır. IL-27, Th17 yanıtlarında, IL-17 ve IL-22 sitokinlerinin azalmasıyla sonuçlanan bir IL-17 inhibitörüdür. Sonuç olarak, STAT1 genetik kusuru, Th1 yanıtlarının artmasına ve Th17 yanıtlarının azalmasına yol açmaktadır. GOF STAT1 mutasyonları, KMK'in en yaygın genetik etiyojisi olarak kabul edilmektedir (14). Hastalarda ayrıca *Pneumocystis jiroveci*, *Aspergillus spp* ve *Cryptococcus neoformans* gibi başka mantar enfeksiyonları da gelişebilmektedir (14).

KMK'i içeren diğer PİY'lerde olduğu gibi, bu hastaların T hücreleri de PMA-İonomisin/*Candida* ile *ex vivo* uyarımdan sonra düşük IL-17 üretimi göstermektedir. Bu etkiler, Ruxolitinib tedavisiyle *in vitro* ve *in vivo* olarak kısmen tersine çevrilebilmektedir.

Bunun yanında, memory B lenfositleri, CD4⁺ T ve CD19⁺ B hücrelerinde azalma, foliküler Th lenfositlerinde düzensizlik, IgG2 ve 4 altgruplarında azalma ve PD-L1 artışı da gözlenebilmektedir.

Streptococcus pneumoniae, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenza* ve *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu sinopulmoner enfeksiyonlar da görülebilmektedir. Esas olarak *Mycobacterium tuberculosis*'e bağlı mikobakteriyel enfeksiyonlara ek olarak *Staphylococcus aureus*'a bağlı folikülit de yaygın olarak görülmektedir. Herpes simpleks virüsü (HSV), Varisella Zoster virüsü (VZV), Cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virüsü (EBV) ve insan Papilloma virüsü (HPV) ile viral enfeksiyonlar da bildirilmiştir (15).

Bu hastalarda otoimmünite de gelişebilmektedir. Hipo ve hipertiroidizm en sık olmakla beraber, bunu, tip 1 diyabet (DM), vitiligo, alopesi, sedef hastalığı, lupus eritematoz, pernisiyöz anemi, çölyak hastalığı, otoimmün hepatit ve enflamatuvar bağırsak hastalığı takip etmektedir. Otoimmünite ile olan bu ilişki, rekombinant IFN- α ve IFN- β ile tedavi edilen hastalarda ve interferonopatili hastalarda gözlemlendiği gibi artmış IFN- α ve IFN- β sinyalleme ile açıklanabilir (16).

Olguların ortalama %5 kadarında hem serebral hem de ekstraserebral anevrizmalar gelişmektedir. Özellikle tip I DM olmak üzere otoimmünite bulguları olan hastalarda serebral anevrizmalara daha sık rastlanmaktadır (5, 16). Bu hastalarda, NK hücrelerinin olgunlaşmasında bozulma, perforin ekspresyonunda azalma ve sitolitik fonksiyonda azalmanın yanı sıra IL-15'e yanıt olarak daha az IFN- γ salgılandığı ve IL-2/IL-15'e yanıt olarak kontrollere göre daha az çoğaldığı gösterilmiştir. Ayrıca sitolitik aktivite de azalmakta bu da GOF STAT1 mutasyonu olan hastalardaki HSV, VZV, CMV ve HPV dahil olmak üzere viral enfeksiyonlarda görülen artışı açıklamaktadır (17). GOF STAT1 gen mutasyonlarına sahip hastaların prognozu, esas olarak tekrarlayan enfeksiyonlara bağlı olarak, aynı zamanda anevrizmalar, maligniteler ve otoimmün bulgular nedeniyle kötüdür.

5.4. IL-17 Kusuruna Neden Olan Primer İmmün Yetersizlikler

IL-17F Eksikliği

Etkilenen bireyler IL-17F geninde heterozigot bir mutasyon taşımaktadırlar ve KMK rapor edilmiştir (3).

AIRE Gen Eksikliği (Otoimmün Regülatuvar Gen - AIRE)

Otoimmün düzenleyici gen (AIRE) ilk olarak 1994 yılında tanımlandı. AIRE geni 21. kromozomun uzun kolunda bu-

lunmakta ve timik epitel hücreleri de dahil olmak üzere lenfoid dokuların stromal hücrelerinde eksprese edilen bir proteini kodlamaktadır. Merkezi immün toleranstan sorumludur. AIRE geninde bir bozukluk olduğunda, merkezi tolerans mekanizmaları başarısız olmakta ve otoantikörler üreten, kendiliğinden tepkimeye giren B hücreleri çevreye salınmaktadır. Bu otoantikörler çoğunlukla endokrin bezlere yönelik olmakla birlikte aynı zamanda IL-17F ve IL-17A'ya karşı antikörler de mevcuttur (18).

AIRE gen defekti, ektodermal distrofi-kandidiyaz otoimmün poliendokrinopati (APECED; OMIM 240300) olarak da bilinen Tip I otoimmün poliglandüler sendroma (APS1) yol açmaktadır. Tip I otoimmün poliglandüler sendrom, OR kalıtlı ve sıklığı yaklaşık 1:100.000'dir. KMK, hipoparatiroidizm ve primer adrenal yetmezlik (Addison hastalığı) ile karakterizedir (19).

Son zamanlarda, hepatit, pnömoni, nefrit gibi otoimmün organ tutulumlarının yanı sıra, diş minesini hipoplazisi, kronik enteropati, primer ovaryan yetmezlik, bilateral keratit ve döküntü ile birlikte periyodik ateş, ekzokrin pankreatit ve fonksiyonel aspleni gibi başka klinik tablolar da tanımlanmıştır (20). Paratiroid bezlerde bulunan NACHT lösin açısından zengin tekrar proteini 5'e (NALP5) karşı antikörler hiperparatiroidizmi APS-1 hastalarında mevcuttur. Anti-tip 1 IFN (IFN- α ve IFN- β) antikörleri, timoma ile birlikte miyastenia gravis'te ve rekombinasyon aktivasyon geninde (RAG) mutasyon bulunan hastalarda gözlemlenen APS-1'e spesifik değildirlir (19).

IL-17 Sinyalinde Defekte Sebep Olan PİY

IL-17 sinyalleşmesindeki bir kusurun neden olduğu PİY'lerde üç gende mutasyonlar tanımlanmıştır. Bunlar; IL-17RA, IL-17RC ve TRAF3IP2 (ACT1 proteinini kodlayan). Bu genler, IL-17RA/C aracılı sinyalle ilişkilidir ve IL-17A ve IL-17F tarafından indüklenirler. Benzer şekilde, IL-17RA ve TRAF3IP2 mutasyonları da IL-17E tarafından indüklenen IL-17RA/B aracılı sinyali etkilemektedirler.

IL-17A Reseptöründe (IL17ra) Otozomal Resesif Mutasyon

IL-17RA geninde saptanan mutasyon, ilk kez 2011 yılında KMK'nin genetik etiyolojisi olarak bildirilmiştir. Bu gendeki defekt IL17RA'da eksikliğe neden olmaktadır. İlk tanımlandığı dönemlerde ailesel kandidiyazis 5 (CANDF5) olarak adlandırılan bu hastalık günümüzde 'immün yetersizlik 51' (IMD51) olarak bilinmektedir. Tanımlanan hastaların

çoğunda klinik 6 aylıktan önce başlamakta ve KMK ve tekrarlayan stafilocok enfeksiyonları görülmektedir (9).

IL-17 C Reseptör Eksikliği (IL17RC)

Bazı Türk kökenli hastaların IL17RC geninde homozigot mutasyon rapor edilmiştir. Bu hastalarda erken başlangıçlı bir oral kandidiyazis tablosu görülmüştür (21).

5.5. Nükleer Faktör Kappa-Beta Aktivatör 1 (Act1) Eksikliği

ACT1 geninde ortaya çıkan OR mutasyonlar sonucu KMK'ye ek olarak, dermatit ve blefarit gibi yüzeysel stafilocok enfeksiyonları görülmektedir (22).

6. KRONİK MUKOKUTANÖZ KANDİDİAZİSLİ HASTALARDA TANISAL YAKLAŞIM

Kronik (>6 ay) ve/veya tekrarlayan tırnakları, deriyi ve mukozaları tutan, esas olarak Candida ve/veya diğer dermatofitlerden kaynaklanan mantar enfeksiyonları olan hastalarda KMK tanısı düşünülmelidir (23). Bu hastalarda ilk olarak, uzun süreli antibiyotik, inhale steroid, sistemik steroid ve/veya diğer immünsüpresif ilaçların kullanımı, diabetes mellitus ve HIV gibi immünsüpresyona neden olabilen ya da yatkınlık oluşturabilen komorbiditelerin varlığı gibi ikincil nedenler dışlanmalıdır.

KMK tablosu klinik ve mikrobiyolojik olarak doğrulandıktan sonra altta yatan PİY'yi tanımlamak için immünolojik ve genetik çalışmalar yapılmalıdır.

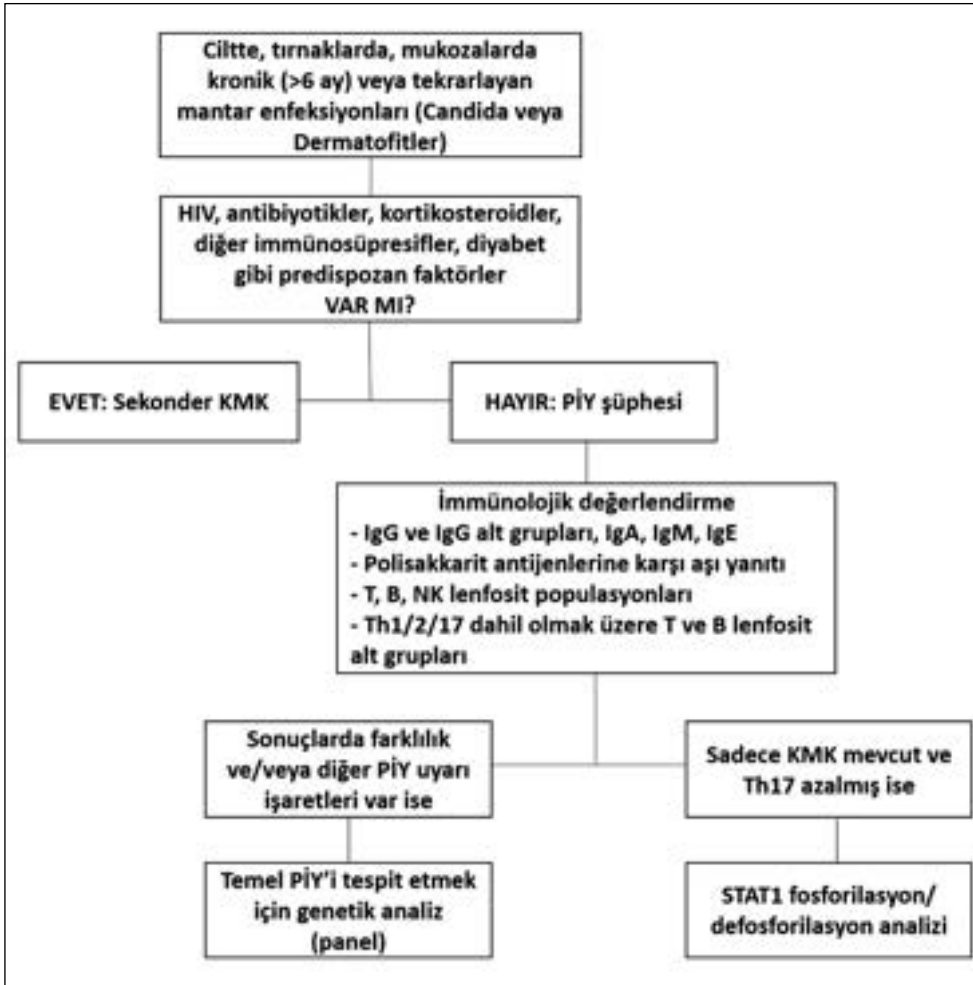
İmmünolojik çalışmalar lenfosit popülasyonlarının (T, B, NK hücreleri) belirlenmesini, T lenfositlerinin mitojenlere karşı çoğalmasını (T hücre *in vitro* proliferasyon yanıtları) ve Th1/Th2/Th17 dahil olmak üzere T ve B hücrelerinin lenfosit alt popülasyon analizini, IgG, IgA, IgM ve IgE seviyelerine polisakkarit antijenlerine karşı aşı yanıtını içermektedir. Th17 lenfosit çalışmaları genellikle sadece referans merkezlerde yapılmaktadır (24).

İmmünolojik çalışmaların ardından KMK ile ilişkili mutasyonlara yönelik genetik çalışmalar yapılmalıdır. Bu amaçla tüm KMK ile ilişkili PİY genleri analiz edilebilir ya da önce spesifik olarak STAT1 gen dizilimi yapılabilir. İzole KMK ve Th17 hücrelerinde azalma durumunda (yaş referans aralığı normaline göre göre), genetik çalışmalardan önce bir STAT1 fosforilasyon/defosforilasyon analizi yapılması önerilebilir. Bu analizler STAT1 GOF mutasyonunun doğrulanmasına yardımcı olabilmektedir (25).

Şekil 1’de KMK olgularının tanısında kullanılabilecek algoritmik yaklaşım ve Tablo 1’de ayırıcı tanıda ilk araştırılması gerekli olan genetik defektler verilmiştir.

Sonuç olarak, IL-17 defektinin temel rol oynadığı KMK’li hastaların fenotipleri, izole mukokutanöz mantar tutulumundan otoimmün belirtilere ek olarak viral/bakteriyel enfeksiyonlara kadar çeşitli olabilmektedir. KMK, immünoloji dışında iç hastalıkları ve ilgili yandal uzmanlık alan-

larını ilgilendiren bir klinik tablo olması sebebi ile ileri inceleme yapılması gereken klinik bulguların toplamından oluşmaktadır. Farklı genlerdeki defektlere bağlı gelişebileceği gibi KMK’nın en yaygın genetik etiolojisi STAT 1 GOF mutasyonudur. Altta yatan farklı PİY türlerinin tanısı önemlidir. Genetik mutasyon tespit edilmesi durumunda hedefe yönelik tedaviler uygulanabilmekte, genetik danışmanlık ve uzun vadeli komplikasyonların önlenmesi sağlanabilmektedir.



Şekil 1. Kronik mukokutanöz kandidiyazide tanılal algoritma. Candida/dermatofitlerle kronik/tekrarlayan enfeksiyonu olan hastalarda HIV, antibiyotikler, kortikosteroidler ve diğer immünoşüpresif ilaçlar ve diyabetes mellitus gibi ikincil nedenler dışlanmalıdır. Bu nedenlerin yokluğunda, KMK'nin birincil nedenlerini (PİY) araştırmak için immünojenik çalışmalar ve bunu takip eden genetik çalışmalar yapılmalıdır (25, 26).

PİY: Primer immün yetersizlik, **KMK:** Kronik mukokutanöz kandidiyazi, **NK:** Doğal öldürücü, **STAT:** Sinyal transdüser ve transkripsiyon aktivatörü

Tablo 1: Kronik mukokutanöz kandidiyazis ile ilişkili primer immün yetersizliklerin genetik ve klinik özellikleri

Hastalık	Gen	Katılım paterni	KMK sıklığı	Klinik bulgular	Ana immün defekt	Kaynaklar
HIES	STAT3	OD	%83	Döküntü veya püstüller, pnömoni, yüz ve diş anomalileri, skolyoz, eklem hiperekstensibilitesi (aşırı esnekliği)	IL-17 üreten T hücrelerinde azalma	9-11, 27
HIES	ZNF341	OR	-	Hafif diş ve yüz anomalileri, egzama, bakteriyel cilt ve solunum yolu enfeksiyonları, eklemlerin aşırı esnekliği, kemik kırıkları	IL-17 üreten T hücrelerinde azalma	13, 28
STAT1 GOF	STAT1	OD	%98	İzole KMK (ve kutanöz ve özofagus karsinomları) veya bakteriyel, viral enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, kranial anevrizmalar	Bozulmuş Th17 hücre gelişimi	3, 5, 17, 29, 30
APS-1	AIRE	OR	%70-98	Hipoparatiroidizm, primer adrenal yetmezlik	Nötralize edici anti-IL-17A, IL-17F, IL-22 antikorları	4-8, 31
IL-17F defekti	IL-17F	OD	%70	İzole KMK	Bozulmuş IL-17 sinyali	32
IL-17RA defekti	IL-17RA	OR	%100	Tekrarlayan stafilokok enfeksiyonları	Bozulmuş IL-17 sinyali	5
IL-17RC defekti	IL-17RC	OR	%100	İzole KMK	Bozulmuş IL-17 sinyali	12
ACT1 defekti	ACT1	OR	%100	Yüzeysel stafilokok enfeksiyonları		13, 32

APS-1: Otoimmün poliglandüler sendrom tip 1, **HIES:** Hiperimmünoglobulin E sendromu, **ACT1:** Nükleer faktör kappa-beta aktivatörü 1, **GOF:** Fonksiyon kazancı, **OD:** Otozomal dominant, **OR:** Otozomal resesif

KAYNAKLAR

- Lilic D. Unravelling fungal immunity through primary immune deficiencies. *Curr Opin Microbiol* 2012;15(4):420-6.
- Puel A, Picard C, Cypowyj S, Lilic D, Abel L, Casanova JL. Inborn errors of mucocutaneous immunity to *Candida albicans* in humans: A role for IL-17 cytokines? *Curr Opin Immunol* 2010;22(4):467-74.
- Puel A, Cypowyj S, Bustamante J, Wright JF, Liu L, Lim HK, et al. Chronic mucocutaneous candidiasis in humans with inborn errors of interleukin-17 immunity. *Science* 2011;332(6025):65-8.
- Richardson JP, Moyes DL. Adaptive immune responses to *Candida albicans* infection. *Virulence* 2015;6(4):327-37.
- Netea MG, Gow NA, Munro CA, Bates S, Collins C, Ferwerda G, et al. Immune sensing of *Candida albicans* requires cooperative recognition of mannans and glucans by lectin and Toll-like receptors. *J Clin Invest* 2006;116(6):1642-50.
- Ferwerda B, Ferwerda G, Plantinga TS, Willment JA, van Spruiel AB, Venselaar H, et al. Human dectin-1 deficiency and mucocutaneous fungal infections. *N Engl J Med* 2009;361(18):1760-7.
- Li X, Bechara R, Zhao J, McGeachy MJ, Gaffen SL. IL-17 receptor-based signaling and implications for disease. *Nat Immunol* 2019;20(12):1594-602.
- Hernández-Santos N, Gaffen SL. Th17 cells in immunity to *Candida albicans*. *Cell Host Microbe* 2012;11(5):425-35.
- Green L, Dolen WK. Chronic Candidiasis in Children. *Curr Allergy Asthma Rep* 2017;17(5):31.
- Al-Shaikhly T, Ochs HD. Hyper IgE syndromes: Clinical and molecular characteristics. *Immunol Cell Biol* 2019;97(4):368-79.
- Schimke LF, Sawalle-Belohradsky J, Roesler J, Wollenberg A, Rack A, Borte M, et al. Diagnostic approach to the hyper-IgE syndromes: immunologic and clinical key findings to differentiate hyper-IgE syndromes from atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(3):611-7.e1.
- Grimbacher B, Holland SM, Puck JM. Hyper-IgE syndromes. *Immunol Rev* 2005;203:244-50.
- Béziat V, Li J, Lin JX, Ma CS, Li P, Bousfiha A, et al. A recessive form of Hyper IgE syndrome by disruption of ZNF341-dependent STAT3 transcription and activity. *Sci Immunol* 2018;3(24):eaat4956.

14. Yamazaki Y, Yamada M, Kawai T, Morio T, Onodera M, Ueki M, et al. Two novel gain-of-function mutations of STAT1 responsible for chronic mucocutaneous candidiasis disease: impaired production of IL-17A and IL-22, and the presence of anti-IL-17F autoantibody. *J Immunol* 2014;193(10):4880-7.
15. Eren Akarcan S, Ulusoy Severcan E, Edeer Karaca N, Isik E, Aksu G, Migaud M, et al. Gain-of-function mutations in STAT1: A recently defined cause for chronic mucocutaneous candidiasis disease mimicking combined immunodeficiencies. *Case Reports Immunol* 2017; 2017:2846928.
16. Toubiana J, Okada S, Hiller J, Oleastro M, Lagos Gomez M, Aldave Becerra JC, et al. Heterozygous STAT1 gain-of-function mutations underlie an unexpectedly broad clinical phenotype. *Blood* 2016;127(25):3154-64.
17. Vargas-Hernández A, Mace EM, Zimmerman O, Zerbe CS, Freeman AF, Rosenzweig S, et al. Ruxolitinib partially reverses functional natural killer cell deficiency in patients with signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) gain-of-function mutations. *J Allergy Clin Immunol* 2018;141(6):2142-55.e5.
18. Husebye ES, Anderson MS, Kämpe O. Autoimmune Polyendocrine Syndromes. *N Engl J Med* 2018;378(12):1132-41.
19. Nwosu I, Oladiran O, Ogbonna-Nwosu C, Anyata A. Autoimmune polyglandular syndrome type 1: A case report and brief review. *J Community Hosp Intern Med Perspect* 2019;9(3):252-4.
20. Zirilli G, Santucci S, Cuzzupé C, Corica D, Pitrolo E, Salzano G. Peculiarities of autoimmune polyglandular syndromes in children and adolescents. *Acta Biomed* 2017;88(3):271-5.
21. Ling Y, Cypowij S, Aytakin C, Galicchio M, Camcioglu Y, Nepesov S, et al. Inherited IL-17RC deficiency in patients with chronic mucocutaneous candidiasis. *J Exp Med* 2015;212(5):619-31.
22. Boisson B, Wang C, Pedergnana V, Wu L, Cypowij S, Rybojad M, et al. A biallelic ACT1 mutation selectively abolishes interleukin-17 responses in humans with chronic mucocutaneous candidiasis. *Immunity* 2013;39(4):676-86.
23. Carey B, Lambourne J, Porter S, Hodgson T. Chronic mucocutaneous candidiasis due to gain-of-function mutation in STAT1. *Oral Dis* 2019;25(3):684-92.
24. Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, Hsu JT, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(5):1186-205.e1-78.
25. Garcia-Prat M, Álvarez-Sierra D, Aguiló-Cucurull A, Salgado-Perandrés S, Briongos-Sebastian S, Franco-Jarava C, et al. Extended immunophenotyping reference values in a healthy pediatric population. *Cytometry B Clin Cytom* 2019 ;96(3):223-33.
26. García-García A, Gereda-Martínez D, Deyà-Martínez A, Alsina L. El nuevo escenario de las inmunodeficiencias primarias y el rol del inmunólogo clínico en la consulta especializada [The new scenario of primary immunodeficiencies and the role of the clinical immunologist in the specialised clinic]. *An Pediatr (Engl Ed)* 2020;92(2):117-8.
27. Davidson L, Netea MG, Kullberg BJ. Patient susceptibility to Candidiasis-A potential for adjunctive immunotherapy. *J Fungi (Basel)* 2018;4(1):9.
28. Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, Al-Herz W, Ailal F, Chatila T, et al. Human inborn errors of immunity: 2019 update of the IUIS phenotypical classification. *J Clin Immunol* 2020;40(1):66-81.
29. Jhamnani RD, Rosenzweig SD. An update on gain-of-function mutations in primary immunodeficiency diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2017;17(6):391-7.
30. Tabellini G, Vairo D, Scomodoni O, Tamassia N, Ferraro RM, Patrizi O, et al. Impaired natural killer cell functions in patients with signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) gain-of-function mutations. *J Allergy Clin Immunol* 2017;140(2):553-64.e4.
31. Mengesha BG, Conti HR. The Role of IL-17 in Protection against Mucosal Candida Infections. *J Fungi (Basel)* 2017;3(4):52.
32. Bergerson JRE, Freeman AF. An update on syndromes with a Hyper-IgE phenotype. *Immunol Allergy Clin N Am* 2019;39:49-61.

Tekrarlayan Mikobakteriyel Enfeksiyon İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

Doç. Dr. Dilara F. KOCACIK UYGUN
Prof. Dr. Ayşen BİNGÖL

1. KLİNİK BULGULAR NELERDİR? NE ZAMAN ŞÜPHELENMELİYİZ?

Mikobakteriyel hastalıklara mendelian yatkınlık (MSMD), yapılan immünolojik testlerde belirgin anormallikleri saptanamayan hastalarda, Bacillus Calmette-Guerin (BCG) aşılı ve tüberküloz dışı mikobakteriler (NTM) gibi mikobakterilerin neden olduğu klinik hastalığa yatkınlıkla karakterize, kalıtsal bir grup immün yetersizliktir (Online Mendelian Inheritance in Man - İnsanda çevrimiçi mendelyen kalıtım [OMIM 209950]) (1). Bu hastalar *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı da hassastırlar. Hastalık sıklıkla çocukluk çağında başlamakta, nadir olarak adölesan ya da erişkin dönemde görülebilmektedir (2). Hastalar ayrıca *Salmonella* ya da *Listeria* gibi makrofajlar tarafından fagozite edilen bazı bakteriler, mantarlar veya parazitlerle de gelişen enfeksiyonlara yatkındırlar. Bazı invaziv *Salmonella* vakalarında lökositoklastik vaskulit görülebilmektedir. Viral enfeksiyonlar cytomegalovirus (CMV), insan herpes virüs 8 (HHV8), parainfluenza virüs tip 3 (PRV-3), respiratuar sinsisyal virüs (RSV) ve varicella zoster virüs (VZV) bildirilmiştir. B hücreli lenfoma, özofagus karsinomu, kütanöz skuamöz hücreli karsinom, kaposi sarkomu, karaciğer kanseri ve pineal germinoma gibi malignite vakaları da bildirilmiştir (1, 3-7).

BCG, NTM, *Mycobacterium tuberculosis* veya *Salmonella*'nın tek başına ve/veya diğer hücre içi patojenler veya virüslerle birlikte neden olduğu tekrarlayan veya şiddetli/dissemine mikobakteriyel enfeksiyon hastalığı gelişen ve başka bir hemato-immünolojik durumu olmayan çocuklar veya yetişkinler MSMD açısından değerlendirilmelidirler.

MSMD'ye neden olan genetik mutasyonlar ve MSMD düşündürülen bulgular Tablo 1 ve 2'de verilmiştir (8, 9).

IFN- γ yolağındaki kusurlar (Şekil 1) dışında mikobakteriyel hastalığa yatkınlık yaratan durumlar MSMD araştırılırken ekarte edilmelidir. Bunlar;

- 1) Ağır kombine immün yetersizlik, kombine immün yetersizlik ve kronik granülomatöz hastalık mikobakteriyel hastalığa yatkınlık yaratan durumlar arasındadır ve MSMD'den daha sık görülmesi nedeniyle öncelikle ekarte edilmesi gereken hastalık grubudur (8).
- 2) X'e bağlı NF-kB eksikliği (immün yetersizlikli anhidrotik ektodermal displazi - XR-EDA-ID). Bu hastalar mikobakteriler de dahil olmak üzere çok çeşitli patojenlere (piyojenik bakteriler, virüsler) karşı duyarlıdırlar. İmmünolojik olarak, bu hastalar değişmiş doğal öldürücü hücre (NK) sitotoksitesitesi ve Toll benzeri reseptör (TLR)-4 lipopolisakkarit (LPS) uyarımı sonrası TNF- α üretimi gösterirler (1).
- 3) GATA2 eksikliği, yaygın NTM enfeksiyonları olan sağlıklı yetişkinlerde akla gelmelidir. GATA2 eksikliği olan hastalar aynı zamanda viral enfeksiyonlara duyarlıdırlar, ciddi monositopeni, B hücre ve NK hücre lenfopenisi ile başvururlar. Karakteristik olarak, GATA2 eksikliği olan hastalarda CD56^{parlak} alt kümesinin spesifik kaybı görülmektedir (10, 11).
- 4) Mikobakteri ve virüslere yatkınlık gösteren OR STAT1, OR STAT2, OR JAK1 ve OR interferon düzenleyici faktör 8 (IRF8) eksiklikleri veya mikobakteri ve mantarlara OR RAR ile ilişkili orphan reseptör C (RORC) eksikliği gibi diğer PİY'ler (9).

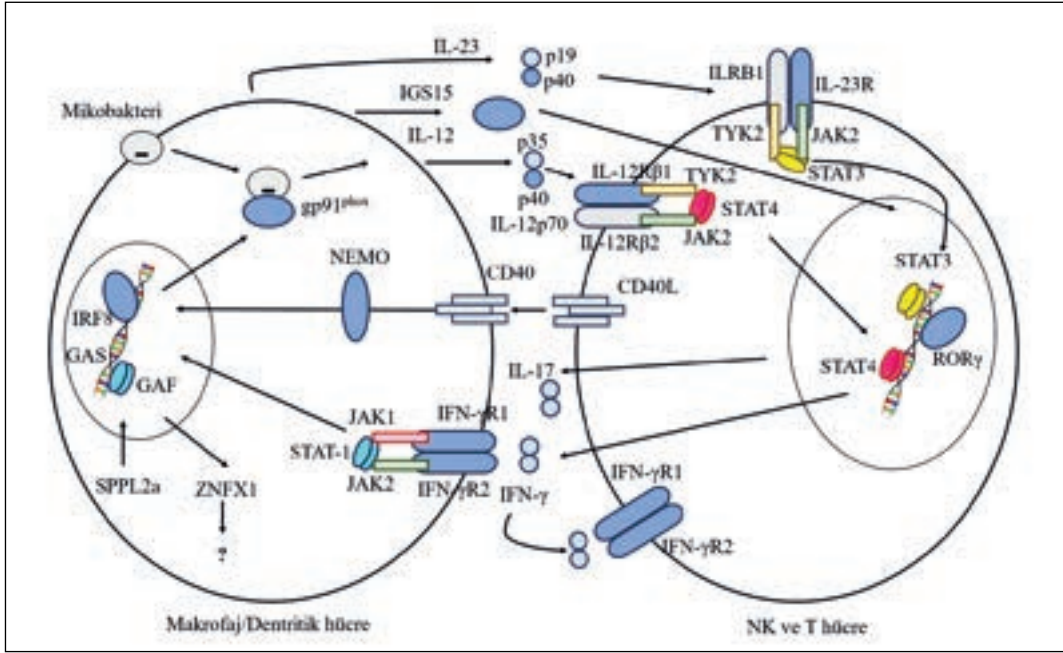
Tablo 1: MSMD neden olan genetik defektler (8)

Şiddetli Fenotip
Komplet IFN-γR1 ve Komplet IFN-γR2 eksikliği. IFN- γ R1 IFN- γ R2 OR Ciddi dissemine BCG ve NTM enfeksiyonları (yumuşak doku, kemik iliği, akciğer, deri, kemik ve lenf nodu). <i>Salmonella spp.</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> ve virüsler IFN-γ eksikliği. IFN- γ OR LOF
Orta Fenotip
<i>Salmonella</i> 'ya yatkınlıkla birlikte IL-12 ve IL-23 reseptör b1 zincir eksikliği. IL-12RB1 OR IL-12p40 (IL-12 ve IL-23) eksikliği. IL-12B OR IL-12Rb2 eksikliği. IL12RB2 OR IL-23R eksikliği. IL23R OR STAT1 LOF. STAT1(OD) Parsiyel IFN-γR1. IFN γ R1 OR Parsiyel IFN-γR2. IFN γ R2 OR OD IFN-γR1. IFN- γ R1 OD. Mikobakteriyel osteomyelit SPPL2a eksikliği. SPPL2A OR Tyk2 eksikliği. TYK2 OR. Virüslere yatkınlık \pm artmış IgE. Multiple sitokin sinyal defekti P1104A TYK2 homozigot. MSMD ya da tüberküloz Makrofaj gp91 phox defekti. CYBB XL IRF8 eksikliği. IRF8 OD ISG15 eksikliği. ISG15 OR. Serebral kalsifikasyon. IFN- γ üretim defekti IRF8 eksikliği. IRF8 OR. Multiple enfeksiyon ajanları, Myeloproliferasyon RORgd eksikliği. RORC OR. <i>Candida</i> 'ya yatkınlık. IFN- γ üretim defekti, IL-17A/F-üreten T hücrelerinin yokluğu JAK1 (LOF)eksikliği. JAK1 OR. Virüslere yatkınlık, üretral karsinoma. IFN- γ üretiminde azalma T-bet eksikliği. TBX21 OR LOF. Üst havayolu enflamasyonu
OR: Otozomal resesif, OD: Otozomal dominant, LOF: Fonksiyon kaybı (loss of function), BCG: Bacillus Calmette-Guerin, NTM: Tüberküloz dışı mikobakter

Tablo 2: MSMD düşündürülen bulgular (9)

Bulgu	Tanım
Yaş	Sıklıkla çocukluk, nadiren adölesan ve erişkin
Genel durum	Sağlıklı bireyler
Enfeksiyon durumu	İnvazif ve tekrarlayan enfeksiyonlar Mycobacteria: <ul style="list-style-type: none"> • BCG enfeksiyonu (<i>Mycobacterium bovis</i> aşı suşu) • Çevresel mikobakteriler (<i>M. chelonae</i>, <i>M. fortuitum</i>, <i>M. mageritense</i>, <i>M. peregrinum</i>, <i>M. smegmatis</i>, <i>M. scrofulaceum</i> vb.) • <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Makrofaj içi bakteriler (tek başına veya mikobakterilerle birlikte): <ul style="list-style-type: none"> • <i>Salmonella spp.</i> • <i>Listeria monocytogenes/Nocardia spp./Klebsiella spp.</i> Mantarlar (mikobakterilerle birlikte): <ul style="list-style-type: none"> • <i>Candida spp.</i> • <i>Histoplasma capsulatum/Paracoccidies brasiliensis/coccicoides spp.</i> Parazitler (tek başına veya mikobakterilerle birlikte, nadir): <ul style="list-style-type: none"> • <i>Leishmania spp.</i> • <i>Toxoplasma gondii</i> Virüs (mikobakteri ile birlikte, nadir): <ul style="list-style-type: none"> • Sitomegalovirüs, insan herpes virüsü 8, parainfluenza virüsü tip 3, solunum sinsityal virüsü ve varisella zoster virüsü
Diğer	Ailede invazif veya tekrarlayan mikobakteriyel enfeksiyon öyküsü IFN- γ salınım testlerinde (IGRA) tespit edilemeyen veya çok düşük IFN- γ üretimi (örn. QuantiFERON-TB)

BCG: Bacillus calmette-guerin, TB: Tüberküloz



Şekil 1. IFN- γ yolağı (1, 9, 15). Mikobakteri enfeksiyonu sonrasında, patojenle ilişkili moleküller örgüler fagositler tarafından ifade edilen örgü tanıma reseptörleri aracılığıyla tanınır ve efektör T hücreleri üzerindeki reseptörlerine (ILRB1/ILRB2/IL-23R) bağlanır. IL-12 ve IL-23 üretimine yol açarak TYK2/JAK2 sinyalinin aktivasyonu ve ardından STAT4 ve STAT3 fosforilasyonu ve dimerizasyonu gerçekleşir. gp91phox (CYBB), NADPH oksidaz kompleksinin toplanması için gereklidir. Bu sinyal yolları, ROR γ 'nın aracılık ettiği IFN- γ ve IL-17'nin transkripsiyonunu indükler. IFN- γ salgılanır ve fagositler üzerindeki reseptörüne bağlanarak JAK1/JAK2 ve STAT1'in aktivasyonu ve konak savunma genlerinin transkripsiyonu ile sonuçlanır. Bu sırada, CD40 ve CD40 ligandının etkileşimi NEMO'nun aktivasyonu ve NF- κ B aracılı enflamasyon ile sonuçlanır.

GAS: γ -IFN aktivasyon bölgesi, **GAF:** γ -aktivasyon faktörü, **NK:** Doğal öldürücü

- 5) Ayrıca, anti-TNF α antikorları, azatioprin, siklofosfamid, mikofenolat, siklosporin ve uzun süreli oral steroid gibi immünosupresif ilaç kullanımı gibi diğer sekonder nedenlerin ekarte edilmesi gereklidir (12, 13).
- 6) İnsan immünyetersizlik virüsü (HIV) enfeksiyonu nedeniyle edinilmiş immün yetersizlik ve malignitelerin araştırılması dışlanması gerekmektedir (14).
- 7) Nötralize edici anti-IFN- γ otoantikorları olan hastalar MSMD benzeri klinik belirtiler geliştirebilir; bu hastalar PİY fenokopileri olarak adlandırılan hastalık grubundadır, bozulmuş IFN- γ üretimine ve STAT1 fosforilasyonuna sahiptirler (8).

2. HANGİ TESTLER İSTENMELİ?

İlk Basamakta İstenecek Tetkikler

Öncelikle ayrıntılı bir öykü ve fizik muayenenin yanı sıra bazı temel laboratuvar testleri istenmelidir. Hemogram ve periferik yayma (lökosit, nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil, trombosit sayıları), immünglobulin seviyeleri

(IgG, IgA, IgM, IgE), lenfosit alt grupları (T, B, NK hücre sayıları) ve HIV gibi rutin laboratuvar tarama testleri dikkatle incelenmelidir. Gerekirse lenfositlerin fonksiyonel testleri planlanmalıdır (16).

İkinci Basamakta İstenecek Tetkikler (Tablo 3A-B, Tablo 4)

- **Bazal Plazma IFN- γ düzeyi**

Bazal plazma IFN- γ seviyesinin enzim bağlı immünosorbent test (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; ELISA) ile saptanması, komplet IFN- γ R eksikliği olan hastaların hızla belirlenmesinde yardımcıdır. Bu hastaların plazmalarında IFN- γ seviyeleri artmıştır; IFN- γ R eksikliğinin parsiyel resesif formlarında tespit edilebilir düzeyde IFN- γ seviyeleri bulunmakta, diğer MSMD formlarında ve sağlıklı kontrolerde ise tespit edilememektedir. Parsiyel OR IFN- γ R1 defekti olan hastalardaki ortalama IFN- γ seviyesinin 2 standart sapma üstü (>80 pg/mL), komplet defekti olan bir hastayı hematopoetik kök hücre nakli (HKHN) adayı olarak değerlendirmek için eşik değer olarak kabul edilmektedir.

Tablo 3A. IFN- γ defektlerinde tanasal testler (9)

Gen	Mikrobiyal uyarım (BCG)		Mitojen uyarımı		Akan hücre ölçer ile belirleme				
	IFN- γ	IL-12	IFN- γ	IL-12	Bazal IFN- γ	IFN- γ R1	IFN- γ R2	IFN- γ bağlayıcı	STAT1-IFN- γ 'ya fosforilasyon yanıtı
Komplet OR	Normal	IFN- γ kostimülasyonu ile artmaz	PHA'ya yanıt olarak normal (TK, PBMC'ler)	Normal veya LPS ile azalmış, IFN- γ 'ya yanıt yok (TK, PBMC'ler)	Çok yüksek	Mevcut	BY	BY	Ortadan kalkmış ¹
	Normal	IFN- γ kostimülasyonu ile artmaz	Normal (TK); PHA'ya yanıt düşük, IL-12p70 ile düzelleme (PBMC'ler)	IFN- γ 'ya yanıt yok	Çok yüksek	Yok	BY	BY	Ortadan kalkmış
Parsiyel OD	Normal	IFN- γ kostimülasyonu ile artmaz	T hücrelerinde CD2/ CD28'e yanıt olarak normal; IL-12 uyarmı sonrasında T hücrelerinde düşük	LPS + IFN- γ 'ya bozulmuş ancak ortadan kaldırılamamış ² yanıt (TB, izole monositler)	Normal	Artmış	BY	BY	Etkilenmiş ancak ortadan kaldırılamamış ²
	Normal	Sadece yüksek IFN- γ kostimülasyonu ile artar	BY	Düşük/orta doz IFN- γ 'ya düşük yanıt	Yüksek	Mevcut	BY	Bozulmuş, doza bağlı	Etkilenmiş ancak ortadan kaldırılamamış
Komplet OR	Normal	IFN- γ kostimülasyonu ile artmaz	BY	BY	Yüksek	Mevcut	Mevcut	BY	Ortadan kalkmış
	Normal	IFN- γ kostimülasyonu ile artmaz	PHA stimülasyonu sonrası düşük; IL-12 ile normal seviyelere yükselme (PBMC'ler)	BY	Yüksek	Mevcut	Yok	BY	Ortadan kalkmış
Parsiyel OR	Normal (TK)	IFN- γ kostimülasyonu ile bozulmuş artış	BY	BY	Arttı ya da artmadı	Mevcut (PBMC'lerde)	Düşük seviyeler	BY	BY
	BY	BY	BY	BY	BY	BY	BY	BY	Monositler, T hücreleri ve monosit türevi makrofajlarda normal
Parsiyel OD	IL-12 kostimülasyonu ile normal artış	IFN- γ kostimülasyonu ile bozulmuş artış	BY	BY	BY	BY	BY	BY	Normal
	IL-12 kostimülasyonu ile normal artış	IFN- γ kostimülasyonu ile bozulmuş artış	BY	BY	BY	BY	BY	BY	Yetersiz ³

OR: Otozomal resesif, OD: otozomal dominant, PBMC: Periferik kan mononükleer hücreler, TK: Tam kan, BY: Bilgi yok, PHA: Fitohemaglutinin

¹ IFN- γ uyarmından sonra STAT1 fosforilasyonu yok

² IFN- γ stimülasyonundan sonra STAT1'in bozulmuş fosforilasyonu; fosforilasyon sadece yüksek doz IFN- γ 'dan sonra mevcuttur (>105 IU/mL)

³ IFN- γ 'ya yanıt olarak STAT1 fosforilasyonunun azalması veya bozulması

Tablo 3B. IFN- γ defektlerinde tanısal testler (9)

Gen	Mikrobiyal uyurım (BCG)			Mitojen uyurımı			Akan hücre ölçer ile belirleme				
	IFN- γ	IL-12	IL-12	IFN- γ	IL-12	IL-12Ry1 Varlık	STAT4	IFN- γ R1	IFN- γ R2	STAT1	IFN- γ 'ya yanıtı
IL12B	Bozulmuş ancak ortadan kalkmamış, IL-12p70 kostimülasyonu sonrası artar (kontrollerden daha düşük) (TK); IL-12p70 kostimülasyonu sonrası bozulmuş ve geri kazanılmış (PBMC'ler) IL-12p70	Ortadan kalkmış, IL12p40, TK'da ve PBMC'lerde ciddi şekilde bozulmuş	Ortadan kalkmış (SAC uyarımı, PBMC'ler), kaldırılmış (CD40L, PBMC'ler)	Ciddi derecede bozulmuş/IL-12p70 kostimülasyonundan sonra artar (PHA, PBMCs ve TK)	BY	BY	BY	Normal	BY	BY	BY
	Komplet OR	Düşük, IL-12p70 kostimülasyonu sonrasında artmaz	Normal	BY	BY	Mevcut (normal veya bozulmuş)	Ortadan kalkmış	Normal	Normal	BY	BY
IL12RB1	Komplet OR	Düşük, IL-12p70 kostimülasyonu sonrasında artmaz	Normal	Kaldırılmış veya ciddi şekilde bozulmuş (PHA, PHA +IL-12; CD3+CD28; CD2+CD28, PBMC'ler)	BY	Ortadan kalkmış	Ortadan kalkmış	Normal	Normal	Normal	IFN- γ 'ya normal yanıt
	Parsiyel OD	BCG stimülasyonundan sonra normal (ayrıca PPD, PBMC'lerde, TK)	BCG sonrası normal (TK)	PHA ile normal (WB) dan sonra 1/3 üretim (PBMC'ler)	BY	BY	BY	BY	BY	BY	BY
ISG15	Komplet OR	BCG'ye yanıt olarak IFN- γ yok, IL-12 kostimülasyonu ile kısmen düzeyliyor (ISG15 ilavesi ile düzeyiyor, IL-12p40 def'e benziyor)	Normal	BY	BY	Normal	BY	BY	BY	BY	BY
	Komplet XR	Normal	Normal	BY	BY	BY	BY	BY	BY	BY	BY
NEMO	Parsiyel XR	BY	Normal	PHA/ anti-CD3 sonrası düşük seviyeler	BY	BY	BY	BY	BY	BY	BY
	Parsiyel OR	Bozulmuş IFN- γ üretimi, IL-12 kostimülasyonu ile düzelmez	Normal	BY	BY	BY	BY	BY	BY	BY	BY

OR: Otozomal resesif, OD: Otozomal dominant, XR: X'e bağlı, PBMC: Periferik mononükleer hücreler, PHA: Fitohemaglutinin, TK: Tam kan, BY: Bilgi yok

Tablo 4. Tanıda kullanılan farklı tekniklerin güçlü yönleri ve sınırlamaları (9)

Prosedür	Test	Güçlü Yönler	Sınırlamalar	MSMD hasta
Kültür ve sitokin tayini	Plazma bazal IFN- γ	Gerçekleştirilmesi kolay ve ucuzdur, tespit edildiğinde yüksek IFN- γ seviyeleri IFN- γ reseptör defektinin göstergesidir	Kitler arasındaki farklılıklar, enfeksiyonun akut fazından sonra IFN- γ seviyelerinin normalleşmesi	OR IFN- γ reseptörleri kusurları
	BCG stimülasyonu ile TK kültürü	Gerçeğe en çok benzeyen durum	Kismi defektler gizli olabilir, bazı MSMD defektleri normal sonuçlara sahiptir; sağlıklı kontrollerde büyük değişkenlik, BCG kullanımı çok zor ISO düzenlemelerinin kabulü Taze kanda yapılmalıdır (ekstraksiyondan en fazla 48 saat sonra)	OR IFN- γ reseptörleri, IL-12R β 1, IL-12p40, ISG15/TYK2 kusurları
	BCG stimülasyonu ile PBMC kültürü	Dondurulmuş hücrelerde gerçekleştirilebilir	Kismi defektler gizli olabilir, bazı MSMD defektleri normal sonuçlara sahiptir; sağlıklı kontrollerde büyük değişkenlik, BCG kullanımı çok zor ISO düzenlemelerinin kabulü	
	Mitojen uyarımlı TK kültürü	BCG kullanımı YOK	Mikobakteriye özgü bağışıklık test edilmemiştir Taze kanda yapılmalıdır (ekstraksiyondan en fazla 48 saat sonra)	OR IFN- γ R1, IL-12R β 1, IL-12p40 Kusurlar NEMO eksikliği PBMC'lerde
	Mitojen stimülasyonu ile PBMC kültürü	BCG kullanımı YOK. Dondurulmuş hücrelerde gerçekleştirilebilir	Mikobakteriye özgü bağışıklık test edilmemiştir	
Akan hücre ölçer (birincil hücrelerde)	IFN- γ bağlanması	Membranda ifade edildiğinde IFN- γ R1'deki kusurları tespit etmek için kullanışlıdır	Bazı defektler IFN- γ 'yi bağlar ancak fonksiyonel olmayan IFN- γ R1'e sahiptir	IFN- γ R1 kusurları
	IFN- γ R1 tayini	IFN- γ R1 eksikliğini bazı formlarının tanısında hızlı teşhis	IFN- γ R1 eksikliğini bazı formlarında IFN- γ R1'in işlevsel olmayan bir formu bulunur, bu nedenle reseptörün varlığı defekti dışlamaz	IFN- γ R1 kusurları
	IFN- γ R2 tayini	IFNGR2 eksikliğini bazı formlarının kolay ve hızlı teşhisi	Bazı IFNGR2 formları membranda IFN- γ R2'nin işlevsel olmayan bir formunu sunar, bu nedenle reseptörün varlığı defekti dışlamaz	IFN- γ R2 kusurları
	STAT1 fosforilasyonu	Hem IFN- γ R1/IFN- γ R2'nin işlevini değerlendiren hem de STAT1 eksikliğini bazı formlarını tespit edebilen hızlı test	IFN- γ R1/2 defektlerinin kısmi formları, sadece yüksek seviyelerde IFN- γ kullanımında gizli olabilir, bazı STAT1 defektleri IFN- γ stimülasyonundan sonra normal STAT1 fosforilasyonu gösterir	IFN- γ R1/2 kusurları, STAT1, TYK2
	IL-12R β 1 tayini	Hızlı/kolay test; IL12R β 1'deki mutasyonlardan biri hariç hepsi membranda IL-12R β 1 eksikliği gösterir	IL-12R β 1 defektinin, IL-12R β 1'in aktive lenfositlerin membranında bulunduğu bir formu vardır, bu nedenle IL-12R β 1'in mevcut olması defekti dışlamaz	IL-12R β 1 kusurları
	STAT4 belirleme	Hem IL-12R β 1 hem de Tyk2 işlevini değerlendirir	Uzun teknik; uygun STAT4 antikoruna yok	IL-12R β 1, TYK2 kusurları

OR: Otozomal resesif; OD: Otozomal dominant; PBMC: Periferik mononükleer hücreler; TK: Tam kan

Komplet IFN- γ R eksikliğinde 150-1700 pg/mL arasında IFN- γ seviyeleri gözlenmiştir. Parsiyel OR IFN- γ R1 defektleri ile ilgili yayımlanan vaka serisinde bazal IFN- γ düzeyinin 51-222 pg/mL arasında değiştiği ve uç değer 925 pg/mL olduğu gözlemlenmiştir. Çok yüksek bazal IFN- γ konsantrasyonunun akut bir mikobakteriyel hastalığı yansıtabileceğini akılda tutulmalıdır. Bu nedenle, bazal IFN- γ düzeyinin akut enfeksiyonun tedavisinden en az bir ay sonra ölçülmesi önerilmektedir. ELISA çalışılırken, fibrinojen gibi diğer proteinlerin interferansını (karışım) önlemek için plazma örneklerinin en az 1:2 oranında dilüe edilmesi gerektiği akılda tutulmalıdır (9, 17, 18).

• Sitokin üretimi

IFN- γ yolağının değerlendirilmesinde altın standart sitokin üretiminin ölçülmesidir. Tam kan veya periferik kan mononükleer hücrelerinin (PBMC) uyarımını takiben IL-12p40, IL-12p70 ve IFN- γ ölçümüne dayanmaktadır. Freinberg ve ark. (19)'nın geliştirmiş olduğu bu ölçümde stimülasyon koşulları, 18 saat (IL-12 ölçümü için) veya 48 saat (IFN- γ ve IL-12 ölçümleri için) boyunca hrIL-12p70 (20 ng/mL) veya hrIFN- γ (5000 IU/mL) ile canlı BCG ortak stimülasyonu veya bunlar olmadan 20 BCG/lökosit enfeksiyonu ile stimülasyonunu içermektedir. Ancak ISO15189 Avrupa yönetmeliklerine tabi sağlık uygulamaları ve laboratuvarlar için, uyarıcı olarak BCG kullanımı önerilmemektedir.

BCG alternatifi olarak kullanılan mitojenler, hrIL-12p70 veya hrIFN- γ (102, 103 ve 104 IU/mL) ile birlikte fitohemaglutinin (PHA; %1) veya LPS (Salmonella minesotta, 100 ng/mL)'dir. BCG yerine kullanılan bu mitojenlerin tam kan veya PBMC stimülasyonu sonrası IL-12p40, IL-12p70 ve IFN- γ yanıtları benzerdir. Salgılanan sitokinler ELISA ile, hücre içi sitokin seviyeleri ise akan hücre ölçer sistemi ile veya sitometrik boncuk dizisi gibi multipleks analizlerle gerçekleştirilebilir (9, 18).

Sitokin üretimlerinin değerlendirilmesinden elde edilen sonuçlar, IFN- γ yanıt kusurları ile IFN- γ üretim kusurları arasında ayırım yapılmasına yardımcı olmaktadır. IFN- γ R1, IFN- γ R2'nin komplet eksiklikleri, IL-12R β 1 veya IL-12p40 mutasyonları tespit edilebilir; ancak CYBB veya OD IRF8 eksikliği gibi MSMD'nin bazı genetik etiyolojileri uyarımlara normal yanıt gösterirler (9, 20). IFN- γ üretim defektleri, BCG stimülasyonundan sonra IFN- γ üretiminin olmaması veya düşük olması ile karakterizedir, hrIL-12p70 ko-

stimülasyonundan sonra IFN- γ üretimi olmazsa, ilk olarak IL-12R β 1 eksikliği, sonrasında ISG15 veya TYK2 eksiklikleri incelenmelidir (21, 22). IL-12p40 eksikliği olan hastalar BCG stimülasyonuna yanıt olarak çok düşük seviyelerde IFN- γ üretirler ve eksojen hrIL-12p70 ile az da olsa uyarım saptanabilir. Komplet IFN- γ yanıt defektlerinde (komplet IFN- γ R1 ve IFN- γ R2 eksiklikleri), hrIFN- γ ile uyarım sonrası IL-12 üretimi izlenmez (9, 19, 23). Parsiyel IFN- γ eksikliklerinde (parsiyel OR IFN- γ R1/IFN- γ R2 ve parsiyel OD STAT1 LOF eksikliği), hrIFN- γ yanıtı doza bağlı bir şekilde bozulmakta, ancak ortadan kalkmamaktadır (9, 18, 23).

NEMO eksikliği olan hastalarda, PBMC'lerin BCG ile stimülasyonundan sonra IL-12 üretimi normaldir ancak PHA/CD3 ile stimülasyonundan sonra bozulmuştur (9, 24-26).

Laboratuvarlardaki ve kullanılan tekniklerdeki farklılıklar nedeniyle tanı için kesim değerleri belirlemek zordur. Bu nedenle her laboratuvarın kendi optimizasyonunu yapması gerekmektedir. IFN- γ yolağındaki farklı genetik mutasyonların sitokin yanıtlarında beklenen sonuçlar Tablo 3A ve 3B'de özetlenmiştir (9).

• Hücre Dışı Reseptörlerin Akan Hücre Ölçer ile Tespiti

IFN- γ R1/IFN- γ R2 ekspresyonu

Akan hücre ölçer sistemi monositlerin membranında IFN- γ R protein ekspresyonu olmaması nedeniyle, komplet OR IFN- γ R1 ve komplet OR IFN- γ R2 eksikliğinin tespitinde kullanılabilen hızlı bir tekniktir. IFN- γ R1 ve IFN- γ R2'deki farklı mutasyonlar farklı ekspresyona neden olabilmektedir. Parsiyel OR IFN- γ R1 defektlerinde genellikle reseptörün zayıf ifadesi vardır ve parsiyel OD IFN- γ R1 eksikliği, geri dönüşüm motifindeki mutasyonlar ise artmış protein ifadesine yol açmaktadır (9, 18). Parsiyel OD/OR IFN- γ R2 defektlerinde monositlerin membranında düşük ancak tespit edilebilir düzeyde ekspresyon saptanabilmektedir, IFN- γ R2 ekspresyonunun değerlendirilmesi için kullanılan antikolar optimal değildir. Reseptörün ekspresyonunun, test sırasında kullanılan antikordan etkilenebileceği akılda tutulmalıdır.

IFN- γ R'nin normal ekspresyonu hastalığın olmayacağı anlamına gelmemektedir. Normal reseptörlerin ifade edildiği ancak MSMD'den şüphelenilen durumlarda, IFN- γ 'ya hücrel yanıtı değerlendiren diğer teknikler, örneğin IL-12p70 üretimi, artan IFN- γ dozlarına STAT1 fosforilasyon yanıtı veya IFN- γ bağlanma çalışmaları kullanılmalıdır.

IL-12Rβ1 ekspresyonu

IL-12Rβ1 eksikliği MSMD'nin en yaygın genetik formudur. Akan hücre ölçer sistemi ile IL-12Rβ1 ekspresyonu değerlendirilir. IL-12Rβ1 defektlerinde aktive lenfositlerin membranında IL-12Rβ1 bulunmaz ancak bazı mutasyonlarda membranda IL-12Rβ1 proteininin saptanabilir ki bu da işlevsel olmayan bir ifadeye yol açmaktadır. Aktive lenfositlerin membranında proteinin yokluğunda, IL-12Rβ1'in genetik çalışmalarının yapılması gerekir, ancak varlığı dışlamaz. Bu durumda, IL-12'ye karşı hücresel yanıtların değerlendirilmesi gerekmektedir (9, 21).

IFN-γ Bağlanma Çalışmaları

IFN-γR'deki bazı defektler membran ekspresyonlarını etkilemediğinden, IFN-γ bağlanma çalışmaları fonksiyonları değerlendirmede yardımcı olmaktadır. Özellikle IFN-γR1'deki belirli bir mutasyonun parsiyel resesif veya komplet resesif eksikliğini analiz etmek için geliştirilmiştir. Radyoaktif işaretli ¹²⁵I-IFN-γ ile veya akan hücre ölçer ile test edilmektedir. Akan hücre ölçer sistemi ile IFN-γ bağlanma deneyleri Epstein-Barr virüsü ile transforme edilmiş B hücreleri (EBV-B hücreleri) ile net sonuçlar vermemekte ve PBMC kullanıldığında monositler üzerinde kapılama yapılması gerekmektedir. OD IFN-γR1 eksikliği gibi bazı MSMD'ler bu test ile değerlendirilememektedir (9, 18, 27, 28).

Ortalama floresan yoğunluğu (MFI, anti-IFN-γ antikorunun monositlere bağlanması), aynı IFN-γ konsantrasyonlarında parsiyel OR IFN-γR1 eksikliği olan hastalardan alınan hücrelerde gözlenmez veya çok düşüktür. Yüksek IFN-γ konsantrasyonlarında, bağlanma sağlıklı kontrollerden alınan hücrelere kıyasla parsiyel OR IFN-γR1 eksikliği olan hastalardan alınan hücrelerde benzerdir veya çok az azalmıştır.

• Fosforile STAT Moleküllerinin Akan Hücre Ölçer Sistemi ile Tespiti

STAT proteinleri sitokin sinyalizasyonunda çok önemli bir rol oynamaktadır. IFN-γ yolağında rol alan en etkili iki STAT molekülü, IFN-γ/IFN-α stimülasyonu sonrası aktive olan STAT1 ve IL-12p70 stimülasyonu sonrası aktive olan STAT4'tür. STAT1 fosforilasyonunun akan hücre ölçer ile tespiti hem tam kanda hem de izole PBMC'lerde gerçekleştirilebilirken, IL-12p70'e yanıt olarak STAT4 fosforilasyonunun aktive lenfositlerde gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Mümkünse sonuçlar western blot gibi başka bir

teknikle doğrulanmalıdır. STAT4 fosforilasyonunun değerlendirmesi, uygun bir antikorun bulunmaması nedeniyle sınırlıdır.

STAT1 fosforilasyonu; IFN-γ'ya yanıtı test etmek için kullanılabilen yararlı bir tekniktir, çünkü IFN-γR mutasyonları monositlerin yüzeyinde reseptör ekspresyonunun ortadan kalkmasına neden olabilir veya olmayabilir (9, 18, 27). IFN-γR1 ve IFN-γR2 genlerindeki komplet kusurlar sırasıyla hrIFN-γ'ya yanıt olarak STAT1 fosforilasyonunun ortadan kalkmasına ve hrIFN-α'ya yanıt olarak normal fosforilasyona yol açarken (9, 28, 29), parsiyel kusurlar doza bağlı bir şekilde STAT1 fosforilasyonunun bozulmasına, ancak ortadan kalkmamasına ve yüksek dozlarda ise normal yanıtlara yol açmaktadır (9, 18, 29). STAT1 fosforilasyon analizi için hücreler uyarılırken, IFN-γ dozajı dikkate alınmalıdır; 10⁵ IU/mL hrIFN-γ veya hrIFN-α aralığı kullanılır, 10³ IU/mL ve 10⁵ IU/mL en yaygın konsantrasyonlardır (9).

İşlev kaybına neden olan sadece STAT1 fosforilasyonunu etkileyen mutasyonlar değildir. Tyr701 fosforilasyonu STAT1 işlevi için ilk adım olmasına rağmen, daha sonraki olaylarda rol oynayan diğer STAT1 alanlarındaki mutasyonlar da işlevini bozabilmektedir. Kuyruk segmenti alanındaki veya SH2 alanındaki OD STAT1 LOF mutasyonları (M654K mutasyonu hariç) hrIFN-γ'ya yanıt olarak STAT1 fosforilasyonunun bozulmasına yol açar ancak hrIFN-α'ya yol açmaz (9, 30). Bunun aksine, DNA bağlayıcı alandaki mutasyonlar hem normal hem de değişmiş STAT1 fosforilasyonuna yol açabilmektedir. Hem hrIFN-γ hem de hrIFN-α'ya karşı bozulmuş veya ortadan kalkmış fosforilasyon, STAT1 eksikliğini (OR ise kombine immün yetersizlik veya OD ise MSMD olarak kabul edilir) düşündürürken, normal fosforilasyon ise bunu dışlamaz. Düşük doz IFN-γ stimülasyonundan sonra STAT1 fosforilasyonu hemen hemen tüm IFN-γR defektlerini ve STAT1 defektlerinin ise yaklaşık %70'ini tespit edebilmektedir.

STAT4 fosforilasyonu; IL-12 uyarımından sonra ortaya çıkan sinyal kaskatının önemli bir parçasıdır. STAT4 fosforilasyonunun akan hücre ölçer sistemi ile IL-2 ile kültüre edilmiş ve daha sonra IL-2 ile uyarılmış PBMC'lerde gerçekleştirilmektedir. Hem IL-12Rβ1 hem de TYK2 eksikliği olan hastalarda rhIL-12p70'e yanıt olarak ortadan kalkmış STAT4 fosforilasyonu gözlenmektedir (31). IFN-α sonrasında ise STAT4 fosforilasyonu IL-12Rβ1 eksikliği olan hastalarda normal ve TYK2 eksikliği olan hastalarda ise bozulmuştur (9, 22, 31).

• Anti-IFN- γ Otoantikörlerinin Tespiti

Mikobakterilere karşı MSMD benzeri duyarlılığın bir başka şekli de etkilenen hastaların kanında nötralize edici anti-IFN- γ otoantikörlerinin varlığından kaynaklanmaktadır. Bu durum MSMD'nin bir fenokopisi olması nedeniyle akılda tutulmalıdır. IFN- γ otoantikörlerini tespit etmek için en uygun yaklaşım bir ELISA yöntemidir. Hasta serumuna eksojen IFN- γ eklenmesinden sonra IFN- γ seviyesindeki iyileşmenin gözlemlenmesi gereklidir. Ayrıca, QuantiFERON-TB Gold testinde (Quiagen, Hilden, Almanya) tespit edilemeyen veya çok düşük IFN- γ üretiminin anti-IFN- γ antikörlerinin varlığı için bir uyarı işareti olduğu gösterilmiştir (9).

MSMD'lerde Özel Durumlar

MSMD'nin bazı genetik formlarında karakteristik immünolojik özellikler görülmektedir. Örneğin, parsiyel OD IRF8 eksikliğinde, CD11c⁺CD1c⁺ kan miyeloid dendritik hücre kaybı vardır (20). Sitokrom B-245 beta zinciri (CYBB) eksikliği olan MSMD hastalarında, pürifiye protein türevi (PPD) veya BCG'ye yanıt olarak monosit türevi makrofajlarda ve EBV-B hücrelerinde oksidatif patlama görülür, ancak monositler, nötrofiller ve monosit türevi dendritik hücreler normal yanıtlara sahip olduğundan, rutin bir dihidrorhodamin testinde tespit edilemez (9, 32, 33). Bu testler MSMD tanısı için yaygın olmamakla birlikte, şüphelenilen hastalarda akılda tutulmalıdır.

Genetik Yaklaşımlar

Tam bir tanı ve genetik danışmanlık için genetik çalışmalara ihtiyaç vardır. Fonksiyonel testler spesifik aday genleri tanımlamışsa Sanger sekanslama iyi bir seçenektir. Aksi takdirde, yeni nesil dizileme (NGS) daha az zaman alıcı olacaktır ve daha az maliyetli olabilir. Ancak, MSMD'yi düşündüren klinik belirtileri olan hastaların büyük bir kısmı, bilinen hastalığa neden olan genlerde mutasyon göstermemektedir, bu durumlarda, tüm ekzom sekanslama (WES) veya tüm genom sekanslama (WGS) gerekebilmektedir (1, 9). WGS, WES ile tespit edilemeyen kodlamayan düzenleyici bölgelerdeki mutasyonları ortaya çıkarabilir, ancak WGS, WES'e göre daha pahalı, yorumlanması daha zor ve uzman personel gerektirmektedir. Yeni saptanan mutasyonları doğrulamak için fonksiyonel testler yapılmalıdır. Hastaların genetik tanısına ulaşılması, tedavi planı için son derece önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Abel L, Casanova JL. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease: Genetic, immunological, and clinical features of inborn errors of IFN- γ immunity. *Semin Immunol* 2014;26(6):454-70.
2. Alcaïs A, Fieschi C, Abel L, Casanova JL. Tuberculosis in children and adults: Two distinct genetic diseases. *J Exp Med* 2005;202(12):1617-21.
3. Bax HI, Freeman AF, Anderson VL, Vesterhus P, Laerum D, Pittaluga S, et al. B-cell lymphoma in a patient with complete interferon gamma receptor 1 deficiency. *J Clin Immunol* 2013;33(6):1062-6.
4. Camcioglu Y, Picard C, Lacoste V, Dupuis S, Akcakaya N, Cokura H, et al. HHV-8-associated Kaposi sarcoma in a child with IFN-gammaR1 deficiency. *J Pediatr* 2004;144(4):519-23.
5. Cardenes M, Angel-Moreno A, Fieschi C, Sologuren I, Colino E, Molines A, et al. Oesophageal squamous cell carcinoma in a young adult with IL-12R beta 1 deficiency. *J Med Genet* 2010;47(9):635-7.
6. Taramasso L, Boisson-Dupuis S, Garre ML, Bondi E, Cama A, Nozza P, et al. Pineal germinoma in a child with interferon-gamma receptor 1 deficiency. Case report and literature review. *J Clin Immunol* 2014;34(8):922-7.
7. Toyoda H, Ido M, Nakanishi K, Nakano T, Kamiya H, Matsumine A, et al. Multiple cutaneous squamous cell carcinomas in a patient with interferon gamma receptor 2 (IFN gamma R2) deficiency. *J Med Genet* 2010;47(9):631-4.
8. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, Al-Herz W, et al. The 2022 update of IUIS phenotypical classification for human inborn errors of immunity. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1508-20.
9. Esteve-Sole A, Sologuren I, Martinez-Saavedra MT, Deya-Martinez A, Oleaga-Quintas C, Martinez-Barricarte R, et al. Laboratory evaluation of the IFN-gamma circuit for the molecular diagnosis of Mendelian susceptibility to mycobacterial disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018;55(3):184-204.
10. Mace EM, Hsu AP, Monaco-Shawver L, Makedonas G, Rosen JB, Dropulic L, et al. Mutations in GATA2 cause human NK cell deficiency with specific loss of the CD56(bright) subset. *Blood* 2013;121(14):2669-77.
11. Spinner MA, Sanchez LA, Hsu AP, Shaw PA, Zerbe CS, Calvo KR, et al. GATA2 deficiency: A protean disorder of hematopoiesis, lymphatics, and immunity. *Blood* 2014;123(6):809-21.
12. Brode SK, Jamieson FB, Ng R, Campitelli MA, Kwong JC, Paterson JM, et al. Increased risk of mycobacterial infections associated with anti-rheumatic medications. *Thorax* 2015;70(7):677-82.
13. Lake MA, Ambrose LR, Lipman MC, Lowe DM. "Why me, why now?" Using clinical immunology and epidemiology to explain who gets nontuberculous mycobacterial infection. *BMC Med* 2016;14:54.

14. Boisson-Dupuis S, Bustamante J, El-Baghdadi J, Camcioglu Y, Parvaneh N, El Azbaoui S, et al. Inherited and acquired immunodeficiencies underlying tuberculosis in childhood. *Immunol Rev* 2015;264(1):103-20.
15. Xia L, Liu XH, Yuan Y, Lowrie DB, Fan XY, Li T, et al. An updated review on MSMD research globally and a literature review on the molecular findings, clinical manifestations, and treatment approaches in China. *Front Immunol* 2022;13:926781.
16. Reed B, Dolen WK. The child with recurrent mycobacterial disease. *Curr Allergy Asthma Rep* 2018;18(8):44.
17. Fieschi C, Dupuis S, Picard C, Smith CI, Holland SM, Casanova JL. High levels of interferon gamma in the plasma of children with complete interferon gamma receptor deficiency. *Pediatrics* 2001;107(4):E48.
18. Sologuren I, Boisson-Dupuis S, Pestano J, Vincent QB, Fernandez-Perez L, Chapgier A, et al. Partial recessive IFN-gammaR1 deficiency: Genetic, immunological and clinical features of 14 patients from 11 kindreds. *Hum Mol Genet* 2011;20(8):1509-23.
19. Feinberg J, Fieschi C, Doffinger R, Feinberg M, Leclerc T, Boisson-Dupuis S, et al. *Bacillus Calmette Guerin* triggers the IL-12/IFN-gamma axis by an IRAK-4- and NEMO-dependent, non-cognate interaction between monocytes, NK, and T lymphocytes. *Eur J Immunol* 2004;34(11):3276-84.
20. Hambleton S, Salem S, Bustamante J, Bigley V, Boisson-Dupuis S, Azevedo J, et al. IRF8 mutations and human dendritic-cell immunodeficiency. *N Engl J Med* 2011;365(2):127-38.
21. de Beaucoudrey L, Samarina A, Bustamante J, Cobat A, Boisson-Dupuis S, Feinberg J, et al. Revisiting human IL-12Rbeta1 deficiency: A survey of 141 patients from 30 countries. *Medicine (Baltimore)* 2010;89(6):381-402.
22. Kreins AY, Ciancanelli MJ, Okada S, Kong XF, Ramirez-Alejo N, Kilic SS, et al. Human TYK2 deficiency: Mycobacterial and viral infections without hyper-IgE syndrome. *J Exp Med* 2015;212(10):1641-62.
23. Jouanguy E, Dupuis S, Pallier A, Doffinger R, Fondaneche MC, Fieschi C, et al. In a novel form of IFN-gamma receptor 1 deficiency, cell surface receptors fail to bind IFN-gamma. *J Clin Invest* 2000;105(10):1429-36.
24. Bustamante J. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease: recent discoveries. *Hum Genet* 2020;139(6-7):993-1000.
25. Bustamante J, Picard C, Boisson-Dupuis S, Abel L, Casanova JL. Genetic lessons learned from X-linked Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1246:92-101.
26. Bustamante J, Picard C, Fieschi C, Filipe-Santos O, Feinberg J, Perronne C, et al. A novel X-linked recessive form of Mendelian susceptibility to mycobacterial disease. *J Med Genet* 2007;44(2):e65.
27. Jouanguy E, Lamhamedi-Cherradi S, Lammas D, Dorman SE, Fondaneche MC, Dupuis S, et al. A human IFNGR1 small deletion hotspot associated with dominant susceptibility to mycobacterial infection. *Nat Genet* 1999;21(4):370-8.
28. Rosenzweig SD, Schwartz OM, Brown MR, Leto TL, Holland SM. Characterization of a dipeptide motif regulating IFN-gamma receptor 2 plasma membrane accumulation and IFN-gamma responsiveness. *J Immunol* 2004;173(6):3991-9.
29. Kong XF, Vogt G, Itan Y, Macura-Biegun A, Szaflarska A, Kowalczyk D, et al. Haploinsufficiency at the human IFNGR2 locus contributes to mycobacterial disease. *Hum Mol Genet* 2013;22(4):769-81.
30. Sampaio EP, Bax HI, Hsu AP, Kristosturyan E, Pechacek J, Chandrasekaran P, et al. A novel STAT1 mutation associated with disseminated mycobacterial disease. *J Clin Immunol* 2012;32(4):681-9.
31. Fieschi C, Bosticardo M, de Beaucoudrey L, Boisson-Dupuis S, Feinberg J, Santos OF, et al. A novel form of complete IL-12/IL-23 receptor beta1 deficiency with cell surface-expressed non-functional receptors. *Blood* 2004;104(7):2095-101.
32. Bustamante J, Arias AA, Vogt G, Picard C, Galicia LB, Prando C, et al. Germline CYBB mutations that selectively affect macrophages in kindreds with X-linked predisposition to tuberculous mycobacterial disease. *Nat Immunol* 2011;12(3):213-21.
33. Conti F, Aragao Filho WC, Prando C, Deswarte C, Hubeau M, Newburger PE, et al. Phagocyte nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase activity in patients with inherited IFN-gammaR1 or IFN-gammaR2 deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(5):1393-5.e1.

Doğal-Edinsel İmmünite Arayüz Kusuru İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

Doç. Dr. Esra YÜCEL
Prof. Dr. Güzide AKSU

1. GİRİŞ

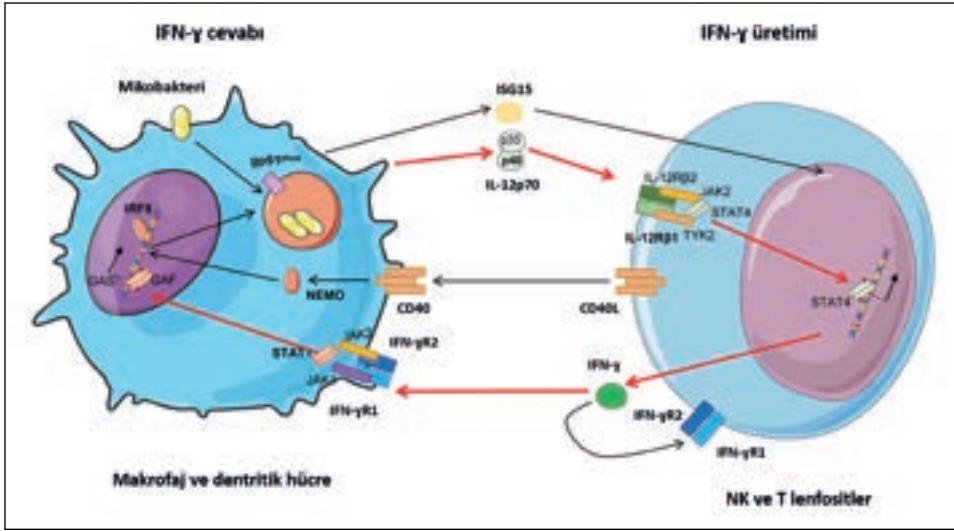
Geçtiğimiz son yirmi yılda interferon (IFN)- γ , IFN α/β - λ , Toll benzeri reseptörler (TLR) ve NF- κ B yolağı ile ilgili molekülleri ilgilendiren hastalıklar tanımlanmıştır. Bu genetik kusurlardan bazıları geniş bir klinik yelpazede bulgu veren immünitinin doğuştan kusurları ve daha önce idiyopatik olduğu düşünülen pediatrik enfeksiyon hastalıkları için moleküler bir açıklama sağlayabilmektedir (1). Bu hastalıkların alt gruplarından IFN- γ - ve IFN- α/β - λ -moleküler defektler mikobakteriyel hastalıklara mendeliyen yatkınlık (MSMD) ve viral hastalıklara yatkınlık ile sonuçlanırken TLR-3 defektine sahip hastaların enfeksiyöz fenotipi herpes simpleks virüs (HSV)-1 ensefaliti (HSE) olarak tanımlanmıştır (2-4). İnterferon düzenleyici faktör 7 (IRF7) mutasyonu ağır influenza geçirilmesi ile ilişkili iken interlökin-1 reseptör ilişkili kinaz 4 (IRAK4), myeloid farklılaşma birincil yanıt proteini 88 (MYD88), nükleer faktör kappa B1 (NF κ B1A) ve NF-kappa-B essential modulator (NEMO) mutasyonlarının bir sonucu olarak kanonik yolak bozulmaktadır (5-8). Bu hastalarda başlıca piyojenik bakteriyel enfeksiyonlar ile NEMO eksikliğinde tüberküloz yatkınlığı görülmektedir.

2. IFN- γ DÖNGÜSÜNE AİT MOLEKÜLER KUSURLAR

IFN- γ döngüsüne ait moleküler kusurlar MSMD ile seyreden klinik durumlara neden olmaktadır. Mikobakteriler ve intraselüler patojenlere etkili bir bağışıklık yanıt oluşturmak için interferon IFN- γ üretimi ve IFN- γ yanıtının devamlılığı gerekmektedir. Basil fagosite edildikten sonra makrofajlar ve antijen sunan hücreler aktive edilir ve T

yardımcı (Th) hücrelerini IFN- γ üretmeye ve Th1 yönüne farklılaşmaya teşvik eden tümör nekroz faktörü (TNF)- α , interferonla uyarılmış gen (ISG) 15 ve interlökin (IL)-12 üretirler. IL-12 (IL-12p70) IL-23 ile ortak bir p40 alt biriminden ve p35 alt biriminden oluşan bir heterodimerdir. IL-12R β 1 ve IL-12R β 2'ye bağlanarak sırasıyla NK ve Th hücrelerini aktive ederler. Janus-ilişkili kinaz 2 (JAK2), IL-12R β 2 alt birimine ve tirozin kinaz 2 (TYK2) ile IL-12R β 1 alt birimine bağlanır. IL-12p70, IL-12 reseptörüne bağlandıktan sonra TYK2 ve JAK2 yaklaşır ve reseptör zincirleri fosforile olur. Sinyal dönüştürücü ve aktivatör transkripsiyon 4 (STAT4) fosforile IL-12R β 2'ye bağlanır, otofosforile olur ve dimerleşir. STAT4 homodimerleri çekirdeğe yer değiştirip burada IFNG promotörüne bağlanarak transkripsiyonunu indükler. Antijen sunan hücreler salgılanan serbest ISG15 de T hücreleri ve NK hücreleri tarafından IFN- γ üretimini teşvik eder. Makrofajlar başta olmak üzere antijen sunan hücrelerde IFN- γ yanıtı, IFN- γ 'nın reseptör (IFN- γ R) 1 ve IFN- γ R2'ye bağlanması yoluyla gerçekleşir. IFN- γ reseptörüne bağlandıktan sonra hem reseptörün iki alt birimi hem de JAK1 (IFN- γ R1'e bağlı) ve JAK2 (IFN- γ R2'ye bağlı) birbirine yaklaşır fosforile olur ve IFN- γ R2'yi fosforile ederek STAT1 için bir kenetlenme bölgesi oluştururlar. STAT1 fosforilasyon ile aktive olup dimerleşerek nükleusa yer değiştirir ve burada γ -aktif faktörü (GAF) oluşturur ve ISG'nin γ -interferonla aktive edilen bölgesine (GAS) bağlanır. T hücresi ve antijen sunan hücreler arasında oluşan bu pozitif bir döngü ile artan oksijen radikalleri sayesinde mikobakterisidal etkiyi sağlamaktadır (Şekil 1) (9-11).

Bu döngüde yer alan farklı basamaklarda oluşan monogenik kusurlar (IFN- γ R1, IFN- γ R2, IL12RB1, IL12B, ISG15,



Şekil 1. IFN-γ döngüsü (11)

NEMO, IRF8, TYK2, STAT1 ve CYBB genleri) IFN-γ üretimi ya da IFN-γ yanıtını etkileyerek ön planda mikobakteriyel hastalıklara yatkınlık yaratan immün sistemin doğuştan kusurlarına neden olmaktadır. MSMD olarak adlandırılan bu hastalıkların küresel sıklığının 1/50.000 civarında olduğu düşünülmektedir (9, 10). Bu hastalar Bacille Calmette-Guérin (BCG) aşı suşu başta olmak üzere ve çevresel mikobakteriler, *M. Tuberculosis*, daha nadiren de *Salmonella*, *Candida* ve diğer makrofaj içi patojenlerle gelişen enfeksiyonlara karşı seçici bir duyarlılık göstermektedirler. İnterferon yanıtının tümünden bozulduğu IFN-γR1, IFN-γR2 komplekt defektlerde cytomegalovirus (CMV), respiratuvar sinsisyal virüs (RSV) ve varisella zoster virüs (VZV) enfeksiyonları da görülebilmektedir (9, 10, 12).

MSMD, tekrarlayan mikobakteriyel enfeksiyonlar ile ilişkili primer immün yetersizlikler bölümünde detaylı anlatılmıştır.

3. HERPES ENSEFALİTİNE YATKINLIK İLE SEYREDEN İMMÜN SİSTEMİN DOĞUŞTAN KUSURLARI

Herpes simpleks ensefaliti sporadik viral ensefalitin dünyanın çoğu ülkesinde en sık görülen şeklidir. Son yıllarda yapılan çalışmalar HSE olgularının bir kısmı ile otozomal resesif (OR) geçişli hastalıklar arasında nedensel bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Otozomal dominant (OD) ve/veya OR TLR3 yolağında yer alan UNC93B1, TRAF3, TRIF, TBK1 ve IRF3, IFNAR1 ve STAT1 dahil olmak üzere Tip 1 IFN yanıtlarını indükleyen veya bunlara aracılık eden moleküllerdeki genetik defektler çocuklarda ve yetişkinlerde herpes simpleks ensefaliti ile ilişkilidir (13). Bu has-

talıklar için özgün testler bulunmamakla birlikte, bir çalışmada IFN imzası çalışılabileceği ve yüksek ekspresyonun komplikasyonlar ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (14). Kesin moleküler defektin saptanması ise ancak genetik inceleme ile mümkündür (13, 14).

4. NF-κB YOLAĞI İLE İLGİLİ MOLEKÜLER KUSURLAR

NEMO, NFκBIA, IRAK4, MYD88 moleküllerine ait defektler ön planda piyogenik bakteriyel enfeksiyonlar ile karakterizedir. Ektodermal displazi, immün yetersizlik ve X'e bağlı resesif kalıtım XR-EDA-ID IKK-γ/NEMO'yu kodlayan IKBKG mutasyonları sonucu oluşan ilişkili nadir bir Piy'dir. NEMO eksikliği olan hastalarda karbonhidratlara karşı antikor yanıtı yetersizdir, hastalarda hiper-IgM sendromu benzeri tablo ve NK hücre anormallikleri saptanabilmektedir. Çoğu hastada TNF-α ile aktivasyona yanıt olarak IL-10 üretilemez. Fenotipik olarak hastalarda hipohidrozis, hipotrikosiz ve birbirinden ayrık koni şekilde dişler görülmektedir. Hastalarda *H. influenzae* ve *S. pneumoniae* enfeksiyonlarının yanı sıra *M. avium* ve *M. kansasii* gibi zayıf patojenik mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar da görülebilmektedir. *Pneumocystis jiroveji* pnömonisi ve CMV, HSV'nin neden olduğu viral hastalıklar da bildirilmiştir (15). Genetik defektin ortaya koyulması ve NF-κB aktivitesinin lusiferaz gibi ölçülebilir bir reporter gen ile analizi, western blot ile protein ifadesi ya da floresan antikor boyama ile gösterilmesi gibi fonksiyonel analizler ile tanıya gidilebilir (16).

IRAK4 eksikliği ve MYD88 eksikliği Toll benzeri reseptörler (TLR3 hariç) uyarım ile üretilen başta IL-1β olmak üzere

proenflamatuvar sitokinlerin üretilmemesi ile karakterizedir. Ayrıca pnömokok ve glikan spesifik antikor (izohe-maglutinin) de yetersiz üretildiğinden hastalarda başta *S. pneumonia*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* enfeksiyonları görülmektedir. Bu hastalarda C-reaktif protein (CRP) düzeyleri ciddi enfeksiyona rağmen yükselmemektedir (17, 18). Moleküler defektin genetik olarak saptanmasının yanı sıra protein ifadesinin immüno-blotting ile araştırılması, PMA, ionomisin ile uyarım sonrası TNF- α artışının gözlenip TLR7 aktivatörü olan imiquimod ile uyarım sonrası TNF- α üretiminin olmaması aynı yolakta yer alan IRAK4 ve MYD88 eksikliği için yapılabilecek tanısal fonksiyonel testlerdendir.

KAYNAKLAR

1. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, Al-Herz W, et al. The 2022 update of IUIS phenotypical classification for human inborn errors of immunity. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1508-20.
2. Noma K, Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S. Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases: State of the art. *Clin Microbiol Infect* 2022;28(11):1429-34.
3. Zhang SY, Jouanguy E, Ugolini S, Smahi A, Elain G, Romero P, et al. TLR3 deficiency in patients with herpes simplex encephalitis. *Science* 2007;317(5844):1522-7.
4. Sancho-Shimizu V, Pérez de Diego R, Lorenzo L, Halwani R, Alangari A, Israelsson E, et al. Herpes simplex encephalitis in children with autosomal recessive and dominant TRIF deficiency. *J Clin Invest* 2011;121(12):4889-902.
5. Clohisey S, Baillie JK. Host susceptibility to severe influenza A virus infection. *Crit Care* 2019;23(1):303.
6. Gobin K, Hintermeyer M, Boisson B, Chrabieh M, Ghandil P, Puel A, et al. IRAK4 deficiency in a patient with recurrent pneumococcal infections: Case report and review of the literature. *Front Pediatr* 2017;5:83.
7. von Bernuth H, Picard C, Jin Z, Pankla R, Xiao H, Ku CL, et al. Pyogenic bacterial infections in humans with MyD88 deficiency. *Science* 2008;321(5889):691-6.
8. Bucciol G, Moens L, Bosch B, Bossuyt X, Casanova JL, Puel A, et al. Lessons learned from the study of human inborn errors of innate immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2019;143(2):507-27.
9. Ford TJ, Silcock RA, Holland SM. Overview of nontuberculous mycobacterial disease in children. *J Paediatr Child Health* 2021;57(1):15-8.
10. Das J, Banday AZ, Shandilya J, Sharma M, Vignesh P, Rawat A. An updated review on Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases- a silver jubilee celebration of its first genetic diagnosis. *Expert Rev Clin Immunol* 2021;17(10):1103-20.
11. Esteve-Solé A, Sologuren I, Martínez-Saavedra MT, Deyà-Martínez À, Oleaga-Quintas C, Martínez-Barricarte R, et al. Laboratory evaluation of the IFN- γ circuit for the molecular diagnosis of Mendelian susceptibility to mycobacterial disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018;55(3):184-204.
12. Gelmez MY, Köksalan K, Çınar S, Hatipoğlu N, Coşkuner T, Topkarcı Z ve ark. IFN- γ R1 (CD119) ve IL-12R β 1 (CD212) eksikliğinin akan hücre ölçer ile analizi. *Mikrobiyol Bul* 2023;57(1):83-96.
13. Mogensen TH. Genetic susceptibility to viral disease in humans. *Clin Microbiol Infect* 2022;28(11):1411-6.
14. Armangué T, Olivé-Cirera G, Martínez-Hernandez E, Rodes M, Peris-Sempere V, Guasp M, et al. Neurologic complications in herpes simplex encephalitis: Clinical, immunological and genetic studies. *Brain* 2023;146(10):4306-19.
15. Picard C, Casanova JL, Puel A. Infectious diseases in patients with IRAK-4, MyD88, NEMO, or I κ B α deficiency. *Clin Microbiol Rev* 2011;24(3):490-7.
16. Ernst O, Vayttaden SJ, Fraser IDC. Measurement of NF- κ B activation in TLR-activated macrophages. *Methods Mol Biol* 2018;1714:67-78.
17. Picard C, von Bernuth H, Ghandil P, Chrabieh M, Levy O, Arkwright PD, et al. Clinical features and outcome of patients with IRAK-4 and MyD88 deficiency. *Medicine (Baltimore)* 2010;89(6):403-25.
18. Craig-Mueller N, Hammad R, Elling R, Alzubi J, Timm B, Kolter J, et al. Modeling MyD88 deficiency in vitro provides new insights in its function. *Front Immunol* 2020;11:608802.

Kompleman Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

Prof. Dr. Ahmet ÖZEN

1. GİRİŞ

Kompleman sistemi, 50'den fazla çözünür ve membrana bağlı proteinden oluşan, doğal immün sistemin önemli bir parçasıdır (1-4). İlk üretildiklerinde inaktif halde olan kompleman sistem proteinleri kompleks bir proteaz kaskadı tarafından enzimatik olarak parçalanarak aktif hâle gelmektedirler. Aktivasyon sonrasında immün sürveyansa ve homeostazise önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır (1, 5, 6).

Kompleman sisteminin başlıca fonksiyonları şu şekilde sıralanabilir (7-11):

1. Bakteriyel hücre duvarlarının sitolitik membran atak kompleks (MAK) atağı ile parçalanması ile mikrobiyal patojenlerin sitotoksik yıkımı
2. Kompleman aracılı antijen opsonizasyonu ile fagositozun desteklenmesi
3. Makrofaj ve nötrofiller gibi enflamatuvar hücrelerin kemotaksisi ve aktivasyonu, proenflamatuvar etki
4. B hücresi aktivasyonu ve antikor üretiminin uyarılmasıyla doğuştan gelen ve kazanılmış immün cevap arasında köprü kurulması ve
5. Apoptotik hücreler, debris, öz antijen ve immün komplekslerin temizlenmesi. Böylece, immün homeostazisin sağlanması, otoimmünite riskinin azaltılmasıdır.

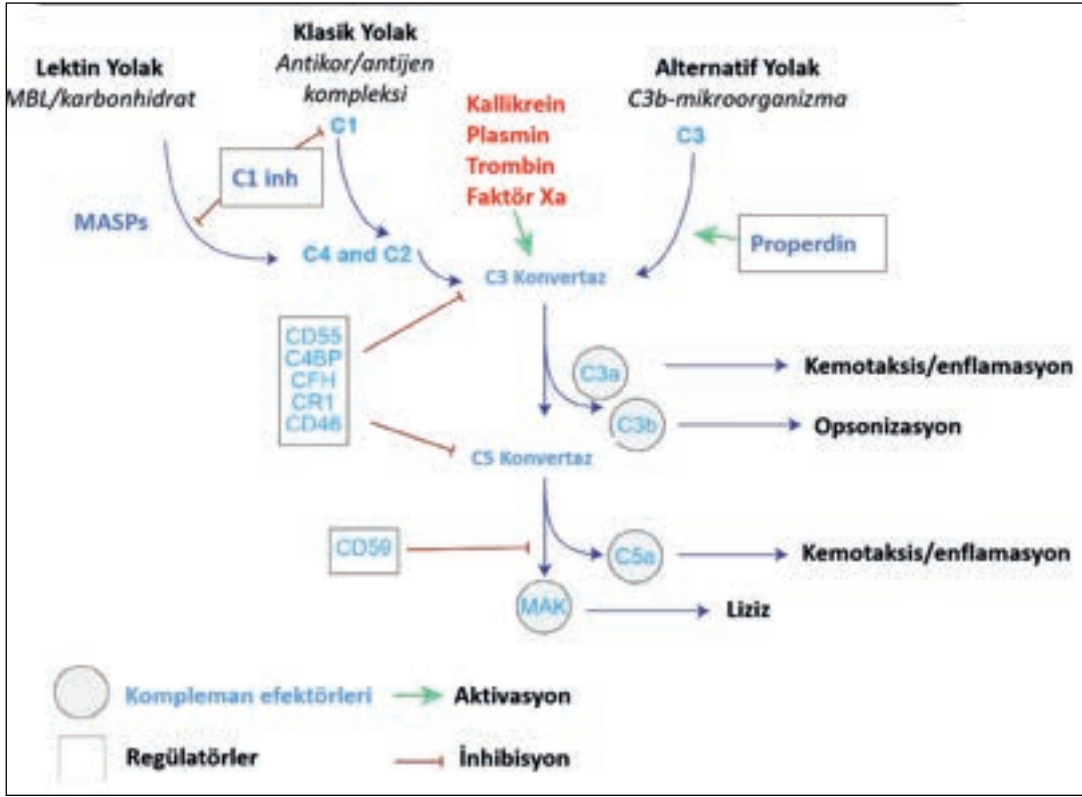
Normal konakçı hücreleri, ifade ettikleri düzenleyici proteinler sayesinde kompleman aracılı immün hasara karşı korunmaktadır (12). Ayrıca, kompleman sistemi ve koagülasyon ve fibrinolitik sistem arasında çoklu enzimatik etkileşimler mevcuttur (13-16). Bu sayede kompleman aracılı hastalıklarda (örneğin PNH, aHÜS, CHAPLE sendromu)

mu) sıkça görülen tromboza yatkınlık durumu açıklanabilmektedir (17, 18). Kompleman sisteminin aktive edilmesini sağlayan başlıca yolaklar, efektör fonksiyon gösteren ve kaskadın ilerlemesinde aracılık eden kompleman faktörleri ve düzenleyici proteinler Şekil 1'de özetlenmiştir.

2. KOMPLEMAN SİSTEM HASTALIKLARI

Kompleman sistem hastalıkları konjenital ya da akkiz olabilir. Konjenital kompleman eksiklikleri, eksik olan spesifik kompleman proteinine bağlı olarak çeşitli klinik tablolarla ilişkili durumlar olup bunlar immün sistemin doğuştan kusurları (inborn errors of immunity) başlığı altında ele alınan hastalıklardır (19). Bu kompleman bozuklukları enfeksiyonlara yatkınlığın yanı sıra artmış lokal veya sistemik enflamatuvar yanıt, otoimmünite ve sistemik tromboz riski ile ilişkilidir (20-22).

Konjenital kompleman eksikliğinin sıklığının %0,03 olduğu tahmin edilmekte ancak net oranlar bilinmemektedir (7). Primer immün yetersizlikler (PİY) içinde sıklığı ülkeden ülkeye değişmekle beraber %5-30 arasındadır (ESID Registry <https://cci-reporting.uniklinik-freiburg.de/#/>) (23, 24). En sık görülen kompleman eksiklikleri, genellikle klinik olarak asemptomatik olan, membrana bağlı lektin (MBL) ve C2 eksikliğidir (25, 26). Bunların dışında primer kompleman eksiklikleri arasında klinik olarak ciddi bulgular veren herediter anjiyoödem (HAÖ) toplumda 1:10000 ila 1:50000 sıklıkta gözlenmektedir. Spesifik akkiz hastalıklarda, kompleman proteinlerinin eksiklikleri anlamlı derecede daha sık görülmektedir. Sistemik lupus eritematosus (SLE) hastalarının %30 kadarında önceden mevcut bir kompleman eksikliği gözlenebilmektedir. Benzer şekilde disemine Neisseria enfeksiyonları geçiren bireylerin yaklaşık %20'sinde geç kompleman bileşenlerinde veya propeptidin molekülünde eksiklik saptanabilmektedir (21, 27).



Şekil 1. Kompleman sistemine ve düzenleyici proteinlere genel bakış. Kompleman aktivasyonu klasik, lektin ve alternatif yol olmak üzere 3 farklı yoldan gerçekleşir. Klasik yol, antijen antikor kompleksinin C1'i aktive etmesiyle, lektin yolu ise MBL ve MASP benzeri proteinlerin aktivasyonu ile başlar. Alternatif yol, C3'ün spontan hidrolizi ile veya klasik ve lektin yollarıyla oluşturulan C3 tarafından başlatılır. Komplemanın aktivasyonu sonucunda, C3 için proteolitik aktiviteye sahip olan ve C5 konvertaz oluşumunu sağlayan C3 konvertaz üretilir. C5'in yıkımı ile sitolitik MAK'ın üretimi ile sonuçlanan ortak terminal yol başlar. Regülasyon proteinleri hem solüble fazda hem de hücre yüzeyine bağlı olarak bulunabilir.

MBL: Membrana bağlı lektin, **MASP:** MBL ilişkili serin proteaz, **MAK:** Membran atak kompleksi

Kompleman sisteminin kalıtsal bozuklukları dört ana gruba ayrılmaktadır (11);

- 1) Klasik yolak yetersizlikleri
- 2) Alternatif yolak yetersizlikleri
- 3) Lektin yolağı yetersizlikleri
- 4) Regülasyon protein yetersizlikleri

Kompleman sistem hastalıkları, genetik, klinik ve laboratuvar özellikleri Tablo 1 de özetlenmiştir.

2.1. Klinik Özellikler

Kompleman bozukluklarının iki temel sonucu enfeksiyonlara yatkınlık ve otoimmünitedir. Ayrıca eksik olan ya da çok çalışan proteinin yol açtığı patolojik değişikliklere özgü klinik bulgular da görülebilmektedir (28).

2.1.1. Enfeksiyona Yatkınlık

Kompleman sistemi her türlü patojene (bakteri, virüs, parazit ve mantar) karşı konak savunmasında kritik rol oynamaktadır. Bu nedenle, kompleman sistemi eksikliği olan hastaların çoğunda artmış enfeksiyon yatkınlığı en belirgin bulgudur (29). Hastaların yaklaşık %65'inde kapsüllü bakterilerle tekrarlayan, şiddetli ve invaziv enfeksiyonlar görülmektedir (30). Bakteriyemi/sepsis ve menenjit gibi sistemik enfeksiyonlar hastalarda en sık görülen enfeksiyonlar olmasına rağmen sinüzit, pnömöni ve osteomyelit gibi lokalize enfeksiyonlar da görülebilmektedir (22). Enfeksiyonlara neden olan en sık iki ajan (29, 31);

- *Neisseria meningitidis*
- *Streptococcus pneumoniae*'dir.

Bu iki ana ajan dışında *Hemophilus influenza* ve/veya *Staphylococcus aureus* gibi diğer kapsüllü bakteriyel en-

feksiyonların riski de belirgin olarak artmıştır (32, 33). Lek-tin yolağı yetmezliklerinde, tekrarlayan kapsüllü bakteriyal enfeksiyonların yanı sıra viral, mantar ve protozoan enfeksiyonları da görülmektedir (34, 35).

2.1.2. Otoimmünite

Kompleman sistem defektlerinin, konak savunmasında ve enflamatuvar yanıtta neden olduğu dengesizlik otoimmüniteye yol açmaktadır (36). Klasik yolağın erken bileşenlerinde defekti olan hastalar SLE'ye karşı belirgin olarak

artmış bir yatkınlığa sahiptir (37). SLE'nin yanı sıra dermatomiyozit, Henoch-Schönlein purpurası, juvenil romatoid artrit ve glomerülonefrit gibi otoimmün hastalıklar da görülebilmektedir (36, 38, 39).

SLE sıklıkla hipokomplementemi ile ilişkilidir, C3 ve C4 düşüklüğü aktif hastalık döneminde sık görülen laboratuvar bulgusudur. Erken başlangıçlı SLE ile başvuran bireyler, özellikle de anti-dsDNA antikoru negatifse, kompleman sistem defektleri açısından taranmalıdır (40).

Tablo 1. Kompleman sistemi bozukluklarının genetik, klinik ve laboratuvar özellikleri

Enfeksiyon Riski	Komponent/Regulatör	Fenotip	Kalıtım	Genetik Lokus	Gen	Klinik Özellikler	Laboratuvar Bulguları	OMIM
Yüksek	C6	C6 Eksikliği	OR/LOF	5p13.1	C6	Dissemine Neisseria enfeksiyonları	CH50↓, AH50↓ C6 ⁻	612446
	C7	C7 Eksikliği	OR/LOF	5p13.1	C7	Dissemine Neisseria enfeksiyonları Vaskülit	CH50↓, AH50↓ C7↓	610102
	C8 A-G, B	C8 Eksikliği Tip 1 C8 Eksikliği Tip 2	OR/LOF	1p32.2	C8A C8B	Dissemine Neisseria enfeksiyonları	CH50↓, AH50↓ C8↓	613790 613789
	C9	C9 Eksikliği	OR/LOF	5p13.1	C9	Dissemine neisseria enfeksiyonları	CH50↓, AH50↓ C9↓	613825
	Properdin	Properdin Eksikliği	XLR/ LOF	Xp11.23	PFC	Dissemine Neisseria enfeksiyonları	CH50 N, AH50↓, Properdin↓	312060
	Faktör D	Faktör D Eksikliği	OR/LOF	19p13.3	CFD	Dissemine Neisseria enfeksiyonları	CH50 N, AH50↓, Faktör D↓	613912
	Faktör B	Faktör B Eksikliği	OR/LOF	6p21.33	CFB	Dissemine Neisseria enfeksiyonları	CH50 N, AH50↓, Faktör B↓	615561
	C3	C3 Eksikliği	OR/LOF	19p13.3	C3	Tekrarlayan piyojenik enfeksiyonlar	CH50↓, AH50↓ C3↓	613779
	MASP2	MASP2 Eksikliği	OR/LOF	1p36.22	MASP2	Tekrarlayan piyojenik enfeksiyonlar Enflamatuvar akciğer hastalığı Otoimmünite	Lektin Yolağı Fonskiyonu↓, MBL↓	613791
	Fikolin 3	Fikolin 3 Eksikliği	OR/LOF	1p36.11	FCN3	Tekrarlayan akciğer enfeksiyonları Nekrotizan enterokolit Pnönomokok polisakkarid antijenlerine selektif antikor defekti	Fikolin↓	613860
CD55	CHAPLE Hastalığı	OR/LOF	1q32.2	CD55	PLE; ödem, malabsorpsyon, karın ağrısı, ishal, enfeksiyonlar, sistemik trombozis, ciddi enfeksiyonlar (ASYE, ÜSYE, GIS enfeksiyonu)	CD55↓, Hipogama-globulinemi, hipoalbuminemi	226300	

Tablo 1 devam

	C1q	C1q Eksikliği 1 C1q Eksikliği 2 C1q Eksikliği 3	OR/LOF	1p36.12	C1QA C1QB C1OC	SLE-benzeri sendrom (>%90, ağır hastalık), Kapsüllü mo ile enfeksiyonlar	CH50↓, AH50 N, C1↓, C1q↓	613652 620321 620322
	C1r/C1s (Sıklıkla kombine defekt)	C1r/C1s Eksikliği	OR/LOF	12p13.31	C1R/ C1S	SLE-benzeri sendrom Çoklu otoimmünite Kapsüllü mo ile enfeksiyonlar	CH50↓, AH50 N, C1↓, C1r↓	216950
	C1r C1s	Periodontal Ehler Danlos Sendromu Tip1/2	OD/ GOF	12p13.31	C1R/ C1S	Periodontal Ehler Danlos		613785 617174
	C4 (C4A+C4B)	Komplet C4 eksikliği	OR/LOF	6p21.33	C4A/ C4B	SLE-benzeri sendrom RA, Kapsüllü mo ile enfeksiyonlar	CH50↓, AH50 N, C4↓	614380 614379
	C2	C2 Eksikliği	OR/LOF	6p21.33	C2	SLE-benzeri sendrom, Kapsüllü mo ile enfeksiyonlar, Vaskülit, Polimiyozit, Ateroskleroz	CH50↓, AH50 N C2↓, Hipogamaglobulinemi	217000
	C3	aHÜS Tip 5	OD/ GOF	19p13.3	C3	aHÜS Glomerulonefrit, Artmış kompleman aktivasyonu	C3↓ veya N	120700
Düşük	Faktör B	aHÜS Tip 4	OD/ GOF	6p21.33	CFB	aHÜS	C3↓/N, Faktör B↓/N AH50	612924
	Faktör H	Faktör H Eksikliği	OD/OR/ LOF	1q31.3	CFH	aHÜS, Enfeksiyonlar (sepsis, menenjit, pnömoni) Dissemine neisseria enfeksiyonları, Preeklampsi, C3 Glomerulopatisi, MPGN	CH50↓/N, AH50↓/N C3↓/N, FH↓/N	609814
	Faktör H ilişkili Protein 1-5	Faktör H ilişkili Protein Eksikliği 1-5	OD/OR/ LOF	1q31.3	CFHR1-5	aHÜS, geç başlangıçlı dissemine Neisseria enfeksiyonları	CH50N, AH50 N, Faktör H'ye karşı oto antikorlar+	235400 614809
	Faktör I	Faktör I Eksikliği	OR/LOF	4q25	CFI	aHÜS Enfeksiyonlar (sepsis, menenjit, pnömoni), dissemine neisseria enfeksiyonları, preeklampsi	CH50↓, AH50↓ C3↓	610984
	MCP/CD46	aHÜS Tip 2	OD/OR/ LOF	1q32.2	MCP	aHÜS, glomerulonefrit enfeksiyonlar (sepsis, menenjit, pnömoni)	CD46↓	612922
	CD59	CD59 Eksikliği ilişkili Hemolitik Anemi ve/veya immün Polinöropati	OR/LOF	11p13	CD59	Hemolitik anemi, Guillian-Barre sendromu benzeri tablo, tromboz	CD59↓	612300

AH50: Alternatif yolak hemolitik aktivite, **aHÜS:** Atipik hemolitik üremik sendrom, **CH50:** Kompleman hemolitik aktivite, **MASP:** MBL ilişkili serin proteaz, **MBL:** Membrana bağlı lektin, **MPGN:** Membranoproliferatif glomerulonefrit, **mo:** Mikroorganizma, **N:** Normal, **OD:** Otozomal dominant, **OR:** Otozomal resesif, **LOF:** Fonksiyon kaybı, **RA:** Romatoid artrit, **SLE:** Sistemik lupus eritamatosis, **XLR:** X'e bağlı resesif, **MCP:** Membran kofaktör proteini

Kompleman sistemi defektlerinin iyi tanımlanmış klasik bulgularının yanı sıra, klasik bulguların eşlik ettiği ya da etmediği, spesifik genetik defektin sonucunda çoklu organ veya sistem tutulumu ile giden birtakım hastalıklar tanımlanmıştır. Genetik analizlerde yeni nesil dizileme tekniklerinin gelişmesi, bu yeni kompleman kusurlarının tanımlanmasını ve fizyopatolojinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır.

2.2. CHAPLE Sendromu

Hematopoietik, stromal, endotelial ve epitelyal hücrelerde geniş çapta eksprese edilen CD55 (bozunmayı hızlandıran faktör, DAF), klasik ve alternatif yolağın C3 ve C5 konvertazlarının bozunmasını hızlandırarak, kompleman aktivasyonuna karşı konakçı hücrelere koruma sağlar (5).

CD55 genindeki homozigot LOF mutasyonları;

- Kompleman hiperaktivasyonu
- Anjiyopatik tromboz
- Protein kaybettiren enteropati (PKE) ile karakterize otozomal resesif geçişli CHAPLE sendromuna neden olurlar (18).

CD55 proteinin eksikliği, dolaşımdaki lökositler ve submukozal arteriyoller üzerinde kompleman hiperaktivasyonuna neden olur. PKE, primer intestinal lenfanjiektaziden kaynaklanır ve bazı hastalarda mukozal enflamasyon ve ülserlere neden olur. PKE ilişkili gastrointestinal semptomlar (ishal, karın ağrısı, kusma), hipoalbuminemiye bağlı ödem, hipogamaglobulinemi ve lenfopeniye bağlı artmış enfeksiyon sıklığı, büyüme geriliği ve anemi gibi malabsorbsiyon bulguları ile karakterizedir (41, 42). Ayrıca çoklu şiddetli trombotik olaylar görülebilir. CD55 eksikliği olan hastalarda eculizumab tedavisi ile klinik semptomlarda ve laboratuvar parametrelerinde dramatik iyileşme görülmektedir (43). Bir kompleman inhibitörü olan Veopoz (pozelimab-bbfg) tedavisi, CHAPLE hastalığında, 1 yaş ve üzeri pediatrik ve yetişkin hastaların tedavisi için FDA tarafından 2023 yılında onaylanmıştır. Veopoz, CHAPLE hastalığı için FDA onaylı ilk tedavi yöntemidir (44).

2.3. Atipik Hemolitik Üremik Sendrom (aHÜS)

Vasküler endotelde lokal kompleman aktivasyonuna sebep olan genetik defektler veya otoantikörler sonucu oluşan mikroanjiyopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve

akut böbrek yetmezliği tablosudur. Klasik HÜS'e kıyasla daha kötü prognoza sahiptir (45).

2.4. C3 Glomerulopati (C3G)

C3G, dense depozit hastalığı ve C3 glomerülonefrit (C3GN) dahil olmak üzere birkaç nadir glomerülonefrit tipini içeren yeni bir hastalık sınıflandırmasıdır. C3GN, sıvı fazda veya spesifik glomerüller yüzeylerde alternatif kompleman yolağı disregulasyonundan kaynaklanmaktadır (45).

2.5. Yaşa Bağlı Makuler Dejenerasyon

İleri yaşta başlayan santral görme kaybı ile karakterize multifaktöriyel bir retina hastalığıdır. Kompleman sisteminin alternatif yolağında görev alan gen mutasyonlarına bağlı immün disregulasyon, retinada kompleman hiperaktivasyonuna neden olup hastalığa zemin hazırlayabilmektedir (46).

2.6. Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüria (PNH)

PNH, kompleman aracılı hemoliz ile karakterize, klinik olarak anemi, tromboz, dispne, göğüs ve karın ağrısı, kronik böbrek hastalığı ve kemik iliği yetersizliği ile ilişkili nadir görülen bir hemolitik hastalıktır. Bir veya daha fazla hemopoietik kök hücre klonunda fosfatidilinositol glikan ankor biyosentezi sınıf A (PIGA) genindeki somatik mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. PIGA, membran kompleman inhibitörleri olan CD55 ve CD59 dahil olmak üzere çeşitli moleküllerin ankoraj yapısı olan glikosilfosfatidilinositolün (GPI) biyosentezinde yer almaktadır (47). Tedavide, eculizumab veya ravulizumab gibi anti-kompleman ajanlar kullanılmaktadır. Yeni kompleman düzenleyici ajanlar PNH tedavisinde test edilmektedir. Örneğin eculizumaba nazaran kompleman sistemini daha proksimal bir basamak olan C3 noktasında durduran Pegcetacoplan intravasküler hemoliz yanı sıra ekstavasküler hemolizi de durdurma potansiyeline sahiptir (48).

2.7. Konjenital CD59 eksikliği

Konjenital izole CD59 eksikliği nadir görülen bir hastalıktır. Erken bebeklik döneminden itibaren kronik hemoliz, tekrarlayan inme atakları ve Guillain-Barré sendromu benzeri hastalık atakları görülmektedir. CD59 genindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Eculizumab tedavisi ile hem hemolitik anemi hem de nörolojik semptomlar da iyileşme görülmektedir (49).

3. NE ZAMAN ŞÜPHELENMELİYİZ?

Kompleman eksikliği düşündürecek uyarıcı bulgular (7, 20):

- 1) Meningokokkal menenjit (>5 yaş)
- 2) Kapsüllü bakterilerle tekrarlayan sistemik enfeksiyonlar (özellikle pnömokok)
- 3) Olağandışı enfeksiyonlar, örneğin Haemophilus influenzae tip b aşılmasına rağmen epiglottit
- 4) Otoimmün bulgular (özellikle SLE)
- 5) Renal ve oftalmik enflamatuvar hastalıklar
- 6) Ürtiker olmaksızın anjiyoödem
- 7) Protein-kaybettirici enteropati

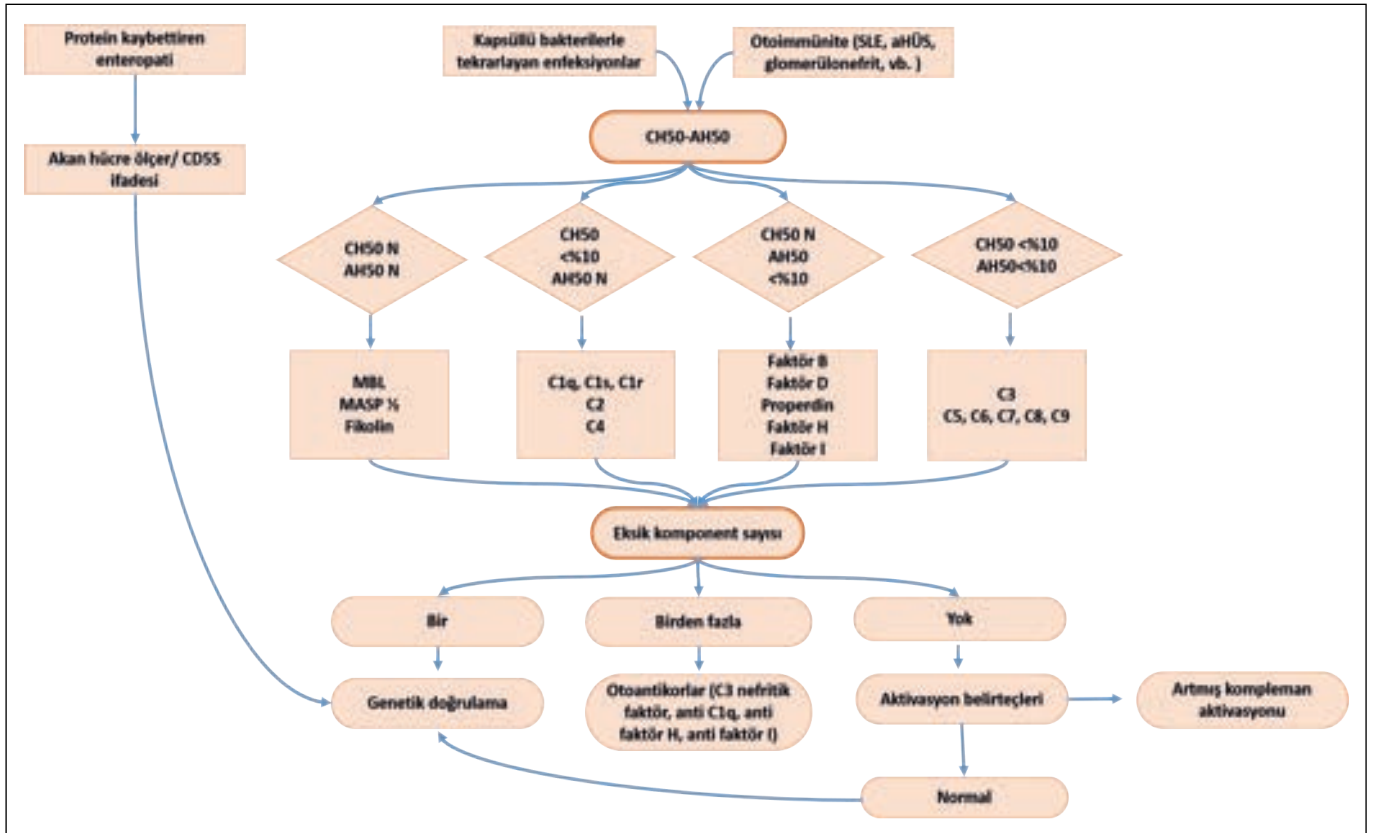
Bunlara ek olarak hastada ailede otoimmün (nefrit, lupus benzeri lezyonlar, alopesi, fotosensitivite, aHÜS vb.) hastalık ve/veya tekrarlayan kapsüllü bakteriyel (*S. pneumoniae* ve *N. meningitides*) enfeksiyon hikâyesi varlığında kompleman sistem hastalıkları mutlaka akla getirilmelidir.

4. LABORATUVAR ANALİZİ-İSTENİLECEK TETKİKLER

Kompleman sistem defekti düşünülen hastalarda kapsamlı laboratuvar analizleri yapılmalıdır. Bu analizler kabaca 5 gruba ayrılır (50, 51):

- 1) Kompleman yolaklarının fonksiyonlarının ölçümü
- 2) Kompleman sistem faktörlerinin ve regülatörlerinin konsantrasyonunun ölçümü
- 3) Kompleman faktörlerine karşı oto antikorların ölçümü
- 4) Kompleman yolaklarının aktivasyon ürünlerinin ölçümü
- 5) Kompleman genlerin moleküler analizi

Hastanın semptomları, bulguları ve aile hikâyesine göre belirli bir algoritmayla şüphelenilen kompleman sistem hastalığına yönelik tetkikler istenmelidir (Şekil 2, Tablo 2) (52). Kompleman sistemi hastalıklarının tanısında kullanılan ana laboratuvar testleri Tablo 3'te verilmiştir.



Şekil 2. Kompleman sistem hastalığı şüphesinde tanısal algoritma

Tablo 2. Kompleman sistem hastalığı düşündürülen klinik durumlarda istenilecek spesifik testler

Klinik	İstenilecek Tetkikler
Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar	CH50, AH50, C3, C3a/C3d C5-C9 (özellikle Neisserial enfeksiyonlarda) Properdin (özellikle Neisserial enfeksiyonlarda) MBL (özellikle Neisserial enfeksiyonlarda) Genetik inceleme (hedeflenmiş gen dizileme, panel sekanslama ya da egzom/genom dizileme)
SLE	CH50 C4 (C4A/B) C3a/C3d
aHÜS	CH50, AH50 C3 C3a/C3da Faktör H Faktör I Faktör B Anti-faktör H antikorları Genetik inceleme (hedeflenmiş gen dizileme, panel sekanslama ya da egzom/genom dizileme)
MPGN	CH50, AH50 C3 C3a/C3da Faktör H Faktör I Anti-faktör H antikorları Genetik inceleme (hedeflenmiş gen dizileme, panel sekanslama ya da egzom/genom dizileme)
PNH	CD55, CD59 (Akan hücre ölçer) Klinik duruma özgü tesler (PIGA gen dizileme, kemik iliği incelemesi) Asit lizis testi (geçmişte daha sık kullanılırdı)
CHAPLE	CD55 (Akan hücre ölçer) Genetik inceleme (hedeflenmiş gen dizileme, panel sekanslama ya da egzom/genom dizileme)

AH50: Alternatif yolak hemolitik aktivite, **aHÜS:** Atipik hemolitik üremik sendrom, **CH50:** Kompleman hemolitik aktivite, **MBL:** Membrana bağlı lektin, **MPGN:** Membranoproliferatif glomerulonefrit, **PNH:** Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri, **SLE:** Sistemik lupus eritematosus

4.1. Kompleman Yolaklarının Fonksiyonel Ölçümü

Kompleman sistem hastalıkları ayırıcı tanı olarak düşünüldüğünde, ilk olarak, her bir aktivasyon yolağına özgü fonksiyonel analizler yapılmalıdır. Klasik, alternatif ve lektin yolakların fonksiyonu sırasıyla CH50 (Kompleman Hemolitik Aktivite), AH50 (Alternatif-yolak Hemolitik Aktivite) ve MBL ölçümü ile değerlendirilmektedir (53, 54). Kompleman yolaklarının çeşitli bileşenlerinin azalması, yokluğu ve/veya etkisizliği hemolitik aktivitenin azalmasına neden olmaktadır (53, 55).

4.2. Kompleman Sistem Faktörlerinin ve Düzenleyici Moleküllerin Kantifikasyonu

Kompleman yolu fonksiyonuna yönelik tarama testlerinin sonuçları birincil kompleman eksikliği veya kompleman

düzensizliğini gösteriyorsa eksik faktörü tanımlamak için kompleman faktörlerinin ve düzenleyicilerin konsantrasyonları ölçülmelidir (55). Kompleman faktörlerinin çoğu akut faz proteinleri olduğundan, aktivasyona bağlı azalmaların, enflamatuvar bir olay sırasında sentezdeki artışlarla maskelenebileceği akılda tutulmalıdır. Ayrıca karaciğer sentez bozukluğuna bağlı üretimin azalması ya da vücuttan protein kaybına neden olan nefrotik sendrom, PKE sendromları, plazma proteinlerini olan kompleman proteinlerinin, primer kompleman defekti olmaksızın kompleman düzeylerinin azalmasına neden olmaktadır.

Hücre yüzeyindeki kompleman düzenleyicilerin veya reseptörlerin ifade edilmesi akan hücre ölçer yöntem ile gerçekleştirilebilir (CD55, CD59) (56).

Tablo 3. Kompleman sistemi hastalıklarının tanısında kullanılan temel laboratuvar testler

Fonksiyonel Analizler	Total kompleman aktivitesi (kompleman sistem defektleri için tarama testleri): – CH50 ve AH50; KY ve AY fonksiyonlarının değerlendirilmesi – EIA ile C5-C9 ölçümü; KY, LY ve AY aktivitesinin değerlendirilmesi Kompleman faktörlerinin fonksiyonel aktivitesi: – Hemolitik analizlerle kompleman faktörlerinin ölçümü (örn:C3) – EAI ile C4 birikimi ölçümü; MBL/MASP fonksiyonel aktivitesinin değerlendirilmesi
Protein Ölçümleri	Kompleman faktörlerinin immüno-presipitasyon (nefelometri), EIA veya WB ile konsantrasyonlarının ölçülmesi: – “Hipokomplementemi” saptamak için C3 ve C4 – Toplam kompleman aktivitesi taramasında tespit edilen düşük aktivitenin takibi (herhangi bir bileşen) – Tekrarlayan neisseria enfeksiyonu için Properdin, MBL
Aktivasyon Ürünleri	EIA ile aktivasyon ürünlerinde selektif olarak ifade edilen neoepitoplara karşı antikorlar ölçümü: – Proteolitik bölünmeden sonra oluşan ürünlerin ölçümü (örneğin C3a, C4a, C5a) – Aktive edilmiş bileşen ile inhibitörü arasındaki komplekslerin ölçümü (örn. C1rs-C1 inhibitörü) – Makromoleküler komplekslerin ölçümü (örneğin AY konvertaz C3bBbP ve terminal SC5b-9 kompleksi)
Oto-antikor Analizi	EIA – Anti-C1q – SLE; anti-C1inh – anjiyoödem; anti-fH – aHUS Fonksiyonel analiz – C3 nefrit faktörü – MPGN
Yüzey proteinleri	CD55/DAF ve CD59 akan hücre ölçer ile ölçümü (CHAPLE, PNH)
Genetik Analiz	Hastalığa spesifik genetik defektin tespiti Aile taraması

AH50: Alternatif yolak hemolitik aktivite, **aHÜS:** Atipik hemolitik üremik sendrom, **AY:** Alternatif yolak, **CH50:** Kompleman hemolitik aktivite, **EIA:** Enzim immunoassay, **KY:** Klasik yolak, **LY:** Lektin yolağı, **MASP:** MBL ilişkili serin proteaz, **MBL:** Membrana bağlı lektin, **MPGN:** Membranoproliferatif glomerulonefrit, **PNH:** Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri, **SLE:** Sistemik lupus eritamosus, **WB:** Western blot

4.3. Kompleman Faktörlerine Karşı Oto Antikorların Ölçümü

Otoimmün ve otoenflamatuvar hastalıkların patojenezinde primer kompleman sistem defektlerinin yanı sıra komplemanlara karşı oluşan oto antikorlar da önemli rol oynamaktadır (57). Örneğin anti-C1q antikoru, hipokomplementemik ürtikeryal vaskülit ve/veya proliferatif SLE nefriti ile ilişkilidir. Özellikle C1q, C1 inhibitörü, Faktör H oto antikorları, C3 konvertaz'a karşı oluşan C3 nefritik faktör (C3NeF) önemli tanısal parametrelerdir (58).

4.4. Kompleman Yolaklarının Aktivasyon Ürünlerinin Ölçümü

Kompleman yolağındaki hemolitik aktivitenin yani fonksiyonun azalması, genetik bir üretim defektinden ya da aşırı aktivasyon sonucu artan tüketimden (kompleman regülasyon defektleri) kaynaklanabilmektedir. Bu iki durumun ayırımı için; kompleman aktivasyonu sırasında enzimatik bölünmeyle üretilen C4a, C4d, C3a, C3c, C3d ve C5a, properdin içeren alternatif yol konvertazı (C3bBbP) ve ayrıca soluablen MAK (sC5b-9) gibi proteinlerin ölçümü ile kompleman sisteminin aktivasyon durumu değerlendirilebilir (Tablo 4) (21). Ancak, bu ürünlerin ölçümleri, yarı ömürle-

rinin kısa olması, *in vitro* ortamda kolayca aktive olmaları gibi nedenlerden dolayı zordur (51).

- Klasik yolun ve lektin yolunun aktivasyon belirteçler; C4a ve C4d
- Alternatif yolun aktivasyonu için belirteç; Bb
- Terminal yolunun aktivasyonuna ilişkin belirteç; C3a, iC3b ve C

4.5. Kompleman Genlerinin Moleküler Analizi

Genetik analizler, tanımlanan veya şüphelenilen kompleman kusurunun altında yatan gen varyantlarını tespit etmemize olanak sağlamaktadır. Kompleman faktörlerinin konsantrasyonlarının normal aralıkta olduğu ve fonksiyonel analizlerin mevcut olmadığı şüpheli kompleman eksiklikleri vakalarında özellikle tanısal öneme sahiptirler. Yeni nesil dizileme (NGS), hastalıklarla ilişkili olan kompleman genlerindeki bilinen ve yeni mutasyonları tespit etmek için artık rutin olarak uygulanmaktadır ve hem tanı hem de hedefe yönelik tedavi şansı açısından önemlidir (30). Son olarak, tüm genom ve tüm ekzom dizilimindeki hızlı gelişmelerle birlikte, diğer PİY'ler de olduğu gibi komple-

Tablo 4: Kompleman yolaklarını değerlendirmede laboratuvar ipuçları**Laboratuvar ipuçları**

- Klasik yolu değerlendirmek için:
 - CH50
 - C1q, C2, C4 ayrı bileşenleri (Fonksiyonel ve Antijen)
 - C1q estera z inhibitörü (Fonksiyonel ve Antijen)
- Alternatif yolu değerlendirmek için:
 - AH50
 - Faktör H (Antijen) ve Faktör H'ye karşı oto antikorlar
 - Faktör B (Antijen) ve enzimatik bölünme ürünleri (Bb)
- Terminal yolu değerlendirmek için:
 - C3 (Fonksiyonel ve Antijen)
 - C5-C9 (Fonksiyonel ve Antijen)
 - Çözünür MAK (sC5b-9 veya sMAK)
 - C3 Nefritik Faktörler (C3 konvertaza karşı oto antikorlar)
- Lektin yolunu değerlendirmek için:
 - Manno z Bağlayıcı Lektin (Fonksiyonel ve Antijen)
- CH50 ve AH50, kompleman anormallikleri için tarama yöntemi olarak kullanılırlar. Birinde veya diğ erinde veya her ikisinde anormal sonuçlar, daha ileri testlerin yönlendirilmesine yardımcı olacaktır.
 - Sıfıra yakın CH50 ve AH50: C3, C5, C6, C7, C8 eksiklikleri
 - Normal AH50 ile sıfıra yakın CH50: C1, C4, C2 eksiklikleri
 - Normal CH50 ile sıfıra yakın AH50: Faktör B, Faktör D, Properdin eksiklikleri
 - Orta derecede düşük CH50: İmmatürite, karaciğ er hastalığı, nefritik faktörler, C9 eksikliği

MAK: Membran atak kompleksi

man eksikliklerinin tanısında kullanımları giderek artmaktadır (7, 20, 59).

Sonuç olarak, son yıllarda gelişen laboratuvar tetkikleri ve genetik analizler sayesinde kompleman eksiklikleri ve dis-regulasyonları ile ilişkili hastalıkların yelpazesi giderek artmaktadır. Bunların patofizyolojisi, klinik fenotipleri ve tanısal değerlendirmesi hakkında derinlemesine bilgi sahibi olmak, kompleman eksikliği olan hastaları tanımlamak için klinisyenlere yardımcı olacaktır. Tanı olanaklarının ve genetik analiz imkânlarının artması ayrıca bu hastalarda hedefe yönelik tedavi şansı sunarak, morbiditeyi azaltmakta ve yaşam kalitesini belirgin olarak artırmaktadır. Örneğ in, CHAPLE hastalığı gibi kompleman eksiklikleri, organa özgü ciddi enflamatuvar bozukluklarda ve hatta gelişimsel süreçlerde komplemanın önemine yeni bir ışık tutmaktadır. Yakın zamanda kompleman düzenleyici ajanlar klinik kullanıma girmiş bulunmakta ve zaman içerisinde yeni nesil ilaçlar kullanıma girmeye devam edecektir.

KAYNAKLAR

1. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: A key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol* 2010;11(9):785-97.
2. Carroll MC. The complement system in regulation of adaptive immunity. *Nat Immunol* 2004;5(10):981-6.
3. Rus H, Cudrici C, Niculescu F. The role of the complement system in innate immunity. *Immunol Res* 2005;33(2):103-12.
4. Walport MJ. Complement. First of two parts. *N Engl J Med* 2001;344(14):1058-66.
5. Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement system part I - molecular mechanisms of activation and regulation. *Front Immunol* 2015;6:262.
6. Merle NS, Noe R, Halbwachs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement system part II: Role in immunity. *Front Immunol* 2015;6:257.
7. Grumach AS, Kirschfink M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach. *Mol Immunol* 2014;61(2):110-7.
8. Noris M, Remuzzi G. Overview of complement activation and regulation. *Semin Nephrol* 2013;33(6):479-92.
9. Chaplin H, Jr. Review: The burgeoning history of the complement system 1888-2005. *Immunohematology* 2005;21(3):85-93.
10. Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med* 2001;344(15):1140-4.
11. Özdemir Ö. Kompleman sistemi ve hastalıkları. *Batı Karadeniz Tıp Dergisi* 2023;7(2):103-11.
12. Zipfel PF, Skerka C. Complement regulators and inhibitory proteins. *Nat Rev Immunol* 2009;9(10):729-40.

13. Foley JH. Examining coagulation-complement crosstalk: Complement activation and thrombosis. *Thromb Res* 2016;141 Suppl 2:S50-4.
14. Oikonomopoulou K, Ricklin D, Ward PA, Lambris JD. Interactions between coagulation and complement--their role in inflammation. *Semin Immunopathol* 2012;34(1):151-65.
15. Amara U, Flierl MA, Rittirsch D, Klos A, Chen H, Acker B, et al. Molecular intercommunication between the complement and coagulation systems. *J Immunol* 2010;185(9):5628-36.
16. Esmon CT. The impact of the inflammatory response on coagulation. *Thromb Res* 2004;114(5-6):321-7.
17. Baines AC, Brodsky RA. Complementopathies. *Blood Rev* 2017;31(4):213-23.
18. Ozen A, Comrie WA, Ardy RC, Dominguez Conde C, Dalgic B, Beser OF, et al. CD55 deficiency, early-onset protein-losing enteropathy, and thrombosis. *N Engl J Med* 2017;377(1):52-61.
19. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, Al-Herz W, et al. The 2022 update of IUIS phenotypical classification for human inborn errors of immunity. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1508-20.
20. Brodzski N, Frazer-Abel A, Grumach AS, Kirschfink M, Litzman J, Perez E, et al. European Society for Immunodeficiencies (ESID) and European Reference Network on Rare Primary Immunodeficiency, Autoinflammatory and Autoimmune Diseases (ERN RITA) complement guideline: deficiencies, diagnosis, and management. *J Clin Immunol* 2020;40(4):576-91.
21. Schroder-Braunstein J, Kirschfink M. Complement deficiencies and dysregulation: Pathophysiological consequences, modern analysis, and clinical management. *Mol Immunol* 2019;114:299-311.
22. Pettigrew HD, Teuber SS, Gershwin ME. Clinical significance of complement deficiencies. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1173:108-23.
23. Abolhassani H, Azizi G, Sharifi L, Yazdani R, Mohsenzadegan M, Delavari S, et al. Global systematic review of primary immunodeficiency registries. *Expert Rev Clin Immunol* 2020;16(7):717-32.
24. Baris S, Abolhassani H, Massaad MJ, Al-Nesf M, Chavoshzadeh Z, Keles S, et al. The Middle East and North Africa diagnosis and management guidelines for inborn errors of immunity. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2023;11(1):158-80.e11.
25. Sullivan KE. Complement deficiencies. *Stiehm's Immune Deficiencies Inborn Errors of Immunity* 2020.
26. Johnson CA, Densen P, Hurford RK Jr, Colten HR, Wetsel RA. Type I human complement C2 deficiency. A 28-base pair gene deletion causes skipping of exon 6 during RNA splicing. *J Biol Chem* 1992;267(13):9347-53.
27. Atkinson JP, Du Clos TW, Mold C, Kulkarni H, Hourcade D, Wu X. The human complement system. *Clinical Immunology* 2019;299-317.e1.
28. Leonardi L, La Torre F, Soresina A, Federici S, Cancrini C, Castagnoli R, et al. Inherited defects in the complement system. *Pediatr Allergy Immunol* 2022;33 Suppl 27(Suppl 27):73-6.
29. Skattum L, van Deuren M, van der Poll T, Truedsson L. Complement deficiency states and associated infections. *Mol Immunol* 2011;48(14):1643-55.
30. Turley AJ, Gathmann B, Bangs C, Bradbury M, Seneviratne S, Gonzalez-Granado LI, et al. Spectrum and management of complement immunodeficiencies (excluding hereditary angioedema) across Europe. *J Clin Immunol* 2015;35(2):199-205.
31. Sjöholm AG, Jönsson G, Braconier JH, Sturfelt G, Truedsson L. Complement deficiency and disease: An update. *Mol Immunol* 2006;43(1-2):78-85.
32. S Reis E, Falcão DA, Isaac L. Clinical aspects and molecular basis of primary deficiencies of complement component C3 and its regulatory proteins factor I and factor H. *Scand J Immunol* 2006;63(3):155-68.
33. Ram S, Lewis LA, Rice PA. Infections of people with complement deficiencies and patients who have undergone splenectomy. *Clin Microbiol Rev* 2010;23(4):740-80.
34. Beltrame MH, Boldt AB, Catarino SJ, Mendes HC, Boschmann SE, Goeldner I, et al. MBL-associated serine proteases (MASPs) and infectious diseases. *Mol Immunol* 2015;67(1):85-100.
35. Heitzeneder S, Seidel M, Forster-Waldl E, Heitger A. Mannan-binding lectin deficiency - Good news, bad news, doesn't matter? *Clin Immunol* 2012;143(1):22-38.
36. Conigliaro P, Triggianese P, Ballanti E, Perricone C, Perricone R, Chimenti MS. Complement, infection, and autoimmunity. *Curr Opin Rheumatol* 2019;31(5):532-41.
37. Macedo AC, Isaac L. Systemic lupus erythematosus and deficiencies of early components of the complement classical pathway. *Front Immunol* 2016;7:55.
38. Ballanti E, Perricone C, Greco E, Ballanti M, Di Muzio G, Chimenti MS, et al. Complement and autoimmunity. *Immunol Res* 2013;56(2-3):477-91.
39. Coss SL, Zhou D, Chua GT, Aziz RA, Hoffman RP, Wu YL, et al. The complement system and human autoimmune diseases. *J Autoimmun* 2023;137:102979.
40. Bryan AR, Wu EY. Complement deficiencies in systemic lupus erythematosus. *Curr Allergy Asthma Rep* 2014;14(7):448.
41. Ozen A. CHAPLE syndrome uncovers the primary role of complement in a familial form of Waldmann's disease. *Immunol Rev* 2019;287(1):20-32.
42. Ozen A, Lenardo MJ. Protein-losing enteropathy. *N Engl J Med* 2023;389(8):733-48.
43. Ozen A, Kasap N, Vujkovic-Cvijin I, Apps R, Cheung F, Karakoc-Aydiner E, et al. Broadly effective metabolic and immune recovery with C5 inhibition in CHAPLE disease. *Nat Immunol* 2021;22(2):128-39.
44. Ozen A, Chongsrisawat V, Sefer AP, Kolukisa B, Jalbert J, Miller J, et al. A Phase 2/3 study evaluating the efficacy and safety of pozelimab in patients with CD55 deficiency with hyperactivation of complement, angiopathic thrombosis, and protein-losing enteropathy (CHAPLE Disease). <https://doi.org/10.2139/ssrn.4485593>. Accessed January 2, 2024.

45. Noris M, Remuzzi G. Glomerular diseases dependent on complement activation, including atypical hemolytic uremic syndrome, membranoproliferative glomerulonephritis, and C3 glomerulopathy: core curriculum 2015. *Am J Kidney Dis* 2015;66(2):359-75.
46. Park DH, Connor KM, Lambris JD. The challenges and promise of complement therapeutics for ocular diseases. *Front Immunol* 2019;10:1007.
47. Kinoshita T. Congenital defects in the expression of the glycosylphosphatidylinositol-anchored complement regulatory proteins CD59 and decay-accelerating factor. *Semin Hematol* 2018;55(3):136-40.
48. Hillmen P, Szer J, Weitz I, Roth A, Hochsmann B, Panse J, et al. Pegcetacoplan versus eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2021;384(11):1028-37.
49. Hochsmann B, Schrezenmeier H. Congenital CD59 deficiency. *Hematol Oncol Clin North Am* 2015;29(3):495-507.
50. Ling M, Murali M. Analysis of the complement system in the clinical immunology laboratory. *Clin Lab Med* 2019;39(4):579-90.
51. Frazer-Abel A, Sepiashvili L, Mbughuni MM, Willrich MA. Overview of laboratory testing and clinical presentations of complement deficiencies and dysregulation. *Adv Clin Chem* 2016;77:1-75.
52. Nilsson B, Ekdahl KN. Complement diagnostics: Concepts, indications, and practical guidelines. *Clin Dev Immunol* 2012;2012:962702.
53. Shih AR, Murali MR. Laboratory tests for disorders of complement and complement regulatory proteins. *Am J Hematol* 2015;90(12):1180-6.
54. Nilsson UR, Nilsson B. Simplified assays of hemolytic activity of the classical and alternative complement pathways. *J Immunol Methods* 1984;72(1):49-59.
55. Wen L, Atkinson JP, Giclas PC. Clinical and laboratory evaluation of complement deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113(4):585-93; quiz 94.
56. Oelschlaegel U, Besson I, Arnoulet C, Sainty D, Nowak R, Naumann R, et al. A standardized flow cytometric method for screening paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) measuring CD55 and CD59 expression on erythrocytes and granulocytes. *Clin Lab Haematol* 2001;23(2):81-90.
57. Dragon-Durey MA, Blanc C, Marinozzi MC, van Schaarenburg RA, Trouw LA. Autoantibodies against complement components and functional consequences. *Mol Immunol* 2013;56(3):213-21.
58. Ekdahl KN, Persson B, Mohlin C, Sandholm K, Skattum L, Nilsson B. Interpretation of serological complement biomarkers in disease. *Front Immunol* 2018;9:2237.
59. Skattum L. Clinical complement analysis-an overview. *Transfus Med Rev* 2019;33(4):207-16.

İmmün Disregülasyon İlişkili Primer İmmün Yetersizlikler

Prof. Dr. Safa BARIŞ

1. GİRİŞ

Primer immün disregülasyon bozuklukları (PIDB), diğer ismi ile primer immün disregülasyon hastalıkları heterojen klinik özelliklere sahiptirler. Bu hastalıklar immün sistemin doğuştan kusurları (IEI) içinde yer almakta ve öncelikle otoimmünite, lenfoproliferasyon, otoenflamasyon ve malignite ile karşımıza çıkmaktadırlar (1-3). Bu bozukluklar, bağışıklık sistemindeki çeşitli tolerans basamaklarının bozulması ile tetiklenebilmektedir. Bunun sonucunda T ve B hücre yetersizliklerinde, fagositer ve kompleman sistem bozukluklarında immün disregülasyon ortaya çı-

kabilmektedir (Tablo 1). Bu grupta ilk tanımlanan genetik hastalık Forkhead Box P3 (*FOXP3*) geninde oluşan mutasyonlar sonucu meydana gelen immün disregülasyon, poliendokrinopati, enteropati, X bağlantılı - IPEX hastalığıdır. Erken başlangıçlı dermatit, ishal ve tip 1 diyabet mellitus ile karşımıza çıkan bu hastalık ilk defa 1982 yılında klinik olarak tarif edilmiştir (4). Daha sonraki çalışmalar, kombine immün yetersizlik (KİY) veya yaygın değişken immün yetersizlik (CVID) olarak tanımlanan hastaların bazılarında PIDB ile ilişkili olabilecek birçok farklı hastalığı ortaya çıkarmıştır (5, 6). Yeni sınıflamaya göre bu hastalıklar hemofagositik lenfositosis (HLH), EBV yatkınlık hasta-

Tablo 1. Primer immün yetersizlik hastalarında immün disregülasyonun olası mekanizmaları

Olası model	Gen	Hastalık
T ve B hücre gelişimi ve toleransı	<i>RAG1, RAG2, DCLRE1C, AIRE, FOXP3</i>	AKİY, KİY, Omenn, APECED, IPEX
T hücresi sinyal iletimi	<i>ZAP70, JAK3, IL2RG, PI3K, DOCK8</i>	KİY, APDS, HIES
Düzenleyici T hücreleri	<i>FOXP3, CD25, CTLA4, LRBA, DEF6, IL2RB, STAT3-GOF, STAT5B, BACH2, HEM1</i>	IPEX/IPEX-like, LRBA ve CTLA4 eksikliği
İnterferon yolağı sinyalizasyonu	<i>TMEM173, ACP5, STAT1, JAK1</i>	SAVI, SPENCD, STAT1 GOF, JAK1 GOF
Kompleman sistemi-kalıntıların uzaklaştırılması	<i>C1q, C2</i>	SLE
Apoptozun kontrolü	<i>FAS, FASL, CASP8 ve 10</i>	ALPS
Hiperenflamasyon	<i>PRF1, UNC13D, STX11, STXBP2, FAAP24, SLC7A7</i>	HLH
Enflamatuvar bağırsak hastalığı	<i>IL10, IL10RA, IL10RB, NFAT5, TGFB1, RIPK1</i>	IL-10 ve IL-10R eksiklikleri, NFAT5 GOF, TGFB1 eksikliği, RIPK1 eksikliği
Romatolojik hastalıklar	<i>TNFAIP3</i>	A20 eksikliği (Behçet benzeri hastalık)

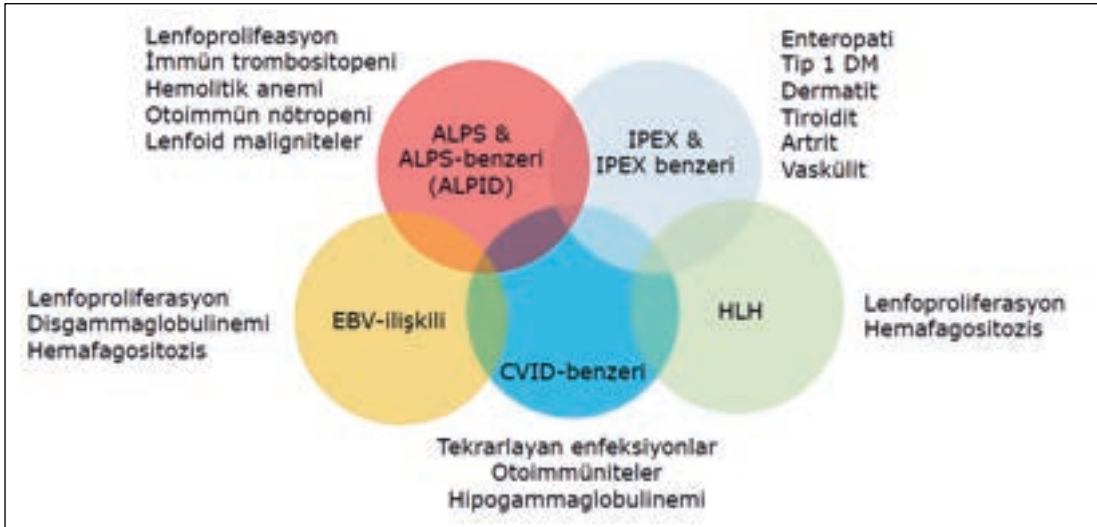
AKİY: Ağır kombine immün yetersizlik, **ALPS:** Otoimmün lenfoproliferatif sendrom, **APDS:** Aktive PI3K delta sendromu, **APECED:** Otoimmün poliendokrinopati, kandidiyaz, ektodermal distrofi, **CTLA4:** Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (Sitotoksik T lenfosit antijeni 4), **GOF:** Gain-of-function (fonksiyon kazanımı), **HLH:** Hemofagositik lenfositosis, **HIES:** Hiper IgE sendromu, **IPEX:** İmmün disregülasyon, poliendokrinopati, enteropati, X'e bağlı kalıtım, **KİY:** Kombine immün yetersizlik, **LRBA:** Lipopolysaccharide-responsive and beige-like anchor, **SAVI:** STING-ilişkili vaskülopati, infantil başlangıçlı, **SLE:** Sistemik lupus eritematozus, **SPENCD:** İmmün disregülasyonlu spondiloenkondroplazi

likları, regülatör T (Treg) hücre bozukluğu ile giden Tregopatiler, otoimmün lenfoproliferatif sendrom ile ilişkili hastalıklar, immün disregülasyon ve kolit ile giden hastalıklar olarak değerlendirilmektedir (Bölüm 1, Tablo 4) (1, 7). Bu değerlendirmeler içerisinde karşılaşılan sınıflama zorluklarını azaltmak için güncel literatür revizyonları hâlâ devam edilmektedir. Örneğin otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS) benzeri fenotipler (ALPS-like), otoimmün lenfoproliferatif immün yetersizlikler (ALPID), IPEX benzeri fenotipler (IPEX-like) ile giden yeni klinik sınıflamalar günümüzde kullanılmaya başlanmıştır. Buradaki klinik sınıflamanın gereksinimi saptanan moleküler kusurların orijinal sınıflamaya uymaması nedeniyle ortaya çıkmıştır (Şekil 1).

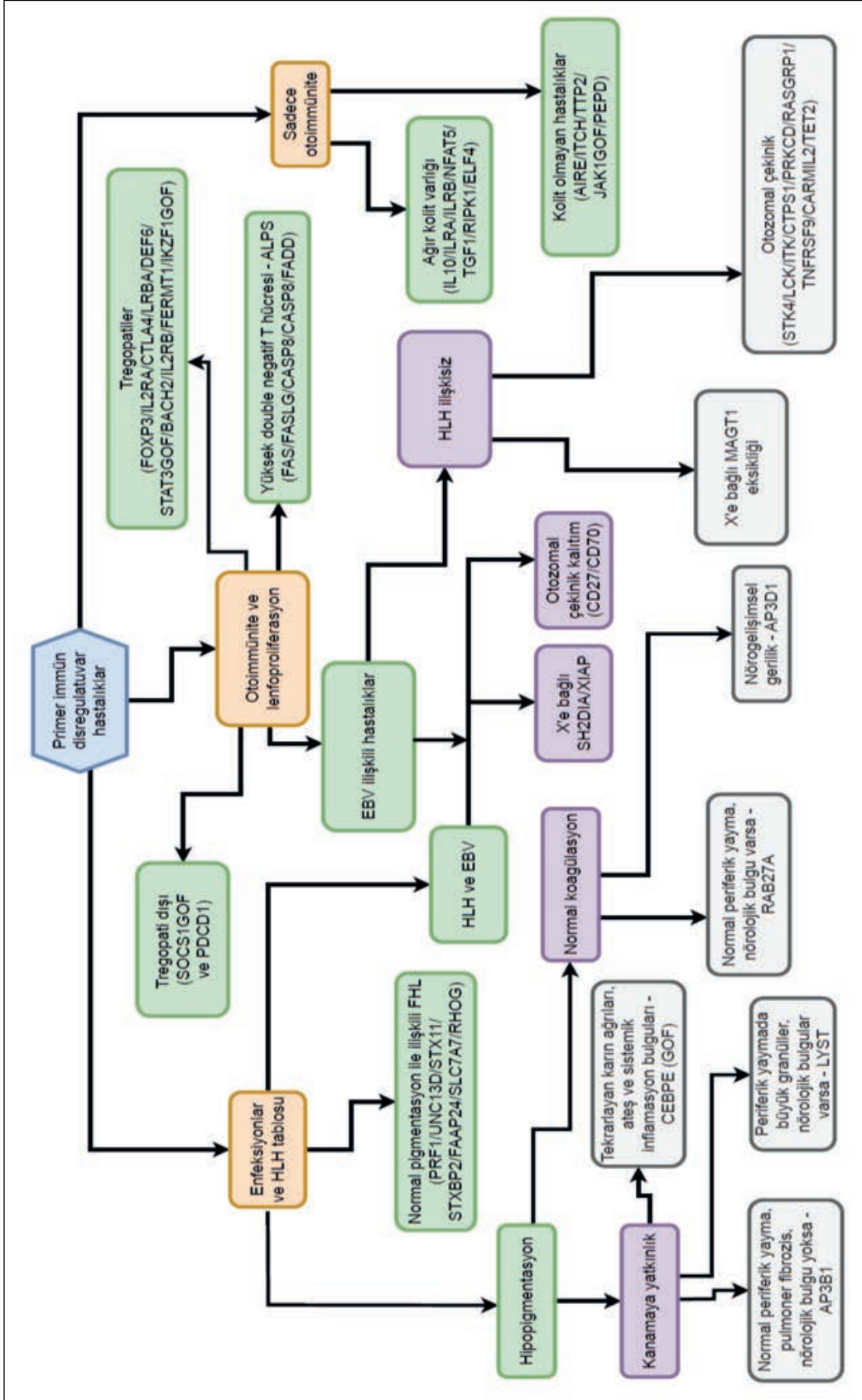
2. PRİMER İMMÜN DİSREGÜLASYON BOZUKLUKLARIN SINIFLAMASI VE KLİNİK BULGULAR

Hastalıklara kompleks immün patogenezi penceresinden bakıldığında, bilinen en eski PIDB olan HLH'nin oluşumunda sitotoksik T lenfositleri ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin aşırı aktivasyonu söz konusudur. Bu kontrolsüz aktivasyon, interferon-gama, interleukin-6 ve tümör nekroz faktör- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin artmış seviyeleri ile karakterizedir. Ardından gelişen enflamatuvar ortam, doku hasarına neden olarak ateş, hepatosplenomegali ve sitopeni gibi klinik tablolara neden olmaktadır (8). Hemofagositik lenfohistositozis'in genetik temeli oldukça karmaşıktır ve genellikle sitotoksikite ile ilişkili Perforin (*PRF1*), Munc13-4 (*UNC13D*) ve Syntaxin 11 (*STX11*)

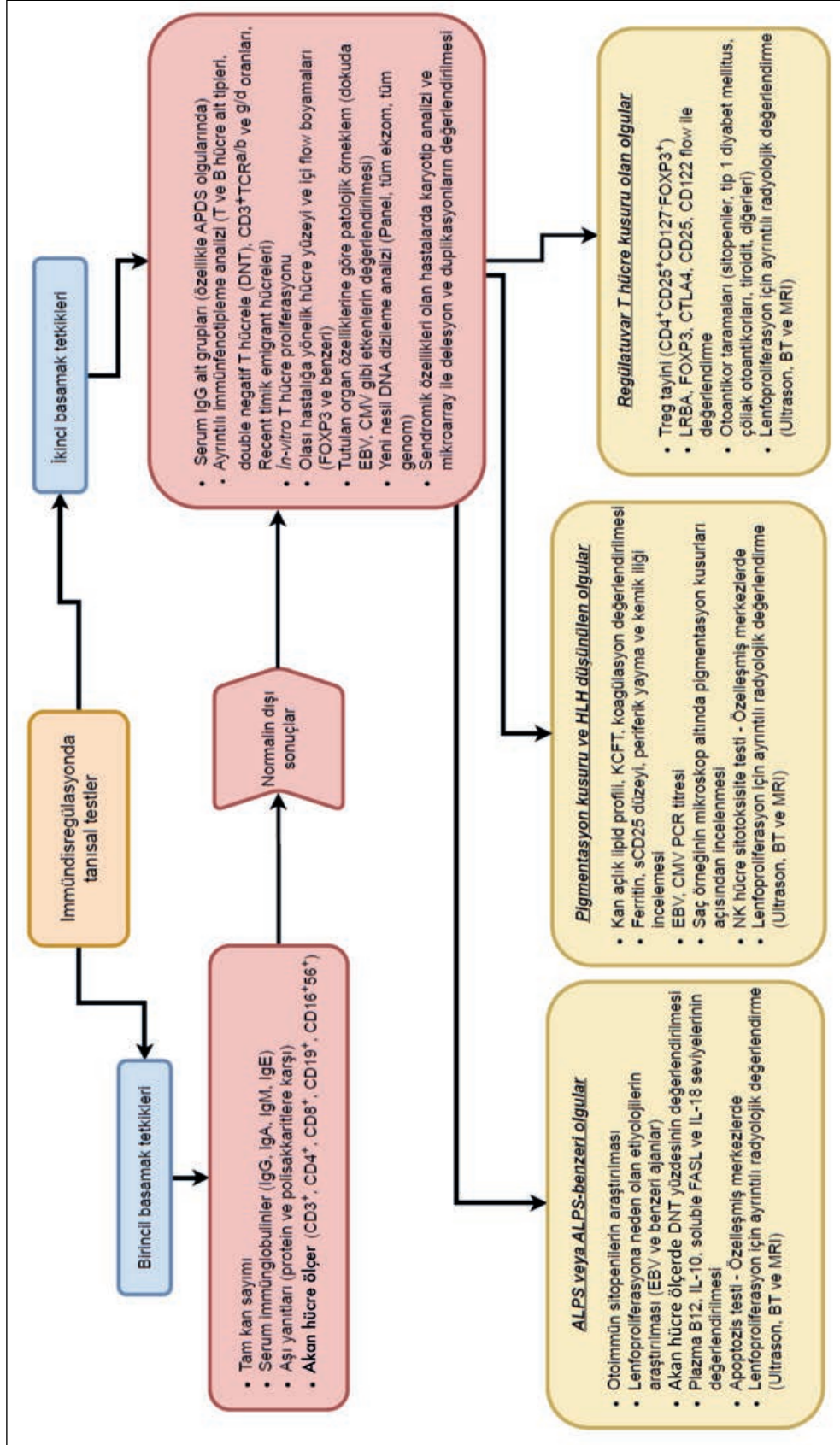
gibi genlerdeki patojenik varyantlara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (9). Hipopigmentasyon ile ilişkilendirilen olgularda, *RAB27A* ve *LYST* gibi genlerdeki ek mutasyonlar lizozomal taşımayı ve hem pigmentasyonu hem de sitotoksik hücre fonksiyonunu etkilemektedir. Son yıllarda sayıları giderek artan tregopatiler de PIDB'lerin önemli bir grubu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hastalıklar bağışıklık toleransını sürdürmede önemli olan Treg hücre bozukluğundan kaynaklanmaktadır. Bozulmuş Treg fonksiyonları otoimmüniteyi başlatan otoreaktif T hücrelerinin baskılanmasını engelleyerek hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olurlar. Yukarıda bahsedildiği gibi, *FOXP3* genindeki fonksiyon kaybı mutasyonları IPEX hastalığına neden olurken, bu gurubun içerisinde CD25, CD122, LRBA, CTLA4, DEF6 ve BATCH2 eksiklikleri gibi hastalıklar da bulunmaktadır (1, 6, 10). Bir diğer PIDB sınıfı olan Epstein-Barr virüsü (EBV) ile ilişkili hastalıklar bağışıklığın zayıf olması durumunda kontrolsüz viral replikasyon ile ortaya çıkmaktadır. Bu durum, hemofagositik sendromlar, disgamaglobulinemi, lenfoma ve ağır enfeksiyöz mononükleoz gibi ciddi komplikasyonlara yol açmaktadır. Özellikle X'e bağlı lenfoproliferatif sendrom (XLP) gibi durumlar olan *SH2D1A* (XLP-1) ve *XIAP* (XLP-2) genlerindeki mutasyonlar bu hastalıkların en yaygın bilinenlerindedir (11, 12). Lenfoproliferasyon ile giden diğer hastalık grubu ALPS sendromu olup, lenfositlerin normalden uzun süreli hayatta kalmasına neden olan bozuk apoptozis ile karakterize bir hastalık grubudur. Bu durum, artmış lenfosit sayısı, otoimmünite ve lenfoid organlarda benign lenfoid hiperplazi ve bazen de lenfoid maligniteler ile karşımıza çıkmaktadır. ALPS sendromu genellikle Fas apoptozis sinyal yoluyla ilişkilidir.



Şekil 1. Primer immün disregülatuvar hastalıkların sınıflaması

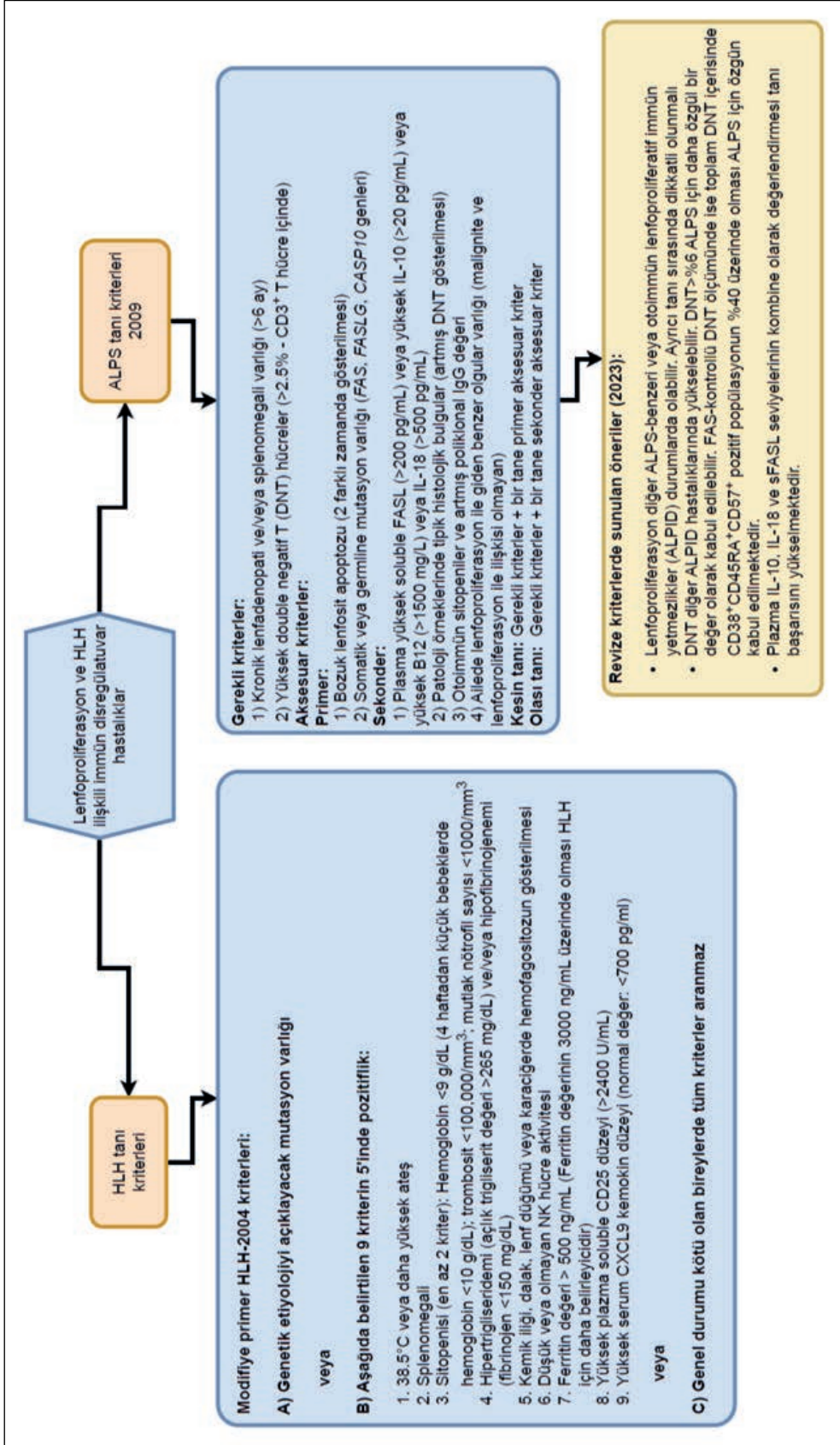


Şekil 2. Primer immün disregulator hastalıkların klinik ve genetik özelliklere göre karakterizasyonu
HLH: Hemofagositik lenfositosis, ALPS: Otoimmün lenfoproliferatif sendrom, EBV: Epstein Barr Virus



Şekil 3. Primer immün disregülatuar hastalıklarda basamaklı tanısal algoritma

APDS: Otoimmün lenfoproliferatif sendrom, EBV: Epstein Barr Virus, DNT: Double negatif, NK: Doğal öldürücü, CMV: Cytomegalo virüs, KCFT: Karaciğer fonksiyon testleri, MRI: Manyetik rezonans görüntüleme, BT: Bilgisayarlı tomografi



Şekil 4. Hemofagositik lenfohistiyoitoz (HLH) ve otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS) hastalıklarının tanı algoritması

HLH: Hemofagositik lenfohistiyoitoz, ALPS: Otoimmün lenfoproliferatif sendrom, NK: Doğal öldürücü, DNT: Çift negatif T

FAS, *FASL*, *FADD*, *CASP8* ve *CASP10* gibi genlerdeki mutasyonlar, lenfositlerin normal apoptozisini engeller ve böylece lenfoid hiperplazi ve otoimmüniteye yol açarlar (13). Son olarak, erken başlangıçlı kolit ile ilişkili PIDB'ler genellikle dirençli enflamatuvar bağırsak hastalığı, sinopulmoner enfeksiyonlar ve nadiren lenfoma gelişimine neden olan bir hastalık grubudur. *IL-10*, *IL-10RA*, *IL-10RB*, *NFAT5*, *TGFB1*, *RIPK1* ve *ELF4* genlerindeki mutasyonlar bu sınıflama içerisinde değerlendirilmektedir (14). Bu hastalıkların ayrıntılı sınıflaması Şekil 2'de sunulmaktadır.

3. PRİMER İMMÜN DİSREGÜLASYON BOZUKLUKLARINDA İSTENİLECEK TESTLER VE TANISAL ALGORİTMALAR

Konunun daha kolay anlaşılması açısından istenecek testler ülkemizdeki var olan laboratuvar şartları göz önünde bulundurularak oluşturulmaya çalışılmıştır. Buna göre istenecek tetkikler birinci ve ikinci basamak olarak sınıflandırılmıştır (2). Ayrıca özellikli bazı hastalıkların tanısı için gerekli olan tanısız basamaklar ve özellikli testler Şekil 3'de sunulmaktadır. Bu grup hastalıklar içerisinde yer alan HLH ve ALPS hastalıklarının erken tanısı için bilinen ve revize tanısız kriterler Şekil 4'de ayrıntılı olarak verilmektedir (13, 15, 16).

KAYNAKLAR

1. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1473-507.
2. Baris S, Abolhassani H, Massaad MJ, Al-Nesf M, Chavoshzadeh Z, Keles S, et al. The Middle East and North Africa diagnosis and management guidelines for inborn errors of immunity. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2023;11(1):158-80.e11.
3. Chan AY, Torgerson TR. Primary immune regulatory disorders: a growing universe of immune dysregulation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2020;20(6):582-90.
4. Powell BR, Buist NR, Stenzel P. An X-linked syndrome of diarrhea, polyendocrinopathy, and fatal infection in infancy. *J Pediatr* 1982;100(5):731-7.
5. Kolukisa B, Baris S. Primary immune regulatory disorders and targeted therapies. *Turk J Haematol* 2021;38(1):1-14.
6. Wobma H, Janssen E. Expanding IPEX: inborn errors of regulatory T cells. *Rheum Dis Clin North Am* 2023;49(4):825-40.
7. Magerus A, Rensing-Ehl A, Rao VK, Teachey D, Rieux-Laucat F, Ehl S. Autoimmune-lymphoproliferative immunodeficiencies (ALPID) A proposed approach to redefining ALPS and other lymphoproliferative immune disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2024;153:67-76.
8. Jordan MB, Allen CE, Greenberg J, Henry M, Hermiston ML, Kumar A, et al. Challenges in the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis: Recommendations from the North American Consortium for Histiocytosis (NACHO). *Pediatr Blood Cancer* 2019;66(11):e27929.
9. Zhang K, Chandrakasan S, Chapman H, Valencia CA, Husami A, Kissell D, et al. Synergistic defects of different molecules in the cytotoxic pathway lead to clinical familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2014;124(8):1331-4.
10. Tsilifis C, Slatter MA, Gennery AR. Too much of a good thing: A review of primary immune regulatory disorders. *Front Immunol* 2023;14:1279201.
11. Arico M, Imashuku S, Clementi R, Hibi S, Teramura T, Danesino C, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis due to germline mutations in SH2D1A, the X-linked lymphoproliferative disease gene. *Blood* 2001;97(4):1131-3.
12. Marsh RA, Madden L, Kitchen BJ, Mody R, McClimon B, Jordan MB, et al. XIAP deficiency: A unique primary immunodeficiency best classified as X-linked familial hemophagocytic lymphohistiocytosis and not as X-linked lymphoproliferative disease. *Blood* 2010;116(7):1079-82.
13. Failing C, Blase JR, Walkovich K. Understanding the spectrum of immune dysregulation manifestations in autoimmune lymphoproliferative syndrome and autoimmune lymphoproliferative syndrome-like disorders. *Rheum Dis Clin North Am* 2023;49(4):841-60.
14. Charbit-Henrion F, Parlato M, Malamut G, Ruemmele F, Cerf-Bensussan N. Intestinal immunoregulation: Lessons from human mendelian diseases. *Mucosal Immunol* 2021;14(5):1017-37.
15. Bergsten E, Horne A, Arico M, Astigarraga I, Egeler RM, Filipovich AH, et al. Confirmed efficacy of etoposide and dexamethasone in HLH treatment: Long-term results of the cooperative HLH-2004 study. *Blood* 2017;130(25):2728-38.
16. Locatelli F, Jordan MB, Allen C, Cesaro S, Rizzari C, Rao A, et al. Emapalumab in children with primary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *N Engl J Med* 2020;382(19):1811-22.

Otoenflamatuvar Hastalıklar

Prof. Dr. Hasibe ARTAÇ

Doç. Dr. İlknur KÜLHAŞ ÇELİK

1. GİRİŞ

Otoenflamatuvar terimi, otoimmün hastalıklarda karakteristik olarak bulunan otoantikörlerin veya otoreaktif T hücrelerin bulunmadığı ve enfeksiyon gibi bir tetikleyicinin olmadığı enflamasyon atakları ile karakterize bir grup hastalığı tanımlamak için kullanılmaktadır. Proenflamatuvar sitokinlerin üretiminin bozulmasından kaynaklanan otoenflamatuvar hastalıklarda immün sistem tepkisinin gecikmeli olarak sonlanması, tekrarlayan ateş ataklarına ve bazı durumlarda belirli organlarla sınırlı enflamasyona neden olmaktadır (1).

Bilinen ilk sistemik otoenflamatuvar hastalık olan ailevi akdeniz ateşi (FMF), ilk kez 1945'te tanımlanmış ve otoenflamatuvar terimi, edinsel immün sistemden bağımsız olarak doğal immün sistem tepkisinin düzensizliği ile karakterize edilen enflamatuvar hastalık ailesini ayırt etmek için 1999'da kullanılmaya başlanmıştır (2, 3). Primer immün yetersizlikler, Uluslararası İmmünoloji Dernekler Birliği (IUIS- International Union of Immunological Societies) tarafından 2022 yılında yapılan güncellemedeki fenotipik sınıflandırmaya göre 10 alt gruba ayrılmış olup bu gruplardan biri de 'Otoenflamatuvar Bozukluklar' dır. Bu sınıflamaya göre otoenflamatuvar bozukluklar kendi içinde üç alt gruba ayrılmıştır (4). Bu gruplardaki hastalıklar, kalıtım şekilleri ve ilişkili genler Tablo 1'de verilmiştir. Bu gruplar aşağıdaki gibi sınıflanmıştır:

1. Tip 1 İnterferonopatiler: İnterferon yolağı aracılığıyla kontrolsüz sinyalleşmeye yol açan hastalıklardan oluşan bir gruptur. Sistemik enflamasyon, inflamazomopatilerle karşılaştırıldığında genellikle daha hafiftir.

2. İnterferon Etkileyen Bozukluklar: Bu bozukluklar, inflamazomların aşırı ve uygunsuz aktivasyonundan kaynaklanmakta olup en çok etkilenen inflamazomlar sırasıyla: pirin, NLR ailesi pirin alanı içeren 3 (NLRP3), NLRC4 ve NLRP1'dir. Ailevi akdeniz ateşi ve kriyopirinopatiler bu gruba girmektedir. Kaspaz-1 aktivitesinin artması sonucu interlökinler (IL)-1, 6 ve 18 aşırı üretimi mevcuttur.

3. İnterferon ile İlişkisiz Durumlar: Bu hastalıklarda gelişen enflamasyon ataklarının gelişiminde çeşitli mekanizmalar rol oynamakta olup, protein katlanma bozuklukları [Tümör nekroz faktör reseptörü ile ilişkili periyodik sendrom (TRAPS)], nükleer faktör kappa b (NF-κB) aktivasyon bozuklukları (Blau sendromu) bu gruba girmektedir.

2. KLİNİK BULGULAR

Son 20 yıldaki gelişmelerle birlikte genetik analizlerle birçok yeni otoenflamatuvar hastalık keşfedilmiştir. Bu hastalıkların bazılarında tekrarlayan ateş, bazılarında ise cilt semptomları daha baskın olup, immün sistem ve birçok organ etkilenebilmektedir (5, 6). IUIS sınıflamasında yer alan otoenflamatuvar bozuklukların klinik bulguları Tablo 2'de özetlenmiştir (4).

Bu bozuklukların klinik bulguları spesifik olmadığından, enfeksiyon hastalıkları veya malign hastalıklar ile karışabilmektedirler. Sistemik otoenflamatuvar hastalıkların klinik yansıması aşağıdaki 3 durumda özetlenmiştir (6):

1. Bu grup sistemik otoenflamatuvar hastalıklar, ani ateş yükselmesiyle ortaya çıkan tekrarlayan sistemik enflamasyon alevlenmeleri, akut faz reaktanlarında dramatik yükselme, döküntü, serozit (peritonit, plörit, perikardit ve artrit) ve lenfadenopati gibi çeşitli klinik be-

lirtilerle karakterizedir. Genellikle, bu alevlenmelerin arasında değişken süreli semptomsuz aralıklar vardır. Ataklar; stres, uykusuzluk, aşılama ve viral hastalıklar gibi antijenik uyarım ile tetiklenebilmektedirler.

2. Bazı sistemik otoenflamatuvar hastalıklarda ise, temel özellik olarak sistemik enflamasyon daha kronik bir seyir göstermektedir. Bu vakalarda psödo-ürtikeryal döküntü ve granülomatöz dermatit gibi dermatolojik bulgular tanıya yönelik ipuçları sağlayabilmektedir.

Deriyi, eklemleri ve kemikleri etkileyen kronik steril piyojenik apselerin varlığı da oldukça anlamlıdır.

3. Daha yakın zamanda keşfedilen bir grup hastalık ise, sistemik enflamasyonun değişken derecelerde immün yetersizlik ile ilişkili olduğu, otoenflamasyon ve immün yetersizlik arasında yer almaktadır. Klinik görünümleri tipik olmasa da aile öyküsü sıklıkla pozitif ve semptomlar standart tedavilere yetersiz yanıt verme eğilimindedir.

Tablo 1. Otoenflamatuvar hastalıklar, kalıtım şekilleri ve ilişkili genler

Tip 1 İnterferonopatiler		
Hastalık	Kalıtım Şekli	İlişkili Gen
OD STING-ilişkili vaskülopati, infantil başlangıçlı (SAVI)	OD	TMEM173 (STING)
OR STING-ilişkili vaskülopati, infantil başlangıçlı (SAVI)	OR GOF	TMEM173 (STING)
ADA2 eksikliği	OR	ADA2
TREX1 eksikliği, Aicardi-Goutières sendromu 1 (AGS1)	OR/OD	TREX1
RNASEH2B eksikliği, AGS2	OR	RNASEH2B
RNASEH2C eksikliği, AGS3	OR	RNASEH2C
RNASEH2A eksikliği, AGS4	OR	RNASEH2A
SAMHD1 eksikliği, AGS5	OR	SAMHD1
ADAR1 eksikliği, AGS6	OR	ADAR1
Aicardi-Goutières sendromu 7 (AGS7)	OD/GOF	IFIH1
DNase II eksikliği	OR	DNASE2
LSM11 eksikliği	OR	LSM11
RNU7-1 eksikliği	OR	RNU7-1
DNASE1L3 eksikliğine bağlı pediatrik sistemik lupus eritematozus	OR	DNASE1L3
İmmün disregülasyonlu spondiloenkondrodizplazi (SPENCD)	OR	ACP5
X'e bağlı retikulat pigmenter bozukluk	X'e bağlı	POLA1
USP18 eksikliği	OR	USP18
OAS1 eksikliği	OD/GOF	OAS1
CDC42 eksikliği	OD	CDC42
STAT2 R148 LOF/regülasyon	OR	STAT2
ATAD3A eksikliği	OD/OR	ATAD3A
İnflamazomu Etkileyen Hastalıklar		
Ailevi Akdeniz Ateşi	OR LOF, OD	MEFV
Mevalonat kinaz eksikliği (Hiper IgD sendromu)	OR	MVK
Muckle-Wells sendromu	OD GOF	NLRP3
Ailesel soğuk otoenflamatuvar sendrom 1 (FCAS)	OD GOF	NLRP3
Neonatal başlangıçlı multisistemik enflamatuvar hastalık (NOMID) veya kronik infantil nörolojik kütanöz artiküler sendrom (CINCA)	OD GOF	NLRP3
Ailesel soğuk otoenflamatuvar sendrom 2 (FCAS)	OD GOF	NLRP12
NLRC4-MAS (makrofaj aktivasyon sendromu)	OD GOF	NLRC4
Ailesel soğuk otoenflamatuvar sendrom 4 (FCAS)	OD GOF	NLRC4

Tablo 1 devam

PLAID (PLC2 ilişkili antikor eksikliği ve immün disregülasyon)	OD GOF	PLCG2
Ailesel soğuk otoenflamatuvar sendrom 3 veya APLAID (c2120A>C)	OD GOF	PLCG2
NLRP1 eksikliği	OR	NLRP1
NLRP1 GOF	OD GOF	NLRP1
RIPK1 eksikliği	OD	RIPK1
İnflamazom ilişkisiz Durumlar		
Tümör nekroz faktör reseptörü ile ilişkili periyodik sendrom (TRAPS)	OD	TNFRSF1A
Piyojenik steril artrit, piyoderma gangrenozum, akne (PAPA) sendromu, hiperçinkonemi ve hiperkalprotektinemi	OD	PSTPIP1
Blau sendromu	OD	NOD2
ADAM17 eksikliği	OR	ADAM17
Kronik rekürren multifokal osteomyelit ve konjenital diseritropoietik anemi (Majeed sendromu)	OR	LPIN2
DIRA (İnterlökin 1 reseptörü antagonistinin eksikliği)	OR	IL1RN
DITRA (IL-36 reseptör antagonistinin eksikliği)	OR	IL36RN
SLC29A3 mutasyonu	OR	SLC29A3
CAMPS (CARD14 aracılı psöriazis)	OD	CARD14
Cherubizm	OD	SH3BP2
CANDLE (lipodistrofilinin eşlik ettiği kronik atipik nötrofilik dermatit)	OR/OD, OR	PSMB8, PSMG2
COPA defekti	OD	COPA
Otulipeni/ORAS	OR	OTULIN
A20 eksikliği	OD	TNFAIP3
AP1S3 eksikliği	OR	AP1S3
ALPI eksikliği	OR	ALPI
TRIM 22	OR	TRIM22
Subkutan pannikülit benzeri T hücreli lenfoma (TIM3 eksikliği)	OR	HAVCR2
C2orf69 eksikliği (28 hasta)	OR	C2orf69
NCKAP1L eksikliği	OR	NCKAP1L
SYK GOF	OD GOF	SYK
HCK GOF	OD GOF	HCK
PSMB9 GOF	OD GOF	PSMB9
IKBKG (NEMO exon 5 delesyonu)	X'e bağlı	IKBKG
TBK1 eksikliği (4 hasta)	OR	TBK1

***OD:** Otozomal dominant, **OR:** Otozomal resesif, **GOF:** Gain of function (fonksiyon kazandıran), **LOF:** Loss of function (fonksiyon kaybettiren)

Tablo 2. Otoenflamatuvar hastalıklarda görülen klinik belirtiler

Tip 1 İnterferonopatiler	
Hastalık	Klinik Belirtiler
OD STING-ilişkili vaskülopati, infantil başlangıçlı (SAVI)	Deri vaskülopatisi, enflamatuvar akciğer hastalığı, sistemik otoenflamasyon ve intrakraniyal kalsifikasyon, ailesel chilblain lupus
OR STING-ilişkili vaskülopati, infantil başlangıçlı (SAVI)	Gelişme geriliği, erken başlangıçlı döküntü, ateş, dispne, interstisyel akciğer hastalığı/pnömoni, poliartrit, otoantikorlar, enflamatuvar belirteçlerde artış, IFN gen imzası OD GOF TMEM173 nedeniyle SAVI'nin fenokopisi

Tablo 2 devam

ADA2 eksikliği	Poliarteritis nodosa, çocuklukta başlayan, erken başlangıçlı, tekrarlayan iskemik inme ve ateş; bazı hastalarda hipogamaglobulinemi gelişir
TREX1 eksikliği, Aicardi-Goutières sendromu 1 (AGS1)	Klasik AGS, SLE, ailesel chilblain lupus
RNASEH2B eksikliği, AGS2	Klasik AGS, spastik paraparezi
RNASEH2C eksikliği, AGS3	Klasik AGS
RNASEH2A eksikliği, AGS4	Klasik AGS
SAMHD1 eksikliği, AGS5	Klasik AGS, ailesel chilblain lupus
ADAR1 eksikliği, AGS6	Klasik AGS, spastik paraparezi, bilateral striatal nekroz
Aicardi-Goutières sendromu 7 (AGS7)	Klasik AGS, SLE, spastik paraparezi, Singleton-Merten Sendromu
DNase II eksikliği	AGS
LSM11 eksikliği	AGS, Tip1 interferonopati
RNU7-1 eksikliği	AGS, Tip1 interferonopati
DNASE1L3 eksikliğine bağlı pediatrik sistemik lupus eritematozus	Çok erken başlangıçlı SLE, kompleman seviyelerinde düşüklük, otoantikolar (dsDNA, ANCA), lupus nefriti, hipokomplementemik ürtikeryal vaskülit sendromu
İmmün disregülasyonlu spondiloenkondrodizplazi (SPENCD)	Boy kısalığı, spastik paraparezi, intrakraniyal kalsifikasyon, SLE, trombositopeni ve otoimmün hemolitik anemi, tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar
X'e bağlı retikulat pigmenter bozukluk	Hiperpigmentasyon, karakteristik yüz, akciğer ve gastrointestinal tutulum
USP18 eksikliği	TORCH benzeri sendrom
OAS1 eksikliği	Pulmoner alveolar proteinozis, cilt döküntüsü
CDC42 eksikliği	Yenidoğan döneminde başlangıç: pansitopeni, ateş, döküntü, hepatosplenom egali, multisistemik inflamasyon, miyelofibrozis/proliferasyon, hemofagositik lenfositosis, enterokolit; tekrarlayan gastrointestinal /üriner sistem enfeksiyonları; nörogelişimsel gecikme, büyüme geriliği
STAT2 R148 LOF/regülasyon	Ağır fatal erken başlangıçlı otoinflamasyon, serum IFN- α , IL6, TNF düzeylerinde artış, USP18 eksikliğinin fenokopisi
ATAD3A eksikliği	Ağırıklı olarak nörolojik bozukluklar (gelişme geriliği, spastisite)
İnflazomu Etkileyen Hastalıklar	
Ailevi Akdeniz Ateşi	Tez tekrarlayan ateş, serozit ve kolşisine yanıt veren inflamasyon. Vaskülit ve enflamatuvar bağırsak hastalığına yatkınlık
Mevalonat kinaz eksikliği (Hiper IgD sendromu)	Yüksek IgD seviyeleri ile beraber periyodik ateş ve lökositoz
Muckle-Wells sendromu	Ürtiker, sensorinöral işitme kaybı, amiloidoz
Ailesel soğuk otoenflamatuvar sendrom 1 (FCAS)	Soğuca maruz kalma sonrası kaşıntısız ürtiker, artrit, titreme, ateş ve lökositoz
Neonatal başlangıçlı multisistemik enflamatuvar hastalık (NOMID) veya kronik infantil nörolojik kütanöz artiküler sendrom (CINCA)	Yenidoğan dönemi başlangıçlı döküntü, kronik menenjit ve ateş ve enflamasyonla birlikte artropati
Ailesel soğuk otoenflamatuvar sendrom 2 (FCAS)	Soğuca maruz kalma sonrası kaşıntısız ürtiker, artrit, titreme, ateş ve lökositoz
NLR4-MAS (makrofaj aktivasyon sendromu)	Ağır enterokolit ve makrofaj aktivasyon sendromu
Ailesel soğuk otoenflamatuvar sendrom 4 (FCAS)	Ağır enterokolit ve makrofaj aktivasyon sendromu
PLAID (PLC2 ilişkili antikor eksikliği ve immün disregülasyon)	Soğuk ürtikeri, hipogamaglobulinemi, bozulmuş humoral immünite, otoenflamasyon
Ailesel soğuk otoenflamatuvar sendrom 3 veya APLAID (c2120A>C)	Soğuk ürtikeri, hipogamaglobulinemi, bozulmuş humoral immünite, otoenflamasyon
NLRP1 eksikliği	Diskeratoz, otoimmünite ve artrit
NLRP1 GOF	Palmpoplantar karsinom, kornea skarlaşması; tekrarlayan solunum yolu papillomatosisi
RIPK1 eksikliği	Otoenflamatuvar bozukluk: düzenli/uzun süreli ateş, lenfadenopati, spleno/hepatomegali, ülserler, artralji, gastrointestinal bulgular

Tablo 2 devam

İnflamazom İlişkiz Durumlar	
Tümör nekroz faktör reseptörü ile ilişkili periyodik sendrom (TRAPS)	Tekrarlayan ateş, serozit, döküntü, göz veya eklem enflamasyonu
Piyojenik steril artrit, piyoderma gangrenozum, akne (PAPA) sendromu, hiperçinkonemi ve hiperkalprotektinemi	Destruktif artrit, enflamatuvar cilt döküntüsü, miyozit
Blau sendromu	Üveit, granümatöz sinovit, kamptodaktili, döküntü ve kranial nöropatiler, %30'unda Crohn koliti gelişir
ADAM17 eksikliği	Erken başlangıçlı ishal ve cilt lezyonları
Kronik rekürren multifokal osteomyelit ve konjenital diseritropoietik anemi (Majeed sendromu)	Kronik tekrarlayan multifokal osteomyelit, transfüzyon bağımlı anemi, kutanöz inflamatuvar bozukluklar
DIRA (İnterlökin 1 reseptörü antagonistinin eksikliği)	Yenidoğan döneminde başlayan steril multifokal osteomyelit, periostit ve püstülozis
DITRA (IL-36 reseptör antagonistinin eksikliği)	Püstüler psöriazis
SLC29A3 mutasyonu	Hiperpigmentasyon hipertrikoz, histiyositoz-lenfadenopati plus sendromu
CAMPS (CARD14 aracılı psöriazis)	Psöriazis
Cherubizm	Çene kemiğinde dejenerasyon
CANDLE (lipodistrofilinin eşlik ettiği kronik atipik nötrofilik dermatit)	Kontraktürler, pannikülit, intrakranial kalsifikasyon, ateş, pannikülit, lipodistrofi, otoimmün hemolitik anemi
COPA defekti	Th17 disregülasyonu ve otoantikör üretimi ile birlikte olan otoimmün enflamatuvar artrit ve interstisyel akciğer hastalığı
Otulipeni/ORAS	Ateş, ishal, dermatit
A20 eksikliği	Artralji, mukozal ülserler, oküler enflamasyon
AP1S3 eksikliği	Püstüler psöriazis
ALPI eksikliği	Enflamatuvar bağırsak hastalığı
TRIM22	Enflamatuvar bağırsak hastalığı
T-cell lymphoma subcutaneous panniculitis-like (TIM3 eksikliği)	Pannikülit, hemofagositik lenfhistiyositoz, poliklonal kutanöz T hücre infiltrasyonu veya T hücreli lenfoma
C2orf69 eksikliği	Erken başlangıçlı şiddetli otoenflamasyon bozukluğu, sıklıkla ölümcül. Tekrarlayan nöbetlerle birlikte global gelişme geriliği, kas güçsüzlüğü, karaciğer fonksiyon bozukluğu,
NCKAP1L eksikliği	Tekrarlayan ÜSYE, deri döküntüleri/apseler/atopi, ülserler, lenfoproliferasyon/lenfadenopati, hiperenflamasyon, anti dsDNA antikörleri, ateş, gelişme geriliği
SYK GOF	Tekrarlayan enfeksiyonlar, çoklu organ enflamasyonu/enflamatuvar hastalık (bağırsak, deri, santral sinir sistemi, akciğer, karaciğer), B hücreli lenfoma
HCK GOF	Kutanöz vaskülit, akciğerlerin (pulmoner fibroz) ve cildin enflamatuvar lökosit infiltrasyonu, anemi, hepatosplenomegali
PSMB9 GOF	Şiddetli otoenflamatuvar fenotip (yenidoğan başlangıçlı ateş, cilt döküntüsü, miyozit, şiddetli pulmoner hipertansiyon, bazal gangliyon kalsifikasyonu), periyodik enflamatuvar alevlenme; immün yetersizlik. PRAAS'ın kısmi fenokopisi
IKBKG (NEMO exon 5 delesyonu)	Ateş, cilt döküntüsü, sistemik otoenflamasyon, enfeksiyonlar, santral sinir sistemi tutulumu pannikülit, üveit, hepatosplenomegali, ektodermal displazi
TBK1 eksikliği	Kronik sistemik otoenflamasyon (poliartrit, vaskülit, döküntü); nörobilişsel gelişim geriliği

OR: Otozomal rezesif, **OD:** Otozomal dominant, **GOF:** Gain of function (fonksiyon kazandıran), **LOF:** Loss of function (fonksiyon kaybettiren), **NLRP:** NLR ailesi pirin alanı içeren

3. NE ZAMAN ŞÜPHELENMELİYİZ?

Otoenflamatuvar hastalıkların klinik ve laboratuvar bulguları birçok hastalık ile karışabilmektedir. Hastalar değerlendirilirken ilk olarak maligniteler, enfeksiyonlar, otoimmünite, immün yetersizlik ve immün disregülasyonun dışlanması gerekmektedir. Sistemik otoenflamatuvar hastalıklardan şüphelenilen hastanın değerlendirme algoritması Şekil 1’de verilmiştir (7). Tekrarlayan enflamasyon atakları olan hastaların bazı klinik özellikleri otoenflamatuvar hastalıklar açısından klinisyenleri uyarmalıdır. Özellikle yaşamın erken dönemlerinde başlayan enflamasyon atakları olan hastalarda otoenflamatuvar hastalıklardan şüphelenilmelidir. Otoenflamatuvar hastalıklarda görülebilecek tekrarlayan cilt bulguları (vaskülit, ürtiker), çoklu organ (gastrointestinal sistem, akciğer, eklemler) tutulumu ve enflamasyon atakları olan hastalarda otoenflamatuvar hastalıklar düşünülmelidir. Bu ataklar esnasında tüm hastalarda görülmesi de çoğunlukla ateş ve artmış akut faz yanıtı (c-reaktif protein (CRP) ve eritrosit sedimentasyon hızında artış) olmaktadır. Bazı klinik belirtiler de belirli otoenflamatuvar hastalıkları düşündürtebilmektedir. Örneğin, Orta Doğu kökenli bir hastada 48 saatten kısa süren tekrarlayan ateş ve karın ağrısı atakları ailevi akdeniz ateşini düşündürürken, akrall vaskülitik döküntü ve bazal gangliyon kalsifikasyonları interferonopatiji, livedo ile birlikte olan çocukluk çağında başlayan inme adenin deaminaz 2 eksikliğini (DADA2) akla getirmektedir. Hastadan anamnez alınırken hastanın soy geçmişi; akrabalık, ailedeki ölümler, ailede malign, immünolojik, otoimmün ve romatolojik

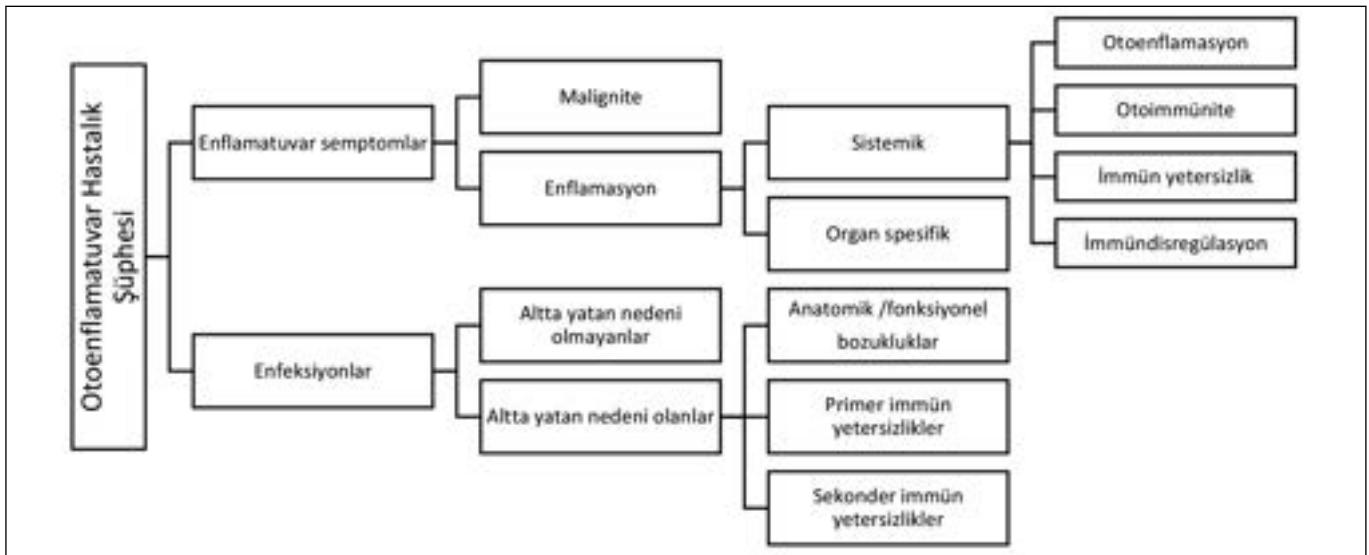
hastalık öyküsü açısından detaylı sorgulanarak aile ağacı çizilmelidir. Ailede benzer hastalık öyküsü olması otoenflamatuvar hastalıklar için uyarıcı olmalıdır (8).

4. HANGİ TESTLERİ İSTEMELİYİZ?

Otoenflamatuvar hastalık şüphesi olan hastalardan atak ve atak dışı zamanda enflamasyona yönelik laboratuvar tetkikleri (tam kan sayımı, CRP, eritrosit sedimentasyon hızı) istenmelidir. Genel olarak interferonopatiler dışında diğer otoenflamatuvar hastalıklarda atak anında yüksek olan CRP düzeyi atak dışı zamanlarda normaldir. Uzamış ve tekrarlayan ateşi olan ve özellikle enflamatuvar belirteçleri alevlenmelerle tutarlı olmayan hastalarda diğer olası nedenleri (enfeksiyonlar ve malignite) dışlamak için gerekirse kültürler, serolojik testler ve görüntüleme istenebilir. Otoimmünite için otoantikolar değerlendirilebilir. Diğer primer immün yetersizliklerden şüpheleniliyorsa (antikor eksikleri, kombine immün yetersizlik veya immüdisregülasyon gibi) immünooglobulin düzeyleri, aşılara antikör yanıtları, periferik kan lenfosit alt grupları ve fonksiyonları içeren immünolojik değerlendirme yapılmalıdır (7).

Klinik testler bazı durumlarda tanı koydurabilir. Bunlar arasında; serum IL-6 ve IL-18 düzeyleri, serum IgD ve IgA, mevalonat kinaz eksikliğindeki idrar organik asitleri ve ADA2 aktivitesi yer almaktadır (8).

Otoenflamatuvar hastalığı olan hastalarda, klinik fenotip altında moleküler bir kusurun bulunup bulunmadığını belirlemek; hastalara doğru tanı konulmasını sağlayarak



Şekil 1. Otoenflamatuvar hastalık şüphesi olan hastada değerlendirme algoritması

tedaviyi belirlemekte ve ciddi inflamasyon ataklarının neden olduğu sekellerin önlenmesine yardımcı olabilmektedir. Bu yüzden otoenflamatuvar hastalıklarda düşünülen hastalarda doğru tanının konması için genetik testler önerilmektedir. Otoenflamatuvar hastalıklarda genetik çalışmaların seçimine ve yorumlanmasına rehberlik etmek amacıyla, Uluslararası Sistemik Otoenflamatuvar Hastalıklar Derneği (ISSAID) ve Avrupa Moleküler Genetik Kalite Ağı tarafından önerilen genetik test endikasyonları Tablo 3'te verilmiştir (9). Genetik çalışmaların seçimi ve doğru yorumlanması için mevcut test yöntemlerinin seçimi önemlidir. Belirli bir otoenflamatuvar hastalıkta karşı güçlü klinik şüphe olan hastalarda tek veya hedefli gen dizilimi kullanılabilir. Bu hastalar da ucuz ve hızlı bir yöntem Sanger dizilimi istenebilir. Sanger dizilemenin dezavantajları; somatik mozaikliği, kopya sayısı varyasyonları (CNV) ve yapısal değişkenleri tespit etme potansiyelinin zayıf olmasıdır. Hastada klinik olarak belirli bir otoenflamatuvar hastalıktan şüphelenilmemesi ve tek veya hedefli gen diziliminden sonra teşhis konulamaması durumunda; yeni

nesil dizileme (NGS) ile gen panelleri, tüm ekzom dizileme (WES) veya tüm genom dizileme (WGS) kullanılarak daha geniş bir gen ağı incelenebilir. Panel dizilimi, tanının doğrulanmasında Sanger'den daha iyi bir verime sahiptir (10). Tüm ekzom dizileme, alternatif tanılarının (otoimmünite veya immün yetersizlik) saptanmasında veya yeni otoenflamatuvar hastalık genlerinin araştırılmasında en uygun yöntemdir. Ancak genomun intronik bölgelerindeki varyantları tespit etmesi sınırlıdır. Bu yüzden, tüm ekzom diziliminin kapsamadığı bozukluklardan şüphelenildiğinde veya diğer yöntemler kullanıldıktan sonra tanı konulmamış hastalarda tüm genom dizileme yapılmalıdır (11). Tüm genom dizileme kopya sayısı varyasyonlarını daha iyi tespit etmesinin yanı sıra intronik değişiklikleri de tespit edebilmektedir. Ancak maliyeti yüksek, erişilebilirliği zor, depolama kapasitesi gereksinimi fazla ve işlem süresi uzun olduğu için yaygın kullanılmamaktadır (11). Genetik dizileme yöntemlerinin karşılaştırılması Tablo 4'te verilmiştir (6).

Tablo 3. Sistemik otoenflamatuvar hastalıklarda genetik testler için endikasyonlar

Bireysel Genetik Test için Endikasyonlar	
• Bilinen bir monogenik otoenflamatuvar hastalık için klinik kriterleri karşılayan hastalar	
• Kısmi klinik prezantasyonu olan ancak ailesinde monogenik otoenflamatuvar hastalık öyküsü olan hastalar	
• Geri dönüşümsüz hasara neden olan otoenflamatuvar hastalıklara (ciddi NLRP3 ile ilişkili otoenflamatuvar hastalık ve DADA2 gibi) yönelik şüphe olan hastalar	
• Spesifik bozukluklara yönelik klinik kriterlerin karşılanmaması ancak otoenflamatuvar hastalıklardan şüphelenilmesi durumunda genişletilmiş bir panel yapıp eğer bu test doğrulayıcı değilse WES veya WGS istenebilir	
• Erken tanı bebeğin prognozunu değiştirmekle birlikte, kuvvetli aile öyküsü veya hastalık şüphesi olmadığı sürece prenatal veya yeni doğan döneminde testler endike değildir	
Asemptomatik Akrabaların Test Edilmesi için Endikasyonlar	
• NLRP3 ile ilişkili otoenflamatuvar hastalıkta santral sinir sistemi tutulumu veya DADA2'de inme gibi yüksek riskli hastalıkların öngörülebilirliğini belirlemek için bilinen kalıtsal periyodik ateş sendromuna sahip etkilenen bir kişinin birinci derece akrabaları	
• Hastada saptanan varyantın ailesel mi yoksa de novo mı olduğunu doğrulamak için hastanın ebeveynlerinden test istenebilir	

OH: Otoenflamatuvar hastalık, **NLRP3:** NLR ailesi pirin alanı içeren 3, **DADA2:** Adenin deaminaz 2 eksikliği, **WES:** Tüm ekzom dizileme, **WGS:** Tüm genom dizileme

Tablo 4. Otoenflamatuvar hastalıkların tanısında kullanılan genetik dizileme yöntemlerinin karşılaştırılması

	Sanger	NGS Panel	NGS WES	NGS WGS
Analiz edilen gen sayısı	-	++	+++	+++
Zaman gereksinimi	+++	+	-	-
Mozaizm tespiti*	-	+++	+/-	+/-
Kopya sayısı varyasyonları tespiti*	0/-	++	+/-	+++
Yapısal varyant tespiti	0/-	-	+/-	+++
Biyoinformatik gereksinimi	0	+	++	+++
Maliyet	+/-	+	++	+++

NGS: Yeni nesil dizileme, **WES:** Tüm ekzom dizileme, **WGS:** Tüm genom dizileme. * Değerlendirme, okuma derinliğine bağlı değişebilir

KAYNAKLAR

1. Rigante, D. The fresco of autoinflammatory diseases from the pediatric perspective. *Autoimmun Rev* 2012;11:348-56.
2. Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis. *Ann Intern Med* 1945;23:1-21.
3. Ben-Chetrit E, Gattorno M, Gul A, Kastner DL, Lachmann HJ, Touitou I, et al. Consensus proposal for taxonomy and definition of the autoinflammatory diseases (AIDs): a Delphi study. *Ann Rheum Dis* 2018;77(11):1558-65.
4. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the international union of immunological societies expert committee. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1473-507.
5. Georjin-Lavialle S, Fayand A, Rodrigues F, Bachmeyer C, Savey L, Grateau G. Autoinflammatory diseases: State of the art. *Presse Med* 2019;48(1):e25-e48.
6. Georjin-Lavialle S, Ducharme-Benard S, Sarrabay G, Savey L, Grateau G, Hentgen V. Systemic autoinflammatory diseases: Clinical state of the art. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2020;34(4):101529.
7. Gutierrez MJ, Lapidus SK. Systemic autoinflammatory diseases: A growing family of disorders of overlapping immune dysfunction. *Rheum Dis Clin North Am* 2022;48:371-39.
8. Nigrovic PA, Lee PY, Hoffman HM. Monogenic autoinflammatory disorders: Conceptual overview, phenotype, and clinical approach. *J Allergy Clin Immunol* 2020;146(5):925-37.
9. Shinar Y, Ceccherini I, Rowczenio D, Aksentijevich I, Arostegui J, Ben-Chetrit E, et al. ISSAID/EMQN best practice guidelines for the genetic diagnosis of monogenic autoinflammatory diseases in the next-generation sequencing era. *Clin Chem* 2020;66(4):525-36.
10. Boursier G, Rittore C, Georjin-Lavialle S, Belot A, Galeotti C, Hachulla E, et al. Positive impact of expert reference center validation on performance of next-generation sequencing for genetic diagnosis of autoinflammatory diseases. *J Clin Med* 2019;8(10):1729.
11. Chinn IK, Chan AY, Chen K, Chou J, Dorsey MJ, Hajjar J, et al. Diagnostic interpretation of genetic studies in patients with primary immunodeficiency diseases: a working group report of the Primary Immunodeficiency Diseases Committee of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2020;145(1):46-69.

Kemik iliği Nakilli Hasta Takibi

Doç. Dr. Z. Şule HASKOLOĞLU
Prof. Dr. Figen DOĞU

1. GİRİŞ

Allojenik hematopoetik kök hücre nakli (HKHN), malign ve malign olmayan (immün sistemin doğumsal hataları, metabolik hastalıklar) birçok hastalık için kür sağlayan bir tedavidir. İnsan lökosit antijen (HLA) doku tiplendirmesinin daha iyi yapılabilmesi, yeni donör seçeneklerine ulaşma imkânı (akraba dışı, kordon kanı ve haploidentik donörler), T hücreleri azaltılmış greft hazırlama prosedürlerindeki gelişmeler, yoğunluğu azaltılmış hazırlama rejimleri ve graft versus host hastalığı (GVHD) profilaksi rejimlerinin geliştirilmesi, sağlık hizmeti teknolojilerindeki gelişmeler ve primer immün yetersizlik (PİY) hastalıklarının doğal seyirlerinin de daha iyi anlaşılması HKHN sonrası sağ kalım oranlarını artırmıştır. Sağ kalım oranlarındaki bu artış uzun dönem yan etkilerinin tanınması ve takibini daha çok gündeme getirmiştir. Ayrıca HKHN ile düzeltilmeyen hematopoetik sistem dışı bulguların varlığı devam ettiği için bu durumların da izlemi gerekmektedir (1, 2).

HKHN süreci nakil hekimleri tarafından yönetilir. PİY hastalarının nakil öncesi ve nakil sonrası dönemde kompleks sorunları olmaktadır. Genellikle HKHN'den sonraki ilk 100 gün boyunca, hastalar nakil merkezlerinde günlük muayenelerle izlenirler.

HKHN sonrası erken dönemde görülen en başlıca komplikasyonlar; kemik iliği aplazisi, transplant ilişkili endotel hastalıkları (sinüzoidal obstrüksiyon sendromu-SOS, nakil ilişkili mikroanjyopati- TRMA, akut GVHD, idiyopatik pnömonitis ve engrafman sendromu), hemorajik sistit, mukozit ve enfeksiyonlardır (1). Bunların tedavi ve izlemi nakil hekimleri tarafından yapılmaktadır. İlk 100 günden sonraki sürecin izlemi hastadan hastaya ve merkezden merkeze

değişiklikler göstermektedir. Özellikle yaşadıkları şehirle nakil oldukları merkezler arasında çok mesafe olan hastaların bundan sonraki izleminde, yaşadıkları ildeki uzman hekimler de yer almaktadır. HKHN sonrası izleminde nakil hekimlerinin, çocuk/erişkin immünoloji allerji uzmanları, çocuk hematoloji ve diğer branşların uzmanları ile yakın iş birliğinde olması gereklidir.

Erken dönemden sonra HKHN yapılan hastaların;

- İmmün rekonsititasyon
- Enfeksiyonlar
- Kronik GVHD
- Organ ve dokulardaki nakil ilişkili uzun dönem yan etkileri açısından izlemi gereklidir. Biz bu bölümde bu alanlardaki izlemden bahsedeceğiz.

2. İMMÜN REKONSİTİTÜSYONUN İZLEMİ

HKHN günümüzde PİY hastalıklarında yaygın olarak uygulanan küratif bir tedavi yaklaşımıdır. Nitekim 1968'den bu yana allojenik HKHN ağır kombine immün yetersizlikte (AKİY) standart bir tedavi hâlini almıştır. Günümüzde HKHN ile iyileşebilen PİY'ler arasında AKİY'den başka diğer kombine immün yetersizlikler (KİY: omenn sendromu, MHC sınıf II eksikliği, CD40L eksikliği, PNP eksikliği gibi), immün disregülasyon bozuklukları ve diğer pek çok yaşamı tehdit eden ciddi PİY (WAS, LAD, KGH, HLH, IPEX gibi) yer almaktadır (3).

PİY hastalıklarında HKHN sonrası fonksiyonel bir immün sistemin oluşması uzun süreli başarı için gereklidir. Bu başarının ön koşulu ise optimal immün rekonstitüsyon; ye-

niden immün ve hematopoetik yapılanmanın sağlanmasıdır. PİY'lerin bazılarında hastalığın tedavisini sağlamak için tam donör kimerizmi gerekli olmayabilir. İmmün sistemin yeniden yapılanması multifaktöriyel özellik gösteren kompleks bir durumdur. Donör tipi, nakilde greftin tam veya T hücresi *depleted* (azaltılmış) olması, T hücre deplesyonu için kullanılan metotlar, infüze edilen kök hücre dozu (hücre sayısı / kg), GVHD profilaksisi kullanımı, GVHD gelişip gelişmemesi ve viral enfeksiyonlar bu faktörlerin başında gelmektedir. İmmün yeniden yapılanmanın tam anlamıyla gerçekleşmesi (donör tipine bağlı olmak üzere) 1-2 yılı bulmaktadır. HKHN'ni takiben immün sistemin yeniden yapılanmasına ait dinamikler de hücreden hücreye farklılık göstermektedir (3-5).

Nötrofil engraftmanı: HKHN sonrası engraftman hazırlama rejimi kullanılmışsa; nötrofil sayısının $500/\text{mm}^3$ ($0,5 \times 10^9/\text{L}$) olduğu ve en az 3 ardışık gün boyunca bu şekilde kaldığı veya $1000/\text{mm}^3$ ($1 \times 10^9/\text{L}$) olduğu ilk gün nötrofil engraftmanı olarak kabul edilmektedir. Nötrofil engraftmanını trombosit engraftmanı takip etmektedir.

Trombosit engraftmanı: Ardışık 3 gün boyunca trombosit sayısının desteksiz olarak $>20.000/\text{mm}^3$ ($20 \times 10^9/\text{L}$) veya $50.000/\text{mm}^3$ ($50 \times 10^9/\text{L}$) görüldüğü ilk gün trombosit engraftmanı olarak tanımlanmaktadır (1).

Lenfosit engraftmanı: HKHN sonrası lenfositlerin engraftmanı bir yıla kadar sürebilmektedir. Lenfositlerin engraftmanı ve işlevsel hâle gelmesinde iki mekanizma vardır:

1. Periferik sağ kalım ve donör T hücrelerinin genişlemesi (timus bağımsız)
2. Timusta donör hematopoetik öncüllerinden donör T hücrelerinin *de novo* üretimi (timus bağımlı)

HKHN sonrası ilk ay boyunca, bu mekanizma donör T hücrelerinin periferik hayatta kalması ve genişlemesini sağlamaktadır.

Lenfosit engraftmanı ve fonksiyon kazanımı için gereken süre; kullanılan hazırlama rejimi, alıcının timik involüsyonu, donör yaşı, nakil tipi, kök hücre miktarı, *ex vivo* veya *in vivo* T hücre deplesyonu yapıp yapılmadığı, GVHD profilaksisinin kullanılıp kullanılmadığı ve GVHD'nin mevcut olup olmamasına göre değişmektedir (1-5).

Kemik iliği ve periferik kök hücre kaynaklı nakillerde 10 ila 25 gün arasında engraftman gerçekleşmektedir. Kord kanı nakillerinde ise hücre sayıları daha düşük olduğu için daha geç engraftman olmaktadır. HKHN sonrasında immün sistem hücrelerinin sayılarının artması yanında fonksiyonlarının da izlenmesi gereklidir (4, 5). İmmün rekonstitüsyon izleminde kullanılan testler Tablo 1'de verilmiştir (1).

Tablo 1. HKHN sonrası immün yeniden yapılanmanın izlenmesi (1)

İmmün sistem bileşenleri ve fonksiyonları	Zaman	Testler
Nötrofil	Nötrofil sayısının $500/\text{mm}^3$ ($0,5 \times 10^9/\text{L}$) olduğu ve en az 3 ardışık gün boyunca bu şekilde kaldığı dönem	<ul style="list-style-type: none"> • Donör miyeloid kimerizmi • Nötrofil oksidatif patlama testi (KGH) • CD18 ekspresyonu (LAD-1)
Lenfosit	Hastalığın tipi ve hazırlama rejimi alıp almamasına bağlı olarak değişir	<ul style="list-style-type: none"> • Lenfoid engraftmanı • Periferik kan lenfosit analizi (CD3, CD4, CD8, NK, CD19) • Timopoezin kanıtı RTE ($\text{CD4}^+\text{CD45}^+\text{CD31}^+$) • Hastalığa spesifik moleküller (HLA-DR, CD40L, FOXP3, ZAP70, vd)
Lenfosit aktivasyon yanıtı	Timopoez görüldükten 4 ay sonra	<ul style="list-style-type: none"> • PHA'ya proliferatif yanıt
Hümmoral immün sistem	+6. aydan sonra	<ul style="list-style-type: none"> • İmmünooglobülin düzeyi • IgM seviyesinde yükselme, izohemaglutinin tiresinin $>1/8$ tire olması, sınıf dönüşümü tamamlanmış hafıza B hücre artışı endojen B hücre fonksiyonlarını gösterir
Aşı antijenlerine yanıt	Aşılamaya başlamadan 3 ay önce IVIG replasmanı kesilmiş olmalı	<ul style="list-style-type: none"> • Spesifik antijen yanıtları • Canlı aşılar, PHA yanıtı ve inaktif aşılar karşı antikor yanıtı kanıtlanana kadar ertelenmelidir
Polisakkarit antikor yanıtı	Nakilden en az 2 yıl sonra	<ul style="list-style-type: none"> • Polisakkarit bazlı aşı antijenine antikor yanıtı

KGH: Kronik granüloematöz hastalık, **LAD:** Lökosit adezyon defekti, **RTE:** Yeni timik göçmen, **PHA:** Fitohemaglutinin

Kemik iliği kaynaklı nakillerde, CD56⁺ doğal öldürücü (NK) hücre yapılanması en erken gelişmektedir. CD8⁺ T hücreleri yeniden yapılanması +6. ay civarında olurken CD4⁺ T hücrelerinde 1 yıldan daha uzun bir sürede gerçekleşmektedir. Timopoez bebeklerde ve çocuklarda HKHN'den yaklaşık 120 gün sonra belirgin hâle gelmektedir. Timopoezin göstergesi olan T hücre reseptör eksizyon halkaları (*T-cell Receptor Excision Circles*-TREC) içeren ve aktive olmayan naif CD4⁺CD45RA⁺ T hücreleri periferik kandan ölçülmektedir. Zamanla T hücresi reseptör repertuarının gelişimi ve genişlemesi de timopoezin göstergesidir. Timopoezi en fazla etkileyen faktörler yaş ve GVHD'dir. Küçük yaşta hastalarda TREC yüksektir. Buna karşın yaş büyüdükçe, ciddi fırsatçı enfeksiyonlar, immün süpresif ilaçlar ve kronik GVHD varlığında TREC'ler azalır (6).

T lenfosit gelişiminin en ciddi şekilde bozulduğu ağır kombine immün yetersizlikte aşağıdaki 3 kriterden ikisinin varlığı T lenfosit engrafmanı olarak tanımlanmaktadır (7).

- CD3⁺ T hücre > %50 / 1000/mm³
- CD3⁺CD4⁺ T hücre >%25 / 500/mm³
- Fitohemaglutinin (PHA) ile aktivasyon yanıtı normalin > %50

HKHN sonrası B hücreleri tipik olarak 2. aydan sonra ortaya çıkar, ancak normal sayıları ulaşması 6-9 ayı bulabilir. Adenozin deaminaz eksikliği (ADA) dışındaki genetik kusurların neden olduğu AKİY'lerde nakil öncesi hazırlama rejimi verilmemişse donör B hücresi kimerizminin sağlanması olasılığı düşüktür. Yine hazırlama rejimi verilmeden nakil yapılan, interlökin-2 (IL-2) reseptör gama zinciri veya Janus kinaz-3 eksikliği olan B⁺ AKİY hastalarında işlevsel olmayan alıcı B hücreleri bulunur. Lenfosit reseptör rekombinasyon defekti olan T-B- AKİY'lerde (RAG1/RAG2, Artemis defektleri) donör B hücresi kimerizmi olmadan

fonksiyonel B hücresi geliştiremezler. Bu hastalar ömür boyu immünoglobulin (Ig) G replasmanı almak durumundadırlar. HKHN sonrasında hastalarda ölçülen Ig düzeyleri de B hücre yeniden yapılanması ile paralellik göstermektedir (8). HKHN sonrası dönemde periferik kanda önce geçiş dönemi (transitional) B hücreleri ortaya çıkmaktadır. Bu hücreler nakil sonrası ilk yılda yerlerini daha sonra bellek B ve plazma hücrelere farklılaşacak olan olgun naif B hücrelere bırakırlar. Nakil sonrasında B hücre reseptörü repertuarının da çeşitlilik kazanması gereklidir. Bu anlamda kappa silen rekombinasyon eksizyon halkaları (KREC) kopya sayısı ölçümü bir belirteç olarak fayda sağlayabilmektedir (8). B hücre yapılanması B hücre kimerizmi ile yakından ilişkilidir. HKHN sonrasında B lenfosit yapılanmasını etkileyen ve dolayısı ile Ig replasman tedavisinin kullanımı gerekli kılan temel faktörler: Kök hücre kaynağı, hazırlama rejimi, donör tipi, akut/kronik GVHD varlığıdır. Örneğin, miyeloablative hazırlama protokolleri tam kimerizm ve yeterli T/ B lenfosit engrafmanı sağlanmasına olanak tanırken, nakil öncesinde organ hasarları gelişmiş veya ciddi komorbiditesi olan hastalarda daha az toksik olması nedeniyle tercih edilen yoğunluğu azaltılmış hazırlama rejimleri ile her zaman optimal T/ B hücre yapılanması elde edilememekte ve hastaların Ig replasman gereksinimi sürmektedir.

AKİY nakillerinde B hücre engrafmanı;

- CD20⁺ B hücre > %10 / > 400/mm³
- Serum IgA düzeyinin normale yakın değerlere ulaşması ve IVIG replasman ihtiyacının olmaması olarak tanımlanmaktadır (7).

AKİY'de hazırlama rejimi verilip verilmemesine bağlı olarak T ve B hücre engrafmanlarının gelişme durumları Tablo 2'de verilmiştir (5).

Tablo 2. AKİY'de hazırlama rejimi verilen ve verilmeyen hastalarda T ve B hücre engrafmanları (5)

Genotip	İmmün fenotip	Hazırlama rejimi	CD8 ⁺ T hücre	CD4 ⁺ T hücre	B hücre
IL2RG/JAK3	T-B+NK-	Yok	+	+	-
		Var	+	+	+
ADA	T-B-NK-	Yok	+	+	+
		Var	+	+	+
RAG1/RAG2	T-B-NK+	Yok	+/-	+/-	-
		Var	+	+	+
IL7R	T-B+NK+	Yok	+	+	+
		Var	+	+	+

IL2RG: IL-2 reseptör gama zinciri, **JAK3:** Janus kinaz-3, **ADA:** Adenin deaminaz, **RAG:** Rekombinasyon aktive edici gen, **IL7R:** IL-7 reseptörü, **NK:** Doğal öldürücü (natural killer)

HKHN sonrası herhangi bir zamanda, alıcının hematopoetik dokularında verici kaynaklı hücrelerin >%95 bulunması tam kimerizm (*full chimerism*), alıcıda verici kaynaklı hücrelerin %5-95 arasında bulunması miks kimerizm (*mix chimerism*) olarak tanımlanmaktadır. Kimerizmi değerlendirmek için ilk örnekleme HKHN sonrası +3. haftada alınması önerilmektedir. Naklin ilk yılında donör tipi, hazırlama rejimi, GVHD gibi faktörler de göz önüne alınarak yakın aralıklarla (1-2 ay) kimerizm ölçümü önerilmektedir. Kimerizm takibi greft kaybını erkenden tespit etmek için de önemlidir (1).

Ayrıca nakil sonrası immün yapılanma, PİY tipi, hastanın nakilden önceki durumu veya hastalıktan sorumlu olan genetik bozuklukla ilişkili olarak da yetersiz kalabilmektedir. Sonuç olarak HKHN sonrası immün yapılanmanın takibi, özellikle de T ve B hücrelerinin sayısal ve fonksiyonel kapasitelerinin izlenmesi, engrafman yetmezliği, GVHD, enfeksiyonlar gibi komplikasyonların anlaşılmasını kolaylaştırmakta, hastaların aşı takvimleri ile Ig replasmanı ve koruyucu antibiyotikler gibi desteklere gereksinimleri ve süreleri konusunda yol gösterici olmaktadır (1-5).

3. HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ SONRASINDA KOMPLİKASYONLARIN TAKİBİ

3.1. Enfeksiyonlar

HKHN sonrası enfeksiyonlar en önemli komplikasyonlardandır. PİY hastalarında hasta hijyeni (cilt, ağız-mukozların temizliği, kateter bakımı) ve bakım veren personelin el temizliği, ziyaretçilerin sınırlandırılması, havadaki mantar ve virüslerden kaynaklanan enfeksiyonları en aza indirmek için HEPA filtrasyonlu veya laminer hava akışlı kabinlerde koruyucu izolasyon, düşük bakterili diyet, profilaktik antimikrobiyal ilaçlar ve Ig replasman desteği enfeksiyonlardan korunmada kullanılan temel koruyucu önlemlerdir. PİY hastalarında enfeksiyonlar özel bir sorun teşkil etmektedirler. Birçok PİY hastasında HKHN sürecinden önce var olan ve immün yetersizliği düzeltilene kadar temizlenmeyecek olan enfeksiyonlarla nakile alınmaktadırlar. HKHN dönemi boyunca spesifik patojenlere bağlı enfeksiyonların görüldüğü üç dönem tanımlanabilir (1, 9, 10).

1. Erken evre, önceden var olan immün yetersizliğin getirdiği enfeksiyon riskinin yanında eğer hazırlama rejimi verilmişse anatomik bariyerlerin bozulması ve agranülositoz ile T ve B hücre eksikliğiyle birleştiği nakil sonrası ilk ayı kapsar. Gram-negatif ve pozitif bakteriler, Candida türlerine bağlı enfeksiyonlar ve herpes virüsleri baskındır.

2. İkinci evre, engraftmanı takiben yaklaşık 100 güne kadar, kalıcı venöz santral kateterler özellikle Gram-pozitif bakterilerle kolonize olabilmektedir. Herpes virüsleri ve adenovirüs enfeksiyonu, önceden var olan veya yeni edinilen çevresel enfeksiyonlar, donörden transfer edilen enfeksiyonlar veya latent enfeksiyonun reaktivasyonu gelişmesi açısından riskli bir dönemdir. Mantar enfeksiyonu da bu süre zarfında sorunlara neden olabilmektedir. GVHD profilaksisi veya tedavisi için immünosupresyon uygulanması enfeksiyon riskini daha da artırabilmektedir.

3. Geç evre, bu dönemde özellikle kapsüllü bakteri enfeksiyonlarına rastlanmaktadır. Bu aşamada devam eden akut veya kronik GVHD ve immünosupresyon veya yetersiz immün yeniden yapılanma viral ve fungal enfeksiyonlara yatkınlığa neden olmaktadır.

Agranülositoz evresinde özellikle fagositer sistem defekti olan hastalar mantar enfeksiyonlarına yatkındır. Granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) kullanımı agranülositoz süresini kısaltır. Ciddi mantar enfeksiyonu olan hastalarda agranülositoz evresinde granülosit infüzyonu kullanılabilir. Antiviral profilaksiye rağmen T hücre immün yapılanması olana kadar viral enfeksiyonlar görülebilmektedir. Üçüncü kişilerden hazırlanan virüs spesifik sitotoksik T hücrelerle ilgili çalışmalar devam etmektedir.

PİY hastalarında enfeksiyon ajanlarına karşı antikor üretimi olamayabileceği için enfeksiyon ajanlarının varlığını doğrudan gösterecek antijen, mikroskopi, PCR, kültür ve gerekirse doku örnekleri ile tanıya ulaşılmaya çalışılmalıdır.

HKHN hastasında nedeni bilinmeyen ateş

Ateş, aksi kanıtlanana kadar enfeksiyon belirtisi olarak kabul edilmelidir. Ateşi olan tüm hastalarda aşağıdaki değerlendirmeler acilen yapılmalıdır:

- Kateter yeri, perine-anal bölge dahil tam fizik muayene
- Kan kültürü
- İdrar kültürü
- Enfeksiyondan şüphelenilen bölgeden kültür alınması
- Akciğer grafisi
- Solunum semptomları varsa, akciğer grafisi normal olsa bile toraks BT çekilmelidir.

- Kültürler alındıktan sonra ampirik antibiyotik tedaviler başlanır. Hastanın risk faktörleri göz önüne alınarak anti-*psödomonal* monobaktam ilaç yanında aminoglikozit/glikopeptit eklenir (11).

3.2. Graft versus Host Hastalığı

GVHD, allojenik HKHN'den sonra, donörün (greft) immün hücrelerinin bağışıklığı baskılanmış alıcının dokularını yabancı olarak tanıyarak bu dokulara karşı immün yanıt geliştirmesi ile ortaya çıkan kompleks bir klinik tablodur. GVHD en sık cilt, gastrointestinal sistem, karaciğer ve akciğerleri tutulmakla birlikte neredeyse tüm organları tutabilmektedir. GVHD klasik olarak 100 günlük bir kesme noktası kullanılarak başlangıç zamanına göre akut ve kronik olarak ikiye ayrılmıştır. Ancak bu geleneksel ayırım, akut ve kronik GVHD belirtilerinin bu belirlenen sürelerin dışında da ortaya çıkabileceğinin fark edilmesiyle sorgulanmaya başlanmıştır. Bu durum, akut ve kronik GVHD arasında ayırım yapmak için belirli bir zaman diliminden ziyade klinik ve/veya patolojik özelliklerin kullanımının artmasına yol açmıştır (1, 2). GVHD tanısı koymak için kullanılan ve yaygın olarak kabul gören National Institutes of Health (NIH) konsensüs kriterlerine göre sınıflandırmaktadır (Tablo 3) (12).

Akut klasik GVHD: HKHN'den sonraki 100 gün içinde akut GVHD'nin klasik klinik özellikleriyle ortaya çıkmaktadır.

Persistan, tekrarlayan veya geç başlangıçlı akut GVHD: Klasik akut GVHD'nin klinik özellikleriyle ancak nakilden 100 gün sonra ortaya çıkmaktadır.

Klasik kronik GVHD: HKHN'den 100 gün sonra kronik GVHD'nin klasik klinik özellikleriyle ortaya çıkmaktadır.

Overlap sendromu: HKHN'den sonra herhangi bir zamanda hem akut hem de kronik GVHD özellikleriyle ortaya çıkabilmektedir.

Akut GVHD (aGVHD) deride eritematöz döküntü, kolestatik tipte hepatit ve gastroenterit bulgularından biri veya birden fazlası bir arada olacak şekilde karşımıza çıkmaktadır. Donör özellikleri ve GVHD profilaksisine bağlı olarak insidansı değişmekle birlikte orta ila şiddetli aGVHD, HKHN alıcılarının yaklaşık olarak %40'ında görülmektedir.

Kronik GVHD (kGVHD), HKHN sonrası en önemli mortalite nedenidir. Kronik GVHD insidansı yaklaşık %50'dir. Semptomlar genellikle HKHN'den sonraki üç yıl içinde ortaya çıkmaktadır. Çoğunlukla öncesinde aGVHD vardır. Hastaların yaklaşık %50'sine HKHN'den sonraki ilk 6 ay içinde tanı konulmaktadır. Son yirmi yılda daha büyük yaşta hastalara da nakil yapılması, akraba dışı ve/veya HLA uyumsuz donörlerin kullanımı, yoğunluğu azaltılmış hazırlama rejimlerinin ve periferik kök hücrenin kullanımındaki artış kGVHD insidansını artmıştır. kGVHD, otoimmün ve diğer immünolojik hastalıklara (örn. skleroderma, Sjögren hastalığı, primer biliyer siroz, immün sitopeniler) benzeyen değişken klinik özelliklere sahip bir sendromdur. Başlıca klinik özellikler arasında liken planus veya kutanöz sklerodermaya benzeyen deri tutulumu, kuru ağız mukozası, gastrointestinal sistem ülserasyonları ve skleroz, yüksek serum bilirubini ve bronşiolitis obliterans yer almaktadır (13). kGVHD patofizyolojisi aGVHD'dan farklıdır ve temel olarak hem doğuştan gelen hem de adaptif bağışıklığı etkileyen bozulmuş immün tolerans mekanizmaları ile karakterizedir. Engrafman sonrası üretilen hem otoreaktif hem de alloreaktif donör T ve B hücreleri kGVHD gelişimine katkıda bulunmaktadır. Diğer patofizyolojik faktörler arasında alloantijenlerin antijen sunan donör hücreler aracılığıyla dolaylı olarak sunulmasının yanı sıra skar oluşumu ve fibroze yol açan kronik enflamasyon mekanizmalarıdır (14).

kGVHD ile ilgili bir bulgu veya semptom olduğunda nakil hekimi ile hemen iletişime geçmek ve hastayı sevk etmek

Tablo 3. NIH'e göre GVHD sınıflaması

Kategori	HKHN sonrası semptomların başlama zamanı	Akut GVHD özellikleri	Kronik GVHD özellikleri
Akut GVHD			
• Klasik	<100 gün	Var	Yok
• Persistan, tekrarlayan veya geç başlangıçlı	>100 gün	Var	Yok
Kronik GVHD			
• Klasik	Zaman sınırı yok	Yok	Var
• Overlap	Zaman sınırı yok	Var	Var

gerekmektedir. kGVHD'nin dokuları etkileme oranları cilt %70, oral mukoza %60, karaciğer %52, göz % 48, eklem ve fasiyalar %48, gastrointestinal sistem %30, genital bölge %12 olarak bildirilmiştir. kGVHD ile ilişkili semptom ve bulguları tanımak ve sınıflandırmak için NIH'in GVHD Konsensüs Çalışma Grubu tarafından geliştirilen kriterler kullanılmaktadır (12). Bunlar Tablo 4'te verilmektedir.

kGVHD açısından hastaları sorgularken;

1. Cildinizde herhangi bir değişiklik fark ettiniz mi?
2. Ağızınızda kuruluk veya yiyeceklere karşı duyarlılık hissettiniz mi?
3. Gözlerinizde kuruluk, batma veya başka bir değişiklik hissettiniz mi?
4. Mide bulantınız, tat değişikliğiniz, iştah kaybınız, bağırsak alışkanlıklarınızda değişiklik, yutma zorluğu oldu mu?
5. Öksürük, hışıltı veya nefes darlığınız oldu mu? soruları sorulmalıdır (15, 16).

kGVHD tanısı için kriterler şunlardır:

- Akut GVHD'dan ayırt edilmesi (Tablo 4)
- En az bir tanısal klinik belirtinin varlığı veya en az bir biyopsi veya diğer ilgili testlerle doğrulanması (Tablo 5)
- Klinik bulgu için diğer olası tanıların dışlanması (örn. enfeksiyon, ilaç etkisi, diğerleri)

kGVHD, ortalama 2-3.5 yıl sistemik immünosüpresif tedavi kullanmayı gerektirir.

4. UZUN DÖNEM YAN ETKİLER AÇISINDAN İZLEM

HKHN çok sayıda PİY hastalığı için küratif bir tedavidir. HKHN alanında özellikle son yıllarda yaşanan gelişmeler nakil sonrası hayatta kalma oranlarında artışa neden olmuştur. Ancak erken dönem risklerini atlaman hastalar bile geç dönem yan etkileri gelişme riski altındadır (1, 2). PİY'lerin tümü için kronik ve geç dönem yan etki görülme oranları konusunda net bilgilerimiz yoktur. Ancak AKiY'de kümülatif kronik ve geç dönem yan etki insidansı +2. yılda %24,8'den +15. yılda %41,5'e yükseldiği bildirilmiştir (17).

Nakil sonrası geç yan etkilerin tipi ve gelişme riskini etkileyen faktörler şunlardır:

1. Hastaya ait faktörler

- a) Tanı
- b) Yaş, cinsiyet
- c) Komorbiditeler ve nakil öncesi organ hasarları
- d) Fonksiyonel durum
- e) Kronik GVHD olup olmadığı
- f) Sosyal güvence

2. HKHN ilişkili faktörler

- a) Verici tipi, kök hücre kaynağı
- b) Kemoterapi
- c) İmmünsüpresyon
- d) İmmünrekonsititasyon
- e) Nakil sonrası süre
- f) Nakil ilişkili komplikasyonlar (Enfeksiyonlar, GVHD gibi)

HKHN sonrası geç dönemde cilt, göz, oral mukoza, gastrointestinal sistem/karaciğer, solunum sistemi, endokrin sistemi, kardiyovasküler, renal, nörolojik ve kas iskelet gibi birçok sistem ve organ tutulumu görülebilmektedir. Yakın ve dikkatli bir takip önem arz etmektedir. Takipte önerilen değerlendirme ve tetkikler Tablo 5'de verilmektedir (1, 12, 15, 18, 19).

Sonuç olarak HKHN yapılan hastalarda beklenen yaşam süreleri, son yıllarda giderek artsa da uzun dönem yan etkiler nedeniyle sağlıklı yaşatlarına göre hâlâ daha kısadır. Nakil sonrası uzun dönem yan etkilerin, nakli yapan merkez, hastayı nakile yönlendiren çocuk/erişkin immünoloji allerji uzmanı ve ilgili diğer uzmanlık alanları tarafından multidisipliner yaklaşımlarla takip edilerek önlenmesi, gelişen yan etkilerin erken tanınması ve etkin tedavisi morbidite ve mortalitelerin azaltılması sağlayarak, yaşam kalitesini ve yaşam süresini artıracaktır.

Tablo 4. NIH'e göre kronik GVHD semptom ve bulguları (12)

Organ / Bölge	Tanısal (Kronik GVHD tanısı koymak için yeterli)	Ayırt ettirici (kGVHD'de görülür, ancak kronik GVHD tanısı koymak için tek başına yeterli değildir)	Diğer (Tanı doğrulanırsa kGVHD semptomatolojisinin bir parçası olarak kabul edilebilir)	Yaygın
Deri	<ul style="list-style-type: none"> Poikiloderma Liken-planus benzeri Sklerotik özellikler Morfea benzeri Lien sklerozis benzeri 	<ul style="list-style-type: none"> Depigmentasyon 	<ul style="list-style-type: none"> Terlemede bozulma İktiyozis Kertozis pıllaris Hipo/Hiper pigmentasyon 	<ul style="list-style-type: none"> Eritem Makülopapüler döküntü Kaşıntı
Tırnak		<ul style="list-style-type: none"> Distrofi Boyuna çıkıntılar, yarıлма veya kırılğan özellikler Onikoliz Pterygium unguis Tırnak kaybı (genellikle simetriktr) 		
Saçlı deri ve vücut kılları		<ul style="list-style-type: none"> Skarlı veya skarsız saçlı deri alopesisi Pullanma ve papüloskuamöz lezyonlar 	<ul style="list-style-type: none"> Saçlı deride incelme, yamalı, kaba veya donuk görünüm Erken beyazlayan saçlar 	
Ağız	<ul style="list-style-type: none"> Liken planus benzeri Hiperkeratotik plaklar Skleroz nedeniyle ağız açıklığının kısıtlanması 	<ul style="list-style-type: none"> Ağız kuruluğu Mukosel Mukozal Atrofi Pseudomembranlar Ülserler 		<ul style="list-style-type: none"> Diş eti iltihabı Mukozit Eritem Ağrı
Gözler		<ul style="list-style-type: none"> Yeni başlangıçlı kuru, pütürlü veya ağrılı gözler Sikatrisyel konjonktivit Keratokonjonktivit sicca Birleşen punktat alanları olan keratopati 	<ul style="list-style-type: none"> Fotofobi Periorbital hiperpigmentasyon Blefarit (göz kapakları ödemi ile eritem) 	
Genitalya	<ul style="list-style-type: none"> Liken planus benzeri 	<ul style="list-style-type: none"> Erozyonlar Fissürler Ülserler 		
GIS sistem	<ul style="list-style-type: none"> Özofagusta web Özofagus üst veya orta üçte birlik kısmında darlıklar veya stenoz 		<ul style="list-style-type: none"> Ekzokrin pankreas yetmezliği 	<ul style="list-style-type: none"> İştahsızlık Mide bulantısı Kusma İshal Kilo kaybı Büyüme geriliği
• Karaciğer				<ul style="list-style-type: none"> Total bilirubin, ALP'nin normal üst sınırının 2 katından yüksek olması ALT veya AST'nin normal üst sınırının 2 katından yüksek olması
• Akciğer	<ul style="list-style-type: none"> Akciğer biyopsisi ile tanı konulmuş bronşiolitis obliterans 	<ul style="list-style-type: none"> Solunum fonksiyon testleri ve radyoloji kullanılarak tanı konulmuş bronşiolitis obliterans 		<ul style="list-style-type: none"> Bronşiyolitıs Obliterans Organize Pnömoni (BOOP)

Tablo 4 devam

• Kas-Eklemler-Fasya	• Fasiit • Skleroza bağlı eklem sertliği veya kontraktürler	• Myozit veya polimyozit	• Ödem • Kas krampları • Artralji veya artrit
• Hematopoetik-İmmün Sistem			• Trombositopeni • Eozinofili • Lenfopeni • Otoantikorlar (ITP, OIHA) • Hipo/hipergamaglobülinemi
• Diğer			• Perikardiyal veya plevral efüzyonlar • Asit • Periferik nöropati • Nefrotik sendrom • Myastenia gravis • Kardiyak iletim anormallikleri veya kardiyomiyopati

ITP: İmmün trombositopenik purpura, OIHA: Otoimmün hemolitik anemi

Tablo 5. HKHN sonrası uzun dönem yan etkiler açısından izlemde kullanılacak değerlendirme ve tetkikler

	3. ay	6. ay	12. ay	10 yıla kadar yıllık	Dikkat edilecekler
Genel sağlık					
• Büyüme-gelişme	+	+	+	+	Büyüme
• Tam kan sayımı	+	+	+	+	
• Biyokimya	+	+	+	+	
İmmün sistem					
• IgG,A,M	+	+	+	+	
• İzohemag. titresi	-	+	+	+	
• PKL	+	+	+	+	
• RTE	+	+	+	+	
• LAT	-	+	+	+	
• B hücre alt grupları	-	+	+	+	
• Kimerizm	+	+	+	+	Kimerizmdeki düşmeler greft kaybı açısından dikkatle takip edilmelidir
Enfeksiyon					
• CMV PCR	+	+	+	-	
• EBV PCR	+	+	+	-	
• Galaktomannan antijeni	+	+	+	-	
• Kateter kültürü	+	+	+	-	Kateter giriş ve cilt altı seyri muayene edilemeli
• Aşılama					Tablo.3'teki aşı planları takip edilmeli
Cilt, saç ve tırnak					
• Cilt, saçlı deri ve tırnakların muayenesi	+	+	+	+	Hastanın kendisinin de cilt, saçlı deri ve tırnaklarını muayene etmesi, güneşe uzun süre maruz kalmaması, güneş kremi kullanımı önerilir
Diş ve oral mukozalar					
	+	+	+	+	Ağız hijyeni ile ilgili yapılacaklar her muayene hatırlatılmalı, şeker tüketimi azaltılmalı, displastik görünümlü lezyonlar hızla değerlendirilmeli

Tablo 5 devam

Göz					
• Göz muayenesi	-	+	+	+	Kuru göz, katarak ve kGVHD açısından muayene edilmeli Kuru göz varsa Schirmer's testi
Karaciğer ve gastrointestinal sistem					
• Transaminazlar	+	+	+	+	Transaminaz yüksekliği varsa USG kontrolü
• Serum ferritin	-	+	-	-	Demir birikimi varsa USG, MRI, şelatör tedavi gereksinimini değerlendirir
• Abdominal USG			+		Semptomlara göre gerekirse endo-kolonoskopi
Solunum					
• Solunum fonksiyon testi	+	+	+	+	İlk 24 ayda her akciğer enfeksiyonundan sonra değerlendirir. kGVHD varsa her 6 ayda ve klinikte bozulma olduğunda değerlendirir. Restriktif değişiklikler varsa DLCO Göğüs rehabilitasyonu gerekliliğini değerlendirir.
• Akciğer grafisi	-	-	+	-	Enfeksiyon şüphesinde mutlaka değerlendirir
• Sigara kullanımı ve teması	+	+	+	+	
Endokrin					
• Tiroid testleri	+	+	+	+	Tiroid kanseri riski olanlarda USG
• Hipoadrenalizm	+	+		-	
• Hipogonadizm	+	+		+	Puberte gecikmesi varsa hormon replasman ihtiyacını değerlendirir
• Büyüme geriliği	+	+	+	+	Büyüme hormon replasman gerekliliğini değerlendirir
• Açlık kan şekeri	+	+	+	+	HbA1c, otoantikörlerin ölçümü Diyabet varsa diyet kısıtlamaları, kilo kontrolü, medikal tedavi
Kardiyovasküler sistem					
• Kan basıncı ölçümü	+	+	+	+	BMI değerlendirmesi, Hipertansiyon varsa medikal tedavi
• Lipid düzeyleri (total kolesterol, HDL, trigliserit)					Gerekirse gecikmeden antilipid tedavi, diyet kısıtlaması, kilo kontrolü
• Ekokardiyografi	-	+	-	-	
• NT-proBNP	-	+	+	-	
Renal					
• Serum üre, kreatinin	+	+	+	+	Kan basıncı ölçümü
• Tam idrar tetkiki	+	+	+	+	Ciddi proteinüri varsa araştır, gerekirse biyopsi ile değerlendirir Nefrotoksik ilaçlardan kaçın
Nörolojik ve nörogelişimsel					
• Nörogelişimsel değerlendirme	+	+	+	+	2 yaş bitene kadar her 3 ayda bir değerlendirir Destek ihtiyacı varsa hızlı ol
• İşitme		+			
Psikiyatrik					
• Psikiyatrik muayene	+	+	+	+	Riskli ve semptomatik hastaları psikiyatrye danış
Kas- İskelet					
• DEXA		+			Osteopeni varsa kalsiyum, D vitamini profilaksisi ve bifosfonat ihtiyacını değerlendirir Fizyoterapi ve egzersiz programı
• Avasküler nekroz açısından ağrı değerlendirmesi	+	+	+	-	MR inceleme ve ortopedi danışımı
kGVHD değerlendirmesi					
	+	+	+	+	Her muayene kGVHD yönünden semptom ve bulgular değerlendirilmeli, gerekli taramalar yapılmalıdır

PKL: Periferik kan lenfositleri, RTE: Yeni timik göçmen, LAT: Lenfosit aktivasyon testi, CMV: Cytomegalo virus, EBV: Epstein-barr virus, USG: Ultrasonografi, MRI: Manyetik rezonans görüntüleme, DLCO: CO difüzyon testi, BMI: Vücut kitle indeksi

KAYNAKLAR

1. Gennery AR. Hematopoietic stem cell transplantation for primary immune deficiencies. In: Sullivan KE, Stiehm RE. Stiehm's Immune Deficiencies. 2nd ed. Academic Press.2020:1175-214.
2. Gennery AR, Lankester A; Inborn Errors Working Party (IEWP) of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Long term outcome and immune function after hematopoietic stem cell transplantation for primary immunodeficiency. *Front Pediatr* 2019;7:381.
3. Kuball J, Boelens JJ. Clinical and biological concepts for mastering immune reconstitution after HSCT: Toward practical guidelines and greater harmonization. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kroger N (eds). The EBMT handbook: hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. 7th ed. Chapter 10, Springer, 2019:69-74.
4. Ogonek J, Kralj Juric M, Ghimire S, Varanasi PR, Holler E, Greinix H, et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Front Immunol* 2016;7:507.
5. Bhatt ST, Bednarski JJ. Immune reconstitution in pediatric patients following hematopoietic cell transplant for non-malignant disorders. *Front Immunol* 2020;18;11:1988.
6. Imamura M, Tsutsumi Y, Miura Y, Toubai T, Tanaka J. Immune reconstitution and tolerance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Hematology* 2003;8(1):19-26.
7. İkinçioğulları A, Cagdas D, Dogu F, Tugrul T, Karasu G, Haskologlu S, et al. Clinical features and HSCT outcome for SCID in Turkey. *J Clin Immunol* 2019;39(3):316-32.
8. van der Maas NG, Berghuis D, van der Burg M, Lankester AC. B cell reconstitution and influencing factors after hematopoietic stem cell transplantation in children. *Front Immunol* 2019;10:782.
9. Mikulska M. Infection Control and Isolation Procedures. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kroger N (eds). The EBMT handbook: Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. 7th ed., Springer, 2019:189-95.
10. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, Gress R, Sepkowitz K, Storek J, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: a global perspective. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15(10):1143-238.
11. Mikulska M. Neutropenic Fever. In: Carreras, Dufour C, Mohty M, Kröger N. The EBMT handbook. Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. 7th ed. Cham. Springer. 2019: 259-64.
12. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Wolff D, Cowen EW, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21(3):389-401.e1.
13. Kitko CL, Pidala J, Schoemans HM, Lawitschka A, Flowers ME, Cowen EW, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: IIa. The 2020 Clinical Implementation and Early Diagnosis Working Group Report. *Transplant Cell Ther* 2021;27(7):545-57.
14. Cooke KR, Luznik L, Sarantopoulos S, Hakim FT, Jagasia M, Fowler DH, et al. The biology of chronic graft-versus-host disease: a task force report from the National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017;23:211-34.
15. Hilgendorf I, Greinix H, Halter JP, Lawitschka A, Bertz H, Wolff D. Long-term follow-up after allogeneic stem cell transplantation. *Dtsch Arztebl Int* 2015;112:51-8.
16. Granat LM, Ondeck M, Osantowski B, Sheu M, Ganesan V, Rotz S, et al. Late complications after allogeneic hematopoietic cell transplant: What primary care physicians can do. *Cleve Clin J Med* 2023;1;90(8):499-508.
17. Eissa H, Thakar MS, Shah AJ, Logan BR, Griffith LM, Dong H, et al. Posttransplantation late complications increase over time for patients with SCID: A primary immune Deficiency Treatment Consortium (PIDTC) landmark study. *J Allergy Clin Immunol* 2024;153(1):287-96.
18. Small TN, Cowan MJ. Immunization of hematopoietic stem cell transplant recipients against vaccine-preventable diseases. *Expert Rev Clin Immunol* 2011;7(2):193-203.
19. İkinçioğulları A, Haskologlu Ş, Doğu F. Kök hücre naklinde immüno-globulin tedavisinin yeri ve süresi nasıl olmalıdır? Ed. Kılıç GS, Keleş S. Multidisipliner yaklaşımlarla immüno-globulin tedavisi rehberi, Ankara 2023:110-5.



İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları/Primer İmmün Yetersizliklerin Tanı ve Taramasında Kullanılan Laboratuvar Testleri

- Bölüm 1. Primer İmmün Yetersizlik Tanısında Kullanılan Tarama Testleri**
- Bölüm 2. Aşı Yanıtı ve İzohemaglutininler**
- Bölüm 3. Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları**
- Bölüm 4. Lenfosit Alt Grup Analizleri: İmmüfenotipleme**
- Bölüm 5. Hastalık İlişkili Proteinlerin Akan Hücre Ölçer ile Analizi**
- Bölüm 6. Fonksiyonel Analizler**
- Bölüm 7. Kronik Granümatöz Hastalıkta Tanısal Yaklaşım**
- Bölüm 8. Genetik Testler**
- Bölüm 9. Gelecekte Kullanılabilecek Testler: Proteomikler**

Primer İmmün Yetersizlik Tanısında Kullanılan Tarama Testleri

Prof. Dr. Şevket ARSLAN
Doç. Dr. Fatih ÇÖLKESEN

1. GİRİŞ

- İmmünolojik testler istenmeden önce yapılacak ayrıntılı klinik öykü ve fizik muayene ile primer immün yetersizlik (PİY) klinik fenotipi belirlenmelidir.
- Belirlenen klinik fenotip daha ileri immünolojik laboratuvar değerlendirmelere öncü olacaktır.
- İmmün sistemin bir ya da daha fazla komponentindeki kusur araştırılırken immünolojik testler kademeli bir şekilde istenmelidir (1).

2. TAM KAN SAYIMI VE PERİFERİK YAYMA

Tam Kan Sayımı

- Tüm yaş gruplarında PİY şüphesi varlığında ilk yapılacak tarama testi olarak kabul edilmektedir.
- Lökopeni, nötropeni, lökositoz, eozinofili, trombositopeni varlığı PİY'i destekleyen parametrelerdir.
- Lenfopeni (mutlak lenfosit sayısının yetişkinlerde <1500 hücre/ μ L veya bebeklerde <2500 hücre/ μ L olması olarak tanımlanır) önemli bir bulgudur. Mutlak lenfosit sayısı özellikle T lenfosit sayısı hakkında bilgi vermektedir.
- Lenfopeni erken çocukluk döneminde ağır kombine immün yetersizliğin önemli bir bulgusudur.
- Sitopeniler PİY tanısında ilk laboratuvar bulgusu olabilmektedir. Antikor eksikliği ile seyreden PİY hastalarında trombositopeni ilk bulgu olabilir.

- Otoimmün hemolitik ataklar, derin anemi dahil eritrosit parametrelerindeki değişiklikler bununla birlikte atopi ile seyreden eozinofili PİY bulgusu olabilir.
- Bunların aksine çoğu hastada PİY tanısını ekarte ettirmeyen tamamen normal tam kan sayımı da görülebilmektedir (2-4).

Periferik Yayma

- Sekonder ve primer nedenlerin ayırımında önemlidir.
- Nötrofil sayısı ve morfolojisi, trombosit sayısı-büyüklüğü, anemi-hemoliz varlığı, lenfosit sayımı değerlendirilmelidir (3).

3. İMMÜNOGLOBULİNLER

- PİY hastalıklarının önemli bir kısmını antikor eksiklikleri oluşturduğu için immünooglobulin (Ig) A, IgG, IgM, IgE antikor seviyelerinin ölçümü temel testler arasında yer almaktadır. Şüphelenilen her hastada mutlaka bakılmalıdır.
- Ig düzeyleri sağlıklı yaş referanslarına göre değerlendirilmelidir. Değerlendirme yapılırken total protein ve albümin düzeylerine bakılarak Ig düzeylerini etkileyebilecek sekonder nedenler gözden geçirilmelidir.
- Hipogammaglobulinemi, IgG seviyesinin normalin iki standart sapmanın altında olması, agammaglobulinemi ise genellikle IgG <100 mg/dL olarak tanımlanmaktadır.
- Panhipogammaglobulinemi tanısında düşük IgA, IgG ve IgM seviyeleri belirleyicidir.

- Ig düzeylerinin sadece düşüklüğü değil aynı zamanda yüksekliği de PİY ile ilişkili olabilmektedir.
- Selektif IgA eksikliği, selektif IgM eksikliği ve hiper IgM immün yetersizlikleri gibi Ig izotiplerinin profilindeki değişiklikler hümorale olduğu kadar hücresele immün yetersizliklerin de bir işareti olabilir.
- IgE değerinin >2000 IU/ml olması hiper IgE dahil birçok PİY ile ilişkili olabilmektedir.
- Yüksek IgE seviyeleri, sinyal transdüser ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3), interlökin-21 reseptörü (IL-21R), interlökin-6 reseptörü (IL-6R) ve interlökin-6 sinyal transdüseri (IL-6ST) gibi antikor eksikliği ile seyreden PİY'lerin tanımlanmasında faydalıdır.
- Yaygın değişken immün yetersizlik (CVID) fenotipinde sıklıkla çok düşük veya saptanamayan serum IgE <2 IU/ML görülmektedir. Bu durum CVID tanısında diğer hipogammaglobulinemi nedenlerinden ayırmak için kullanılabilir (5-10).

IgG Alt grupları

- IgG alt grupları tarama testleri arasında değildir. IgG alt gruplarının seviyelerinde düşüklük olması durumunda

klirik olarak önemli bir IgG alt sınıf eksikliği tanısı için, tekrarlayan enfeksiyonlar ve aşya karşı yetersiz yanıt şeklinde antikor fonksiyon bozukluğuna ait bulgular gereklidir.

- Sadece IgG alt grup eksikliği olan hastaların çoğu asemptomattır.
- Semptomatik olanların çoğu sinopulmoner enfeksiyonlar ile başvurmaktadır ancak osteomyelit, menenjit, sepsis gibi ciddi durumlar da görülebilmektedir.
- Tekrarlayan enfeksiyon öyküsü olanlarda, aşya yanıtı bozulmuş hastalarda mutlaka IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 seviyeleri değerlendirilmelidir.
- IgA eksikliği IgG2 ve G4 eksikliği ile birlikteliği sık görülmektedir.
- IgG1 eksikliği hipogammaglobulinemi ile daha çok ilişkili olup, CVID komponenti olarak karşımıza çıkmaktadır.
- IgG2 eksikliği çocuklarda, IgG3 eksikliği ise erişkinlerde daha sık görülmektedir.
- IgG4 eksikliği sıklıkla asemptomatik (7, 11).

Tam kan sayımı ve periferik yayma	<ul style="list-style-type: none">* Lenfopeni, nötropele, lökositoz, eozinofili ve trombositopeni gibi kan sayımı anormallikleri PİY'ler ile ilişkili olabileceği gibi kan sayımı tamamen normal olabilir.* Periferik yayma ile PİY ile ilişkili hücrelerde yapısal bozukluklar saptanabilir. Örneğin Wiskott-Aldrich sendromunda trombositopeni ile birlikte küçük trombositler izlenebilir.
IgG, IgA, IgM, IgE	<ul style="list-style-type: none">* Hipogammaglobulinemi ile seyreden antikor eksiklikleri en sık görülen PİY'lerdir.* Bazı hücresele immün yetersizliklere de antikor eksiklikleri eşlik edebilir.
IgG alt grupları	<ul style="list-style-type: none">* Tekrarlayan enfeksiyon ve aşya yanıtının bozulduğu durumlarda istenmelidir.* İmmünolojik değerlendirmenin ilk basamağında istenmesi gerektiğine yönelik görüşler de bulunmaktadır
CH50, AH50	<ul style="list-style-type: none">* Piyojenik ve neisseria enfeksiyonlarında ya da PİY şüphesi olup diğer immün sistem parametrelerinde patoloji yok ise istenmelidir.* CH50 tarama testi olarak kullanılabilir. Spesifik tanıya ulaşmak için AH50 ya da Lektin yolağı değerlendirilir.

Şekil 1. PİY şüphesi olan hastanın değerlendirmesinde ilk basamakta istenecek test

4. CH50, AH50

- Kompleman eksikliklerinde tarama testi olarak klasik yolak için hemolitik kompleman aktivite testi (CH50), alternatif yol için alternatif yolak aktivite testi (AH50) ve manoz bağlayıcı lektin yolağı değerlendirilmelidir.
- Düşüklüğü ya da yokluğu kompleman halkasının herhangi bir noktasındaki defekti göstermektedir.
- Aşağıdakilerden herhangi birine sahip hastalarda klasik kompleman yolu defekti taraması endikedir:
 - ✓ Tam kan sayımı, immünoglobulin düzeyleri ve spesifik antikor yanıtlarının normal olduğu durumlarda tekrarlayan, açıklanamayan piyojenik enfeksiyonlar
 - ✓ Her yaşta tekrarlayan Neisseria enfeksiyonları
 - ✓ Neisseria enfeksiyonu geçirmiş birden fazla aile üyesi
- Kompleman kusurları için ilk tarama testi, klasik yol fonksiyonunu değerlendiren total hemolitik kompleman (CH50) değerlendirilmelidir.
- CH50 değeri önemli ölçüde azalırsa veya sıfır olursa, ayrı ayrı tamamlayıcı bileşenlerin seviyeleri ölçülmelidir. Çoklu bileşenlerin düşük seviyeleri, özellikle düşük C3 ve C4, primer kompleman eksikliğinden ziyade kompleman tüketimini göstermektedir.
- CH50 değeri normale ve hâlâ bir kompleman defektinden şüpheleniliyorsa, alternatif yol kusurları için bir tarama testi olan AH50 kullanılmalıdır (12-14).

KAYNAKLAR

1. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *Clin Immunol* 2022;42(7):1473-507.
2. Sullivan KE. Neutropenia as a sign of immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2019;143:96-100.
3. Feuille EJ, Anooshiravani N, Sullivan KE, Fuleihan RL, Cunningham-Rundles C. Autoimmune cytopenias and associated conditions in CVID: A report from the USIDNET Registry. *J Clin Immunol* 2018;38:28-34.
4. Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, Hsu JT, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136:1186-205.
5. Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, Costa-Carvalho BT, Cunningham-Rundles C, de la Morena MT, et al. International consensus document (ICON): Common variable immunodeficiency disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2016;4(1):38-59.
6. Fleisher TA, Oliveira JB. Functional and molecular evaluation of lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:227-35.
7. Janssen LMA, Reijnen ICGM, Milito C, Edgar D, Chapel H, de Vries E; unPAD consortium. Protocol for the unclassified primary antibody deficiency (unPAD) study: Characterization and classification of patients using the ESID online registry. *PLoS One* 2022;17(3):e0266083.
8. Otani IM, Lehman HK, Jongco AM, Tsao LR, Azar AE, Tarrant TK, et al. Practical guidance for the diagnosis and management of secondary hypogammaglobulinemia: A work group report of the AAAAI primary immunodeficiency and altered immune response committees. *J Allergy Clin Immunol* 2022;149(5):1525-60.
9. Seppänen M, Aghamohammadi A, Rezaei N. Is there a need to redefine the diagnostic criteria for common variable immunodeficiency? *Expert Rev Clin Immunol* 2014;10(1):1-5.
10. Orange JS, Grossman WJ, Navickis RJ, Wilkes MM. Impact of trough IgG on pneumonia incidence in primary immunodeficiency: A meta-analysis of clinical studies. *Clinical immunology*. 2010;137(1):21-30.
11. Pasternak G, Lewandowicz-Urzyńska A, Pentoś K. Analysis of differences between total IgG and sum of the IgG subclasses in children with suspected immunodeficiency - indication of determinants. *BMC Immunol* 2018;19(1):22.
12. Ling M, Murali M. Analysis of the Complement System in the Clinical Immunology Laboratory. *Clin Lab Med* 2019;39(4):579-90.
13. Brodzki N, Frazer-Abel A, Grumach AS, Kirschfink M, Litzman J, Perez E, et al. European Society for Immunodeficiencies (ESID) and European Reference Network on Rare Primary Immunodeficiency, Autoinflammatory and Autoimmune Diseases (ERN RITA) Complement Guideline: Deficiencies, diagnosis, and management. *J Clin Immunol* 2020;40(4):576-91.
14. Wen L, Atkinson JP, Giclas PC. Clinical and laboratory evaluation of complement deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113(4):585-93.

Aşı Yanıtı ve İzohemaglutininler

Doç. Dr. Şengül BEYAZ

Doç. Dr. Semra DEMİR

1. AŞI YANITI

Bağışıklığın doğuştan kusurları/Primer immün yetersizlikler (PİY) en yaygın belirtiler enfeksiyonlar olsa da son yıllarda, PİY'in yalnızca sık veya ciddi enfeksiyonlarla değil, aynı zamanda bazı bulaşıcı ajanlara karşı spesifik duyarlılıkla da ilişkili olduğu bildirilmiştir (1). PİY aynı zamanda enfeksiyöz olmayan belirtilerle de (otoimmünite, otoenfeksiyon, şiddetli allerjiler, lenfoproliferasyon, malignite) ortaya çıkabildiğinden hastalıkların hepsi bozulmuş antikor üretimiyle ilişkili değildir (1, 2). Klinik belirtilerin çeşitliliği nedeniyle, PİY tanısında laboratuvar testlerinin hastanın klinik fenotipi ve başlangıç değerlendirmesine uygun şekilde yönlendirilmesi önem arz etmektedir (3). Bu açıdan, tanı için testler; tarama testleri, ileri düzey testler ve moleküler tanı testleri olarak sınıflanmaktadır. Basit bir kan sayımı ve immünoglobulin (Ig) düzeylerinin ölçümü ile başlayarak, yeni nesil dizileme tekniği ile ekzom veya tüm genom dizilemesine doğru bir sıra takip edilerek tanıya gidilmektedir (3, 4).

Antikor eksiklikleri en sık karşılaşılan PİY olarak karşımıza çıkmaktadır (1, 5). Hümorale bağışıklığın değerlendirilmesi, immünolojik testlerin yapılabildiği merkezlerde kolaylıkla yapılabilmektedir.

Antikor eksikliklerinde üç bileşen değerlendirilmelidir (5):

- IgA, IgG, IgM ve IgE serum seviyeleri
- Protein ve polisakkarit antijenlerine karşı aşı yanıtları, izohemaglutininler ve
- B hücre sayımı ve B hücre alt gruplarının belirlenmesidir.

İmmünoglobulin seviyeleri antikorların genel kantitatif miktarını ölçerken, aşılara antikor yanıtı her antijene verilen kantitatif spesifik antikor yanıtını göstermektedir. Özellikle tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonları içeren bir tıbbi öykü varlığında ve/veya normal ve/veya azalmış immünoglobulin seviyeleri saptandığında hem birincil B hücre kusurları hem de kombine hücre ve hümorale bozuklukların tespiti için spesifik antikor üretiminin değerlendirilmesi son derece yararlıdır (5-7). *In vivo* spesifik antikor yanıtlarının ölçümü, kusurlu antikor üretimini doğrulamanın yanında yaygın değişken immün yetersizlik (CVID) de dahil olmak üzere belirli PİY'lerin tanısını koyabilmek için bir kriterdir (6).

Spesifik antikor yanıtlarını değerlendirmenin en basit yolu,

- Doğal/spontan spesifik antikorların (izohemaglutininler) ölçümünün yanı sıra
- Hastanın aşılama ve enfeksiyon geçmişi de dikkate alınarak aşılama öncesi ve aşılama sonrası 4-8 hafta sonra serum antikor üretiminin ölçülmesidir (6-10).

Hümorale immün yanıtın oluşmasına neden olan antijenler T hücresine bağımlı (tetanoz ve difteri gibi) ve bağımsız (saf pnömokok polisakkarit gibi) olarak sınıflanmaktadır (2). Bu nedenle, polisakkarit antijenleri, protein antijenleri ve polisakkarit-konjuge-protein antijenlerini içeren aşılama ayrı ayrı ele alınmalıdır. Çünkü ilk tipte yalnızca B lenfosit yanıtı yer alırken (T-bağımsız), kombine B ve T hücresi yanıtları son iki tipte yer alır (8). T-bağımlı ve bağımsız antijenlere antikor yanıtlarını ayıran bir diğer özellik ise immünolojik hafızadır (2). T-bağımlı antijenlere çok güçlü bir immünolojik hafıza gelişirken T-bağımsız antijenlere daha zayıf bir hafıza gelişmektedir. Hatta T-bağımsız

antijenlere karşı gelişen hafıza kişinin yaşına ve genetik yapısına bağlı olarak 6 ay - 5 yıl sonra önemli ölçüde azalmaktadır (2). T-bağımlı antijenler bebeklerde immünojenik iken T-bağımsız antijenler 6 aydan küçüklerde immün yanıt oluşturmaz ve 6-12 aylık bebeklerde ise tutarlı bir yanıt söz konusu değildir (2, 11, 12). İmmün yetersizliği olan bir hastada T-bağımlı ve/veya T-bağımsız antijenlerden biri veya her ikisine karşı antikor yanıtı etkilenebilir bu nedenle olası immün yetersizlik taramasında her iki antijen tipine karşı yanıtın değerlendirilmesi önemlidir (9, 10). Unutulmaması gereken bir diğer nokta da klinik uygulamada T-bağımlı yanıtta seçici bir eksikliğin bulunması sık karşılaşılan bir durum değildir (2).

Klinik uygulamada aşılama sonrası antikor üretimi değerlendirilirken yalnızca IgG dikkate alınmaktadır. IgM esas olarak birincil yanıtta üretilirken aşı antijenlerine yanıt olarak üretilen IgA, konakçının korunmasında önemli olsa da popülasyon düzeyindeki çalışmalar azdır ve aşılama sonrası IgA ölçümü henüz herhangi bir antijen için rutin değildir (2, 13). Aşı yanıtlarını değerlendirirken dikkate alınması gereken durumlardan bazıları Tablo 1’de özetlenmiştir.

Tutarlılık açısından mümkünse aşılama öncesi ve sonrası ölçümler aynı laboratuvarda yapılmalıdır (14). Bir diğer önemli durum ise yaştır, çünkü sadece antikor yanıtının yeterliliği açısından değil daha önceki maruziyetler açısından da önemlidir ve ilk tarama için kişinin daha önce almış olduğu aşılarla bulunan antijenlere yönelik antikor konsantrasyonlarının değerlendirilmesi en doğru yol olacaktır (9, 10). Aşılama kayıtları aşı yanıtlarının yorumlanmasında önemlidir. Uzun yıllardır aşılanmamış bir yetişkinde rapel sonrası yanıt daha düşük iken yakın zamanda rutin aşısı yapılmış çocuklarda belirgin bir yanıt gözlenmektedir. Ayrıca ülkedeki rutin aşılama takvimini bilmek sonuçları yorumlamada önemlidir (Tablo 2). Serokonversiyon, bağışıklama veya doğal enfeksiyon sonrası laboratuvar testiyle tespit edilebilecek kadar yeterli ya da koruyucu bir seviyeye ulaşan antikor üretimidir. Tarama sırasında bir hastada yüksek serokonversiyon oranına sahip bir aşıya karşı düşük antikor konsantrasyonu saptanırsa hümmoral immünitede bozukluk olasılığı daha yüksektir (2). Hümmoral tepkinin bir diğer önemli unsuru da aşılama öncesi ve sonra konsantrasyondaki veya titredeki “kat artış” durumudur (15). Sıklıkla aşılama öncesi 4-8 hafta sonra saptanan 2-4 katlık bir artış pozitif aşı yanıtı olarak kabul edilmektedir (16, 17).

1.1. Protein Yapıdaki Antijenlere (Tetanoz Toksoidi, Difteri Toksoidi ve Kızamık/Kabakulak Serolojileri vb.) Yanıt

Proteinlere karşı spesifik antikor üretimi eksikliği, genellikle tetanoz ve difteri toksoidleri olmak üzere iki veya daha fazla (boğmaca, kızamık, kabakulak ve kızamıkçık aşılı) T-bağımlı aşıya karşı koruyucu IgG yanıtının olmamasıyla gösterilmektedir (10, 18). Bu iki aşının tercih edilmesinin sebebi, güçlü immünojeniteleri ve klasik üç dozluk aşılama programıyla dünya çapında tüm bebeklere altı aya kadar uygulanmalarının değerlendirmeyi ideal kılmasıdır (19).

Tablo 1: Antikor ölçümünün yorumlanmasında dikkate alınması gereken önemli unsurlar (2)

Aşı tipi	T-bağımlı, T-bağımsız, Konjuge
Yaş	Çok genç ve yaşlılarda azalmış yanıt
Aşılama öyküsü	Doz sayısı, “booster” etkisi, aşılar arasındaki etkileşim, neoantijenler
İmmünojenite	Sağlıklı bir popülasyonda serokonversiyon yüzdesi
Aşı öncesi ve sonrası ölçüm	Titre veya konsantrasyondaki kat artış

Tablo 2: TC. Sağlık Bakanlığı çocukluk dönemi aşı takvimi, 2020 güncellemesi

Zaman	Aşı
Doğumda	Hepatit B
1. ayın sonu	Hepatit B
2. ayın sonu	BCG (verem), DaBT-İPA-Hib, KPA
4. ayın sonu	DaBT-İPA-Hib, KPA
6. ayın sonu	Hepatit B, DaBT-İPA-Hib, OPA
9. ayın sonu	KKK (id)
12. ayın sonu	KPA (r), Su çiçeği
18. ayın sonu	DaBT-İPA-Hib (r), OPA, Hepatit A
24. ayın sonu	Hepatit A
48. ayın sonu	KKK, DaBT-İPA (r)
13 yaş	Td (r)

DaBT-İPA-Hib: Difteri, Boğmaca, Tetanoz, Çocuk Felci, H. İnfluenza tip B aşısı, **KPA:** Konjuge pnömokok aşısı, **OPA:** oral polio aşısı, **KKK:** kızamık, kızamıkçık, kabakulak aşısı, **id:** ilave doz (salgın riski olan bölgelerde 9. ve 11. aylarda ilave doz kızamık veya KKK uygulaması), **r:** rapel, **Td:** erişkin tipi difteri-tetanoz aşısı (aşı takvimi güncellemeleri <https://asi.saglik.gov.tr/asi/> adresinden takip edilebilir)

- Tetanoz ve difteri için 0.1 ila 0.2 IU/mL'in üzerindeki titreler koruyucu kabul edilmekte ve serokonversiyon oranları ikinci veya üçüncü dozdan bir ay sonra %100'e yaklaşmaktadır (2, 5).
- Tamamen bağışıklanmış olduğu bilinen bir bireyde tarama sırasında tetanoz veya difteriye yetersiz yanıt, bozulmuş antikor yanıtının muhtemel bir işaretidir, bir rapel dozu uygulanmalı ve yanıt yukarıda anlatıldığı gibi belirlenmelidir (8).

Bazı diğer protein antijenlere karşı aşı yanıtları net belirlenmiş koruyucu düzeyleri bilindiği için immün yetersizlik tanı testleri için uygundur. Örneğin, Hepatit A, inaktif çocuk felci ve influenza gibi inaktif canlı virüslerle veya hepatit B gibi rekombinant antijenlerle aşılama daha güvenli olduğundan immün yetersizlik taramasında tüm hastalar için kullanılabilir (8). Bunun aksine, kızamık, kabakulak, çocuk felci (oral) ve kızamıkçık gibi canlı antijenlere sahip, zayıflatılmış virüslerle yapılan aşılarda daha dikkatli olunmalıdır (8).

- Kızamık ve kabakulak aşısı sonrası antikor yanıtları da immün yetersizlik araştırmasında yaygın olarak kullanılmaktadır ve >1.1 enzim uluslararası birim/mL (EIU/

mL) düzeyleri yeterli kabul edilmekte olup, ikinci dozdan sonra %100 serokonversiyon oranları sunmaktadır (2).

Protein kaybı söz konusu olmadığında çok düşük serum IgG seviyeleri (2 g/L veya daha az) saptanan kişiler için kapsamlı spesifik antikor testi gerekli değildir. Bu hastalarda ciddi bir hümmoral immün yetersizlik hâlihazırda gösterilmiştir ve koruyucu antikor yanıtı saptanma olasılığı düşüktür (9, 20). İmmün yetersizlik araştırmasında kullanılanları önerilen protein antijenlerine karşı antikorların koruyucu seviyeleri Tablo 3'de gösterilmiştir (2).

1.2. Polisakkarit Yapıdaki Antijenlere (*S. Pneumoniae*, *H. İnfluenza tip B*) Yanıt

Pnömonok aşı yanıtlarının yorumlanması biraz karmaşıktır çünkü aşılarda polivalandır ve birden fazla serotip veya suştan kapsüller polisakkaritler içermektedir.

- Polisakkarit antijenlere karşı antikor yanıtı, genellikle konjuge olmayan pnömonok polisakkarit aşısına (PPV) verilen yanıtların test edilmesi ve aşılardan önceki ve aşılardan 4-8 hafta sonraki seviyelerin karşılaştırılması yoluyla gösterilmektedir (3, 7, 10).

Tablo 3: Rutin kullanımdaki aşı antijenleri ve koruyucu seviyeleri (2, 10)

Antijen	Aşı tipi	T-Bağımlı veya bağımsız	Koruyucu seviye
Tetanoz toksoid	Protein	T-bağımlı	0.1 IU/mL
Asellüler pertussis	Protein	T-bağımlı	BY
Difteri toksoid	Protein	T-bağımlı	0.1 IU/mL
Hepatit A	İnaktive virüs	T-bağımlı	20 mIU/mL
Hepatit B	Rekombinant protein	T-bağımlı	>10 mIU/mL
Hib	Polisakkarit konjugat	T-bağımlı	1 µg/mL
HPV	Rekombinant protein	T-bağımlı	BY
İnfluenza	İnaktive virüs	T-bağımlı	BY
Meningokok kapsüller polisakkarit	4 valanlı konjuge polisakkarit (tip A, C, W, Y)	T-bağımlı	>1:8 (2 µg/mL)
Meningokok kapsüller polisakkarit	2 valanlı konjuge polisakkarit (tip B)	T-bağımlı	>1:8 (2 µg/mL)
Pnömonokal kapsüller polisakkarit	13 valanlı konjuge polisakkarit (Pneumovax®)	T-bağımlı	³0.35 µg/mL
Pnömonokal kapsüller polisakkarit	23 valanlı saf polisakkarit (Pneumovax 23®)	T-bağımsız	≥1.3 µg/mL
Poliovirüs	İnaktive virüs	T-bağımlı	>1:4
Kızamık	Atenüe virüs	T-bağımlı	>1.1 EIU/mL
Kabakulak	Atenüe virüs	T-bağımlı	>1.1 EIU/mL
Rota virüs	Atenüe virüs	T-bağımlı	Rotavirüs IgA>20U/mL
Varisella	Atenüe virüs	T-bağımlı	5 gpELİSA U/mL

BY: bilgi yok. Koruyucu seviye tanımlanmamış veya antijen immün yetersizlik tanısı veya terapötik izleme için kullanılmamaktadır.

Saf polisakkarit pnömokok aşısı (Penumovax 23®) kullanımında olan 23 farklı serotip içeren T-bağımsız bir aşıdır.

- Bu aşıya yanıtın değerlendirilme kriterleri (10, 17);
 - 2-5 yaş arası çocuklarda test edilen serotiplerin %50 veya daha fazlasına ve
 - 6-65 yaş arası kişiler için test edilen serotiplerin en az %70'ine karşı

titrelerde en az 2 kat artış (bu seviyeler $\geq 1.3 \mu\text{g/mL}$ gibi koruyucu bir değerin üzerinde olmak koşulu ile) şeklinde belirtilmiştir.

İki yaş altında polisakkarit antijenlere antikor yanıtının değerlendirilmesi güvenilir olmadığından yetersiz yanıt durumunda hasta büyüdüğünde testin tekrarlanması düşünülebilir (5).

Spesifik antikor eksikliği (SAE) tanısı genel olarak PPV aşısına yetersiz yanıtın gösterilmesine dayanmaktadır (9, 21, 22). Yani, PPV aşısına yanıt yetersizse ancak protein antijenlere, konjuge aşılarla veya her ikisine birden yanıt var ve immünoglobulin düzeyleri normale spesifik antikor eksikliği tanısı konulabilir (10).

SAE tanısında polisakkarit yanıtınsızlığının derecesi 4 fenotip-te sınıflandırılmaktadır (10);

- 1- Hafıza fenotip:** Bu kişiler PPV'ye karşı yeterli bir yanıtta sahiptir ancak bu yanıtı 6 ay içinde kaybederler. Bir yıl sonra ikinci bir PPV uygulamasına yanıt verebilirler.
- 2- Hafif fenotip:** Çoklu serotiplere karşı koruyucu titrelerin oluşturulamaması ($\geq 1.3 \mu\text{g/mL}$) veya serotiplerin %50-%70'inde (yaşa göre) 2 kat artış sağlanamaması durumudur.
- 3- Orta fenotip:** Üç veya daha fazla serotipe karşı koruyucu titreler vardır ancak yaşa göre beklenenin altındadır (6-65 yaş için $< 70\%$, < 6 yaş için 50%).
- 4- Ağır fenotip:** Bu hastaların en fazla 2 serotipe karşı koruyucu titreleri vardır ve varsa da titre düşük olma eğilimindedir ($< 1.3-2.0 \text{ mg/mL}$).

Öte yandan, polisakkarit aşıların immünojenitelerinin düşük olması nedeni ile antikor üretimini artırmak için bir protein veya glikoprotein taşıyıcıya konjuge edilirler. Bu yapıdaki bir aşı olan, onaylı ve rutin kullanımında olan 13 valanlı pnömokok aşısı (Prennar®) T-bağımlı yanıt oluşturur ve koruyucu serotip spesifik antikor düzeyi $\geq 0.35 \mu\text{g/}$

mL'dir (2). Serokonversiyon oranları serotipe bağlıdır ve konsantrasyon artışı serotipe göre 2 ila 35 kat arasında geniş bir ölçüde değişiklik göstermektedir ve ayrıca sağlıklı çocukların çoğu 13 tipin tamamına da yanıt vermemektedir (23, 24). İmmün yetersizlik tanısında konjuge pnömokok aşılarla karşı antikor yanıtlarının ölçülmesinin rolü belirlenmemiştir (9, 10). Ek olarak, daha önce konjuge bir preparatla aşılanan bir kişide saf polisakkarit aşı yanıtı yapılmış olan konjuge aşının içinde olmayan serotiplere yanıtın değerlendirmesini gerektirir (5, 25).

Yine konjuge bir aşı olan poliribosil ribitol fosfata (PRP, Hib'nin kapsüler polisakkariti) yönelik antikorlar, pnömokok serotiplerine karşı antikorlarla birlikte değerlendirilebilir (2). T-bağımlı yanıt veren konjuge Hib PRP'de serokonversiyon oranı yüksek olsa da bazı çocuklarda yanıt gözlenmeyebilir. Taramada düşük titre saptandığında booster doz yapılmalı ve 4 hafta sonra titre yeniden değerlendirilmeli, serokonversiyon saptanmazsa bağışıklık yetersizliği göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak PRP'ye karşı antikorların ölçümü yalnızca 2 yaşa kadar önemlidir çünkü ek aşılama endike değildir ve taramada kullanılacak diğer aşılar vardır (2, 9, 10). Bir diğer olumsuz yanı ise aşılanmamış gruplar ile rutin aşılarının bir parçası olarak Hib yaptıran gruplar arasında antikor titreleri açısından büyük farklılıklar vardır (10).

İmmün yetersizlik araştırmasında kullanımları önerilen polisakkarit antijenlerine karşı antikorların koruyucu seviyeleri Tablo 3'de gösterilmiştir (2).

1.3. Neoantijenlere Yanıt

Neoantijenler, insanların enfeksiyon, rutin aşılama, çevresel temas veya sindirim yoluyla maruz kalmadığı immünojenik moleküllerdir. Bir neoantijenin bir bireye uygulanması, aynı antijene verilen birincil, ikincil, üçüncül vb. yanıtların ölçülmesine olanak sağlamaktadır (2). Bu durum klinik pratikte pek kullanılsa da neoantijen antikoru terapötik IgG'de bulunmadığından, immünoglobülin replasman tedavisi almakta olan hastalarda antikor yanıtlarını değerlendirmek için neoantijen immünizasyonu kullanılabilir (10, 26). Neoantijen aşılması esas olarak immün yetersizlik araştırma çalışmalarında humoral tepkinin fonksiyonel bozukluğunu tam olarak karakterize etmek için kullanılmıştır (10, 26).

Bakteriyofaj PhiX174 veya anahtar deliği deniz salyangozu hemosiyinin gibi neoantijenlerle aşılar veya daha yaygın olarak bulunabilen kuduz virüsü veya *Salmonella typhi*

aşılı çoğunlukla araştırma protokollerinde kullanılmıştır (6, 10, 26-29). *Salmonella typhi* kapsüler polisakkarit aşısı yakın zamanda immünoglobulin replasman ürünlerinde bu aşıya karşı genel olarak antikor bulunmaması nedeni ile immünoglobulin replasmanı alan hastalarda antikor eksikliğini değerlendirmede alternatif bir araç olarak önerilmiştir (25, 26). *S. typhi* Vi aşısına normal yanıt, aşılama sonrası anti-*S. typhi* Vi IgG $\geq 11,2$ U/ml ve ≥ 2 kat artış olarak tanımlanmaktadır (aşılama öncesi titre ≥ 100 U/ml olmadığı sürece) (30). Kuduz virüsü aşısı da immünoglobulin replasman tedavisi alan hastalarda hümorale bağışıklığı değerlendirmek için bir neoantijen olarak kullanılabilir (koruyucu seviye 0.5 IU/mL'dir) ancak tanısız değerlendirmede rolünün kuvvetlenmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır (10).

1.4 Aşı Yanıtlarının Değerlendirmesinde Kullanılan Yöntemler

PİY tanısında aşı yanıtlarının değerlendirilmesi önemli bir bileşen olup bu yanıtları değerlendirmede kullanılan farklı yöntemler mevcuttur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), aşı yanıtını değerlendirmek için çeşitli standartlaştırılmış Enzime Bağlı İmmünosorbent Testleri (ELISA) üretmektedir ve bunlar, antijene spesifik yanıtlar için altın standart olarak kabul edilmektedir (31). Ayrıca Luminex xMap™ teknolojisi (Luminex boncuk-bazlı analizler), radyoimmünoanalizler (RIA), opsonofagositoz analizleri ve kemilüminesans analizlerini içeren multipleks teknolojiler de mevcut ELISA yöntemine alternatif sağlanmaktadır (32-35).

2. İZOHEMAGLUTİNİNLER

Allohemaglutinin olarak da bilinen izohemaglutininler eritrositlerin yüzeyinde bulunan, kan grubu olarak bilinen A ve/veya B antijenlerine karşı doğal olarak gelişen antikorlardır. Bu antijenleri eritrositlerinin yüzeyinde taşımayan bireylerde gelişmektedirler. Yani, B kan grubu birinde anti-A, A kan grubu bireyde anti-B, O kan grubu bir bireyde anti-A, anti-B ve anti A, B antikorları üretilmektedir. AB kan grubu bireylerin kanında ise bu antikorlar bulunmamaktadır. H antijenine sahip olmayan Bombay fenotipi (AB negatif) aynı zamanda) bireylerde anti-A, anti-B, anti A, B ve anti-H antikorları bulunmaktadır (36). Dr. Karl Landsteiner tarafından 1900'lerin başında tanımlanmıştır ve Landsteiner yasası olarak literatüre geçmiştir (37).

İzohemaglutininler yeni doğanda bulunmaz, bebekler 3-6 aylık iken kanda tespit edilebilmektedir ve maksimum düzeye 5-10 yaşlarında ulaşmaktadır (38). İzohemaglu-

tinler polisakkarid yapıya karşı yanıt oluşturabilme kapasitesinin bir göstergesi olarak kullanılabilir (5). Özellikle, infantlarda ve aşılamanın reddedilmesi gibi pnömokok aşısı yanıtının bakılmadığı durumlarda alternatif olarak yol gösterici olabilmektedir (5). Çoğunlukla IgM tipinde olan izohemaglutininlerin IgG ve IgA tipleri de üretilebilmektedir (36). İzohemaglutininlerin oluşum mekanizması henüz net olarak bilinmemektedir (5). Farklı iki mekanizma üzerinde durulmaktadır. İlki, bağırsaktaki bakteriyel antijenlere yanıt olarak adaptif immün mekanizmalarla geliştiği yönündedir. Springer ve ark. tavuklarda bakteriyel maruziyet ile bakteri yüzeyindeki çapraz-reaktif antijene karşı anti-A ve anti-B üretilerek yanıt geliştiğini göstermişlerdir (39). Diğer taraftan, birçok çalışmada da yeni doğanlarda maternal kaynaklı olmayan izohemaglutininlerin varlığı gösterilmiştir (36). Öncesinde antijen ile uyarılma gerektirmeyen ve T hücreden bağımsız gelişen doğal antikorların üretiminden sorumlu B lenfositlerin alt tipi olan B1 hücrelerinin izohemaglutinin üretiminde rol aldığı düşünülmektedir (36).

Polisakkarid spesifik IgG üretiminde bozukluktan şüphelenildiği durumlarda izohemaglutininlerin varlığı araştırılabilir (5). CVID tanı kriterlerinde izohemaglutininlerin yokluğunun gösterilmesi destekleyici laboratuvar bulgusu olarak geçmektedir (40). Pratik, ucuz ve noninvaziv bir teknik olmakla beraber retrospektif bir analizde polisakkarit antikor üretim bozukluğu olanlarda izohemaglutininlerin test edilmesinin tanısız doğruluğunun düşük olduğu gösterilmiştir. Anti-A IgG ve anti-B IgG 1/32 titre eşik değerlerinin sensitivitesi sırasıyla %58 ve %68, 1/16 titre de ise %41 ve %43 bulunmuştur (41). Başka bir çalışmada, 180 hastada izohemaglutinin ve pnömokok aşısı yanıtı birlikte değerlendirilmiş ve yine sensitivite ve spesifite düşük bulunmuştur. Yazarlar, immün yetersizlikten şüphelenilen hastada izohemaglutininlerin polisakkarid antikor yanıtını değerlendirmede yetersiz olduğu sonucuna varmışlardır (41). Bununla birlikte, hangi tip izohemaglutinin (IgM?, IgG?) daha önemli olduğuna dair bir konsensus da bulunmamaktadır (41).

İzohemaglutininlerin yetersiz olduğunu saptayacak cut-off değeri tam olarak bilinmemektedir. Birçok laboratuvar 1/32 ya da 1/16 olarak kabul ederken immünologlar 3 yaş altı çocuklarda 1/8, 3 yaş üstünde ise 1/16 değerinin altını immün yetersizlik için anlamlı kabul etmektedir (8, 41).

İzohemaglutininler antikor titrasyonu teknikleri olan jel kart ya da tüp aglutinasyon teknikleri kullanılarak sapt-

nabilmektedir (42). Bu teknikler üreticiye bağlı olarak tam ya da yarı otomatik olarak uygulanabilmektedir. Anti-A IgM ya da IgG titrasyonlarını belirlemek için jel kart aglütinasyon (Bio-Rad DiaMed) yöntemi yaygın olarak tercih edilmektedir. Serumlu ya da serumsuz eritrositlerin porlu dekstran ya da poliakrilamid jel üzerinden belirlenmiş inkübasyon setlerinde kontrollü santrifüj esasına dayanmaktadır. Jel bir süzgeç görevi görerek aglütine olmayan hücrelerin alta geçmesini sağlarken aglütine olmuş hücreler kolon boyunca farklı alanlarda kalırlar. %0.8'lik eritrosit ve düşük iyonik güçte solüsyon (LISS) süspansiyonu reaksiyon odacıklarına dağıtıldıktan sonra üzerine hastanın serum örneğinden eklenmekte ve inkübe (37°C, 15 dk) edildikten sonra santrifüj edilmektedir (1000 rpm, 10 dk). Sonuçta ortaya çıkan reaksiyonlar kaydedilmektedir. Seri dilüsyonlar yapılarak titrasyon belirlenmektedir (43).

KAYNAKLAR

1. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, Al-Herz W, et al. The 2022 update of IUIS phenotypical classification for human inborn errors of immunity. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1508-20.
2. AF B. Vaccination of immune-deficient patients. In: Sullivan KE SE, editor. *Stiehm's Immune Deficiencies: Inborn Errors of Immunity*. Second ed. 2020;1157-73.
3. Grumach AS, Goudouris ES. Inborn errors of immunity: how to diagnose them? *J Pediatr (Rio J)* 2021;97 Suppl 1(Suppl 1):S84-S90.
4. Cordero E, Goycochea-Valdivia W, Mendez-Echevarria A, Al-lende LM, Alsina L, Bravo Garcia-Morato M, et al. Executive summary of the consensus document on the diagnosis and management of patients with primary immunodeficiencies. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)* 2020;38(9):438-43.
5. Marsh RA, Orange JS. Antibody deficiency testing for primary immunodeficiency: A practical review for the clinician. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2019;123(5):444-53.
6. Rosenzweig SD KL, Fleisher TA. Laboratory evaluation of primary immunodeficiency disorders. In: Sullivan KE SE, editor. *Stiehm's immune deficiencies: inborn errors of immunity*. Second ed: Elsevier; 2020;115-31.
7. Cunningham-Rundles C. WK. Hypogammaglobulinemia and common variable immune deficiency. In: Sullivan KE. SE, editor. *Stiehm's immune deficiencies: inborn errors of immunity*. Second ed: Elsevier; 2020;467-97.
8. Perazzo SF, Palmeira P, Moraes-Vasconcelos D, Rangel-Santos A, de Oliveira JB, Andrade LEC, et al. A critical review on the standardization and quality assessment of nonfunctional laboratory tests frequently used to identify inborn errors of immunity. *Front Immunol* 2021;12:721289.
9. Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, Hsu JT, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(5):1186-205.e1-78.
10. Orange JS, Ballow M, Stiehm ER, Ballas ZK, Chinen J, De La Morena M, et al. Use and interpretation of diagnostic vaccination in primary immunodeficiency: A working group report of the Basic and Clinical Immunology Interest Section of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(3 Suppl):S1-24.
11. Balloch A, Licciardi PV, Russell FM, Mulholland EK, Tang ML. Infants aged 12 months can mount adequate serotype-specific IgG responses to pneumococcal polysaccharide vaccine. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(2):395-7.
12. Bossuyt X, Borgers H, Moens L, Verbinnen B, Meyts I. Age- and serotype-dependent antibody response to pneumococcal polysaccharides. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(4):1079-80; author reply 1080-1.
13. Patel M, Glass RI, Jiang B, Santosham M, Lopman B, Parashar U. A systematic review of anti-rotavirus serum IgA antibody titer as a potential correlate of rotavirus vaccine efficacy. *J Infect Dis* 2013;208(2):284-94.
14. Whaley MJ, Rose C, Martinez J, Laher G, Sammons DL, Smith JP, et al. Interlaboratory comparison of three multiplexed bead-based immunoassays for measuring serum antibodies to pneumococcal polysaccharides. *Clin Vaccine Immunol* 2010;17(5):862-9.
15. CA. S. Vaccine Immunology. In: Plotkin SA. OW, Offit PA., Edwards KM., editor. *Plotkin's Vaccines*. Seventh ed. 2018;16-34.
16. Go ES, Ballas ZK. Anti-pneumococcal antibody response in normal subjects: A meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98(1):205-15.
17. Sorensen RU, Leiva LE, Javier FC 3rd, Sacerdote DM, Bradford N, Butler B, et al. Influence of age on the response to Streptococcus pneumoniae vaccine in patients with recurrent infections and normal immunoglobulin concentrations. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102(2):215-21.
18. Wolf HM, Thon V, Litzman J, Eibl MM. Detection of impaired IgG antibody formation facilitates the decision on early immunoglobulin replacement in hypogammaglobulinemic patients. *Front Immunol* 2015;6:32.
19. Chouksey AK, Berger M. Assessment of protein antibody response in patients with suspected immune deficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008;100(2):166-8.
20. Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, Costa-Carvalho BT, Cunningham-Rundles C, de la Morena MT, et al. International consensus document (ICON): Common variable immunodeficiency disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2016;4(1):38-59.
21. Soininen A, Lahdenkari M, Kilpi T, Makela PH, Kayhty H. Antibody response to pneumococcal capsular polysaccharides in children with acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21(3):186-92.
22. Stiehm ER, Roberts RL, Kaplan MS, Corren J, Jaracz E, Rico MJ. Pneumococcal seroconversion after vaccination for children with atopic dermatitis treated with tacrolimus ointment. *J Am Acad Dermatol* 2005;53(2 Suppl 2):S206-13.

23. Kieninger DM, Kueper K, Steul K, Juergens C, Ahlers N, Baker S, et al. Safety, tolerability, and immunologic noninferiority of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine given with routine pediatric vaccinations in Germany. *Vaccine* 2010;28(25):4192-203.
24. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Licensure of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) and recommendations for use among children - Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59(9):258-61.
25. Sorensen RU. A critical view of specific antibody deficiencies. *Front Immunol* 2019;10:986.
26. Bausch-Jurken MT, Verbsky JW, Gonzaga KA, Elms NP, Hintermeyer MK, Gauld SB, et al. The use of Salmonella typhim vaccine to diagnose antibody deficiency. *J Clin Immunol* 2017;37(5):427-33.
27. Ochs HD, Buckley RH, Kobayashi RH, Kobayashi AL, Sorensen RU, Douglas SD, et al. Antibody responses to bacteriophage phi X174 in patients with adenosine deaminase deficiency. *Blood* 1992;80(5):1163-71.
28. Kondratenko I, Amlot PL, Webster AD, Farrant J. Lack of specific antibody response in common variable immunodeficiency (CVID) associated with failure in production of antigen-specific memory T cells. *MRC Immunodeficiency Group. Clin Exp Immunol.* 1997;108(1):9-13.
29. Brinkman DM, Jol-van der Zijde CM, ten Dam MM, Vossen JM, Osterhaus AD, Kroon FP, et al. Vaccination with rabies to study the humoral and cellular immune response to a T-cell dependent neoantigen in man. *J Clin Immunol* 2003;23(6):528-38.
30. Schaballie H, Bosch B, Schrijvers R, Proesmans M, De Boeck K, Boon MN, et al. Fifth percentile cutoff values for antipneumococcal polysaccharide and anti-Salmonella typhi Vi IgG describe a normal polysaccharide response. *Front Immunol* 2017;8:546.
31. Hlongwa L, Peter J, Mayne E. Value of diagnostic vaccination in diagnosis of humoral inborn errors of immunity. *Hum Immunol* 2023;84(5-7):337-41.
32. LaFon DC, Nahm MH. Measuring immune responses to pneumococcal vaccines. *J Immunol Methods* 2018;461:37-43.
33. Pavliakova D, Giardina PC, Moghazeh S, Sebastian S, Koster M, Pavliak V, et al. Development and validation of 13-plex luminex-based assay for measuring human serum antibodies to streptococcus pneumoniae capsular polysaccharides. *mSphere.* 2018;3(4):e00128-18.
34. Pickering JW, Martins TB, Schroder MC, Hill HR. Comparison of a multiplex flow cytometric assay with enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of antibodies to tetanus, diphtheria, and Haemophilus influenzae Type b. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9(4):872-6.
35. Lal G, Balmer P, Joseph H, Dawson M, Borrow R. Development and evaluation of a tetraplex flow cytometric assay for quantitation of serum antibodies to Neisseria meningitidis serogroups A, C, Y, and W-135. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11(2):272-9.
36. Branch DR. Anti-A and anti-B: what are they and where do they come from? *Transfusion* 2015;55 Suppl 2:S74-9.
37. Andersen J. Weak atypical B-like character in the blood cells of a group A person. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1960;48:280-8.
38. Perazzio SF, Palmeira P, Moraes-Vasconcelos D, Rangel-Santos A, de Oliveira JB, Andrade LEC, et al. A critical review on the standardization and quality assessment of nonfunctional laboratory tests frequently used to identify inborn errors of immunity. *Front Immunol* 2021;12:721289.
39. Springer GF HR. Blood group isoantibody stimulation in man by feeding blood group-active bacteria. *J Clin Invest* 1969;48(7):1280-91.
40. Seidel MG, Kindle G, Gathmann B, Quinti I, Buckland M, van Montfrans J, et al. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) registry working definitions for the clinical diagnosis of inborn errors of immunity. *J Allerg Clin Immun-Pract* 2019;7(6):1763-70.
41. Schaballie H, Vermeulen F, Verbinnen B, Frans G, Vermeulen E, Proesmans M, et al. Value of allohaemagglutinins in the diagnosis of a polysaccharide antibody deficiency. *Clin Exp Immunol* 2015;180(2):271-9.
42. Kumlien G, Wilpert J, Säfwenbergl J, Tydén G. Comparing the tube and gel techniques for ABO antibody titration, as performed in three European centers. *Transplantation* 2007;84(12):S17-S9.
43. Dubey R, Biswas AK, Asthana B, Pawar AA, Dimri U, Baranwal AK. Comparing red cell alloantibody detection and titration by gel microcolumn agglutination method with conventional tube in Rh-negative antenatal cases. *Medical Journals Arm Forces India* 2023;01(012).

Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları

Prof. Dr. Neslihan EDEER KARACA

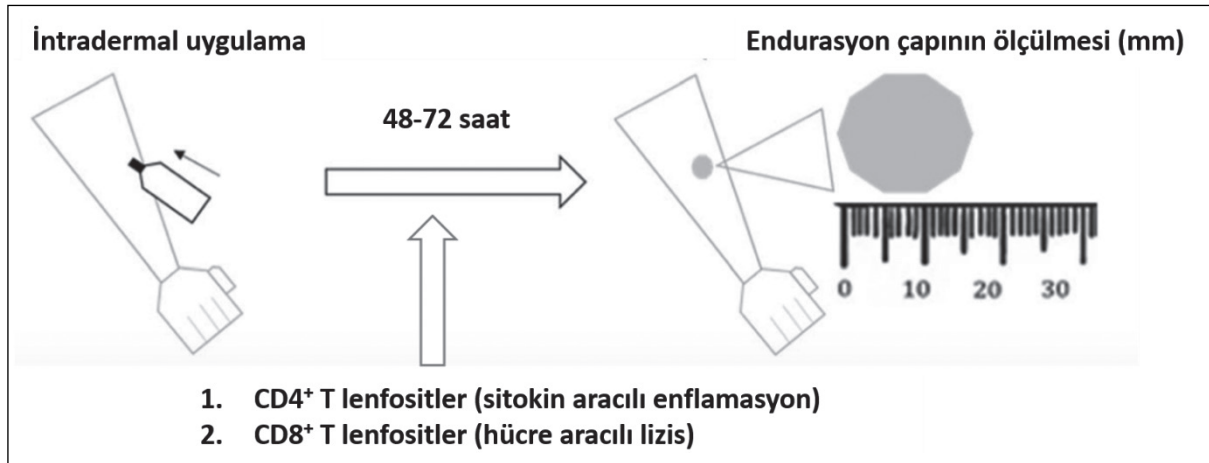
1. GİRİŞ

Gecikmiş tip hipersensitivite (aşırı duyarlılık) reaksiyonları ilk olarak 1882 yılında Robert Koch tarafından, *Mycobacterium tuberculosis* ile enfekte kobaylarda canlı tüberküloz basillerinin deri içine enjekte edilmesinden 24 saat sonra enjeksiyon bölgesinde şişlik ve kızarıklık saptanmasıyla tanımlanmıştır. Landsteiner, 1940'lı yıllarda reaksiyonun hümmoral immün sistemin rolü olmadan hüresel immün sistem aracılığıyla oluştuğunu göstermiştir (1, 2).

2. GECİKMİŞ TİP AŞIRI DUYARLILIK REAKSİYONU

Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonları, belli bir antijene karşı duyarlaştırılmış T lenfositlerin aynı antijenle tekrarlayan veya uzun süreli karşılaşması sonucu gelişen, temel olarak CD4⁺ T lenfositlerden üretilen mediyatörlerin tetiklediği ve çok sayıda mononükleer hücrenin infiltrasyonu ile karakterize, koruyucu hüresel immünitenin bir gös-

tergesi olup, aynı zamanda konakta doku hasarına neden olabilen enflamatuvar bir olaydır (1, 3-5). Doku hasarının mekanizmaları altında CD4⁺ T hücreleri tarafından üretilen sitokinlerin tetiklediği enflamasyon ve/veya konak hücrelerinin CD8⁺ T hücreleri tarafından öldürülmesi yatmaktadır (Şekil 1). Deri bir immün organ olarak dendritik hücreler gibi antijen sunan hücreler aracılığıyla antijenin tutulması ve sunulmasında görev almaktadır. Aktive olan antijen sunucu hücre bölgeyi drene eden lenf noduna giderek antijeni CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositlere sunar. Duyarlanma sonrası tekrar aynı antijen ile maruziyet gerçekleştiğinde gecikmiş tip deri reaksiyonunu tetiklenmektedir. CD4⁺ T lenfositler, MHC sınıf II eşliğinde sunulan antijeni tanıdıklarında aktifleşerek, prolifer ve diferansiye olurlar. Aktive T lenfositlerin sekrete ettiği sitokinler ve kemokinler daha fazla immün sistem hüresini (makrofajlar, bazen nötrofiller, bazofiller, ilerleyen dönemde fibroblastlar) lezyon bölgesine çağırıp etkin kılarak o bölgede hücre yığınlarının oluşmasına yol açmaktadır. Diferansiye olan



Şekil 1. T hücre aracılı gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarının temel özellikleri

Th1 lenfositler IL-2, monosit kemotaktik faktör (MCF), interferon-gamma (IFN- γ) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) salgılar. İnterlökin-2 (IL-2) diğer lenfositleri uyarak parakrin mekanizmalarla immün yanıtın amplifikasyonunu sağlar. MCF ve IFN- γ monositleri bölgeye çekerek aktive ederler. Th17 hücreleri nötrofiller dahil lökositlerin bölgeye kemotaksisinden sorumludur. Sitotoksik T lenfositler (CD8⁺ T lenfositler) ise kimyasal değişikliğe uğrayan konak hücrelerinin ve farklı MHC moleküllerini yüzeyde ifade eden hücrelerin lizisine neden olarak doğrudan hasara yol açabilmektedirler. Geç tip olan bu tepki, daha önceden karşılaşılan protein antijenle karşılaşma sonrasında 48-72 saat içinde oluşmaktadır. Bu gecikme dolaşımdaki aktif T lenfositlerin antijen uyarımı yapılan bölgeye birkaç saatte gelmeleri, antijene yanıt vermeleri ve monositlerin dokuya infiltre olmasına bağlıdır.

Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonları, diğer adıyla Tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonları hücre içi bakteriler (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Listeria monocytogenes* gibi), mantarlar (*Candida albicans* gibi), parazitler (*Schistosoma spp.* gibi) ve virüsler (Kabakulak, paramiksovirus gibi) tarafından uyarılır ve uyarıcı antijene tekrar maruz kalınmasıyla ortaya çıkar. Antijenle tekrar temas genellikle ilk antijenle karşılaşmadan bir haftadan daha uzun bir süre sonunda olmalıdır. Hücre aracılı aşırı duyarlılık reaksiyonları kontakt dermatit, tüberküloz, sarkoidoz ve kronik graft reddi gibi hastalıkların patogenezinin de yer almaktadır.

Hüresel bağışıklığın ana elemanı olan T hücrelerinin sayısal ve/veya fonksiyonel eksiklikleri kombine immün yetersizliklere neden olmaktadır (6, 7). Etkilenen primer hücre grubu T lenfositler olmakla beraber, humoral bağışıklıkta görevli B hücrelerinin antikör üretimi için T hücre sayı ve fonksiyonlarının yeterli olması gerektiği için humoral bağışıklık yanıtı da bozulmuştur (3, 7). Hücre aracılı immünitenin fonksiyonel değerlendirilmesinde *in vivo* ve *in vitro* metodlar kullanılabilir. T hücre fonksiyonları *in vivo* olarak kutanöz gecikmiş aşırı duyarlılık testleriyle analiz edilebilmektedir (3, 4). Antijenin intradermal inokülasyonunu takiben deride gözlenen tepki, antijene spesifik hafıza T hücrelerine bağlıdır ve mononükleer hücrelerin (lenfositler, monositler) ve nötrofillerin toplanması nedeniyle 48-72 saat sonra lokal inflamasyonla sonuçlanmaktadır. Aynı anda tek bir antijenle test gerçekleştirilebileceği gibi, farklı antijenlerin aynı anda bir panel şeklinde uygulanması şeklinde de yapılabilir.

3. GECİKMİŞ TIP AŞIRI DUYARLILIK DERİ TESTİ

3.1. Testin Uygulanması

Daha önce karşılaşılan mikroorganizmanın antijeni 25-27 gauge kalınlığında iğne ile 0.1 mL intradermal enjeksiyon yoluyla verilir. Tercihen sol ön kolun 2/3 üst kısmında kolun volar yüzüne, brakioradialis kası seyri boyunca ve kan damarlarından uzak, açık yara, tahriş, skar dokusu bulunmayan temiz bir deri bölgesine uygulama yapılır. Test için iki kol da kullanılamıyorsa omzun arkasına uygulanabilir. Deri testi için kullanılan antijenler hiçbir zaman intravenöz uygulanmamalıdır. Deri yüzeyinin hemen altında iğnenin oblik uç kısmı üst tarafta olacak şekilde 5-15° açıyla iğne ucu deri içinde 3 mm ilerletilmelidir. Antijenlerin intradermal enjeksiyonundan sonra 6-10 mm çapında deri renginde kabartı (papül) oluşur. Hastaya uygulama yapılan bölgeye mesaj veya ovalama yapmaması, çizmemesi, üzerine bandaj, merhem, krem uygulamaması, temiz ve kuru tutması önerilir. Uygulama sırasında anafilaksi gibi allerjik reaksiyon görülebilmesi riski nedeniyle işlem esnasında hazırda adrenalin, kortikosteroid, antihistaminik gibi ilaçlar ve endotrakeal tüp hazır bulundurulmalıdır.

3.2. Testin Yorumlanması

Daha önceden duyarlı lenfositlerin bölgeye gelmeleri ve sitokin üretmeleriyle başlayan süreç sonucunda büyüyen eritemli bir reaksiyon oluşur. 48-72 saat sonra iyi ışık altında gelişen endurasyon boyutu ölçülür. Endurasyon her zaman net görünür olmayabilir ve varlığını anlamak için parmak uçlarıyla palpasyon yapılması gerekebilir. Bir tükenmez kalem ucu ile de kabartının başladığı noktalar daha hassas olarak saptanabilir (pen-ball method). Endurasyonun en geniş kenarlarından işaretleme yapılmalıdır. Ön kolun uzun eksenine dik olan çap ölçüm için kullanılmalıdır. Endurasyon sınırları düzensiz ise, en uzun çap işaretlenmeli ve şeffaf bir cetvelle milimetrik olarak ölçülmelidir. Endurasyon yokluğunu not ederken "negatif" değil "0 mm" olarak yazmak doğrudur.

Geleneksel olarak 5 mm'lik endurasyon çapı pozitif sonuç olarak kabul edilmektedir. Endurasyon boyutunun majör belirleyicisi CD4⁺ T lenfositler olup, testin pozitif olması T hücrelerin proliferatif yanıtının varlığını ve T hücre fonksiyonlarının normal olduğunu göstermektedir. Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu değerlendirmesi en sık tüberkülin, kandida (*Candida albicans*), trikofiton (*Trichophyton mentagrophytes*), streptokinaz, tetanus toksoidi veya kabakulak antijenleriyle yapılmaktadır (Tablo 1) (8-10).

Tablo 1: Gecikmiş tip aşırı duyarlılık deri testlerinde kullanılan bazı antijenler (8, 12)

Antijen	Ürünün konsantrasyonu	Enjekte edilen miktar	Pozitif yanıt
Pürifiye protein derivesi- Tüberkülin (PPD)	5-tüberkülin ünitesi (5 TU)	0.1ml	≥5 mm
Candida Albicans (Candin)	100 mg/ml	0.1ml	≥2-5 mm
Tetanus Toksoid	1: 100 dilüsyon (100 mg/ml)	0.1 ml	≥2-5 mm
Trichophyton mentagrophytes	1:100-1:1000 (değişken, sağlıklı bireyde gözlenen yanıtı göre doz ve dilüsyon hazırlanmalıdır)	0.1 ml	≥2-5 mm

3.3. Tüberkülin Deri Testi

Mantoux testi de olarak bilinen tüberkülin deri testinde *Mycobacterium tuberculosis*'in hücre duvarı polipeptidlerinden amonyum sülfatla presipitasyon yöntemiyle proteinlerin saflaştırılması ve polisakkarid, nükleik asid ve lipid içeriğinin azaltılmasıyla elde edilen saflaştırılmış protein türevi (pürifiye protein derivesi=PPD) kullanılır (8). PPD solüsyonu ışığı geçirmeyen amber renkli cam şişede ve sıcaklığı monitörize edilebilen buzdolabında +2-8°C'de saklanmalıdır. Flakon açıldıktan sonra 1 ay kullanılabilir. Mantoux testinde, deri içine uygulanan 5 tüberkülin ünitesi (0.1 ml) antijene verilen yanıt ölçülür. Hastanın bu etkene karşı bağışıklık durumu, hastalığa karşı duyarlılığı gösterilmiş olur. BCG aşıları bir bireyde primer immün yetersizlik tanısında *in vivo* T hücre fonksiyonu değerlendirilmesi amacıyla uygulanan PPD testinde ≥5 mm yanıt pozitif, yani kabaca *in vivo* T hücre fonksiyonel yanıtı normal kabul edilir. Tüberküloz tanı ve tarama amacıyla test yapıldığında endurasyon çapı >15 mm kesin pozitif; 5 mm altındakiler ise negatif kabul edilir. 5-15 mm arasındaki değerler HIV pozitifliği, steroid kullanımı, kronik hastalık, yakın zamanda tüberküloz hastası ile temas öyküsü, BCG aşı sonrası ve çevresel non-tüberküloz mikobakteriyel enfeksiyon varlığı gibi durumlar açısından araştırmayı gerektirir. Malnütrisyon, aktif viral enfeksiyon durumu, ağır ve kronik hastalık tabloları gibi durumlarda test yalancı negatif olabilmektedir.

3.4. Kandida Deri Testi

Sağlıklı insan vücudunun doğal florasında kandida türleri normal şartlarda kommensal olarak bulunmakta olup, kandida ile pozitif deri testi yanıtı saptanma olasılığı genel popülasyonda %50-74 arasında bildirilmektedir (11-13). Bir yaşından küçük çocuklarda kandida deri testi ile hücrel immünitenin *in vivo* fonksiyonel değerlendirilmesi güvenilir değildir. Standardize edilmiş *C. albicans* deri testi antijeninin ticari formu (*Candin*) 1995 yılından itibaren kullanıma hazır formülasyon şeklinde temin edilebilmektedir (12).

3.5. Tetanoz Toksoid Deri Testi

Hücrel immünitenin değerlendirilmesinde; 1:100 sulandırılan Tetanus toksoid ve 1:30 sulandırılan Trikofiton ile yapılan deri testleri de kullanılabilir (11-14). Bu testler de çocuk hastalarda 2 mm kadar, erişkinlerde 5 mm civarında meydana gelen endurasyon pozitiflik için yeterli kabul edilmektedir.

4. ANERJİK YANIT

Deri testi uygulaması sonucu gözlenen anerjik yanıt, ortak antijenlerden oluşan bir panele karşı bozulmuş kutanöz aşırı duyarlılık yanıtı olarak tanımlanmakta ve hücrel immün fonksiyon bozukluğunun bir göstergesi olabilmektedir. Kombine immün yetersizlikler, Di George sendromu, kronik mukokütanöz kandidiasis bozulmuş gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olan immün sistemin doğuştan bozuklukları arasındadır. Gecikmiş tip aşırı duyarlılık deri testlerinde yanlış negatif sonuçlarla da sıklıkla karşılaşabilmektedir. Primer immün yetersizlik dışı diğer anerji nedenleri Tablo 2'de yer almaktadır (15-17). Altı aydan, özellikle 3 aydan küçük çocuklarda pozitif deri testi için bölgesel enflamatuvar yanıt olmayabilir. Canlı kızamık aşısı ya da suçiçeği, kızamık gibi enfeksiyonlar sonrası 2-3 ay süreyle deri testlerine karşı cevapsızlık gözlenebilmektedir.

Sonuç olarak, gecikmiş tip aşırı duyarlılık deri testi, pahalı ve uygulaması zor olan, modern teknoloji gerektiren, belirli laboratuvarlarda yapılabilen *in vitro* testlere göre kolay uygulanabilen maliyet etkin bir yöntemdir. Primer immün yetersizliklerde T hücre fonksiyonlarının değerlendirilmesi için kullanılabilir. Eş zamanlı olarak farklı antijenlerle deri testinin yapılması önerilmekle beraber, aynı anda tüm antijenlere ticari olarak geliştirilmiş formülasyonların hazır olmaması, ulaşım ve saklama koşullarının zorluğu, flakonun açılması ve ışığa maruz kalması gibi faktörlerle proteinin antijenik özelliklerinin kısa sürede bozulabilme potansiyellerinin olması nedeniyle T hücre fonksiyonlarının daha net ve detaylı değerlendirilmesi için önerilen *in vitro* mitojen/antijen ile indüklenen T lenfosit proliferasyon analizleridir (18, 19).

Tablo 2: Kütanöz anerji nedenleri

İlaçlar	Kortikosteroidler (yüksek doz, 14 günden uzun süreli kullanım) Siklosporin Mikofenolat mofetil Kemoterapötikler Rifampin
Primer immün yetersizlikler	Ağır kombine ve kombine immün yetersizlikler Wiskott-Aldrich sendromu Di George sendromu Kronik mukokütanöz kandidiasis Ataksi-telenjiektazi
Enfeksiyonlar	Kızamık Suçiçeği Kabakulak İnfluenza HIV Aktif tüberküloz / miliyer tüberküloz Lepra Bruselloz Dissemine mantar enfeksiyonu
Maligniteler	Lenfoma Akut lenfoblastik lösemi Kronik lenfositler lösemi
Diğer	Kronik böbrek yetersizliği Sarkoidoz Kronik karaciğer yetersizliği Biliyer siroz İnflamatuar bağırsak hastalığı Bağ dokusu hastalıkları Yaşlılık
Teknik nedenler	Yanlış uygulama, derine enjeksiyon Bozulmuş test ürünü (antijen)

HIV: İnsan immün yetersizlik virüsü

KAYNAKLAR

- Black CA. Delayed type hypersensitivity: Current theories with an historic perspective. *Dermatol Online J* 1999;5(1):7.
- Landsteiner K, Chase MW. Experiments on transfer of cutaneous sensitivity to simple compounds. *Proc Soc Exp Biol Med* 1942;49:688.
- Buckley CE III. Delayed hypersensitivity skin testing. In: *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 3rd ed (Rose NR, Friedman H, Fahey JL, eds). Washington, DC: American Society for Microbiology. 1986;260-73.
- Blatt SP, Hendrix CW, Butzin CA, Freeman TM, Ward WW, Hensley RE, et al. Delayed-type hypersensitivity skin testing predicts progression to AIDS in HIV-infected patients. *Ann Intern Med* 1993;119:177-84.
- Baskan EB. T hücre immünitesi. *Türkderm* 2013;47(Suppl 1):18-23.
- Turvey SE, Bonilla FA, Junker AK. Primary immunodeficiency diseases: A practical guide for clinicians. *Postgrad Med J* 2009;85(1010):660-6.
- Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, Hsu JT, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(5):1186-205.e1-78.
- PPD TÜBERKÜLİN KÜB. <https://titck.gov.tr/storage/kubKtAttachments/6PAuQco5Yfy2UZ.pdf>
- Stavri H, Bucurenci N, Ulea I, Costache A, Popa L, Popa MI. Use of recombinant purified protein derivative (PPD) antigens as specific skin test for tuberculosis. *Indian J Med Res*. 2012;136(5):799-807.
- Stein M, Sela-Razon B, Kleter Y, Somekh E. Reliability of control skin tests with common antigens in children undergoing tuberculin skin test. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1109:235-9.
- Shannon DC, Johnson G, Rosen FS, Austen KF. Cellular reactivity to *Candida albicans* antigen. *N Engl J Med* 1966;275(13):690-3.
- Highlights of prescribing information. *Candida albicans* skin test antigen for cellular hypersensitivity (Candin). San Diego: Allermid Laboratories, Inc. CA-C Circular Date of Issue: 2021 September 27. www.fda.gov/media/97965/text=candin last access: 07.10.2024.
- Keystone EC, Demerieux P, Gladman D, Poplonski L, Piper S, Buchanan R. Enhanced delayed hypersensitivity skin test reactivity with serial testing in healthy volunteers. *Clin Exp Immunol* 1980;40(1):202-5.
- Lesourd B, Winters WD. Specific immune responses to skin test antigens following repeated multiple antigen skin tests in normal individuals. *Clin Exp Immunol* 1982;50(3):635-43.
- Ohri LK, Manley JM, Chatterjee A, Cornish NE. Pediatric case series evaluating a standardized *Candida albicans* skin test product. *Ann Pharmacother* 2004;38(6):973-7.
- Anergy skin testing and tuberculosis [corrected] preventive therapy for HIV-infected persons: Revised recommendations. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 1997;46(RR-15):1-10.
- Pesanti EL. The negative tuberculin test. Tuberculin, HIV, and anergy panels. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149(6):1699-709.
- Terrén I, Orrantia A, Vitallé J, Zenarruzabeitia O, Borrego F. CFSE dilution to study human T and NK cell proliferation in vitro. *Methods Enzymol* 2020;631:239-55.
- Alvarez KLF, Poma-Acevedo A, Fernández-Sánchez M, Fernández-Díaz M. An EdU-based flow cytometry assay to evaluate chicken T lymphocyte proliferation. *BMC Vet Res* 2020;16(1):230.

Lenfosit Alt Grup Analizleri: İmmüfenotipleme

Doç. Dr. Metin Yusuf GELMEZ

Dr. İlhan TAHRALI

Prof. Dr. Günnur DENİZ

1. AKAN HÜCRE ÖLÇER TEMEL İMMÜFENOTİPLEME

Floresan işaretli antikorlarla işaretli hücrelerin bir lazer ışık önünden geçerken yaydıkları sinyallerin fotodetektörler ile tespit edilmesi prensibine dayanan akan hücre ölçer, diğer adıyla flow sitometri, günümüzde immünoloji, hematoloji, patoloji, biyokimya gibi birçok bilim dalında rutin ve araştırma çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Akan hücre ölçer sistemi ile hücrelerin sayısı ve dağılımları yanında yüzeyinde veya iç yapılarında bulunan proteinlerin tespiti, sitokin içerikleri, proliferasyon kapasitesi ve sitotoksik aktivitesi gibi birçok fonksiyonel özelliği belirlemek mümkündür.

İmmün sistemin esas fonksiyonu bireyi enfeksiyonlara ve kansere karşı korumaktır. Enfeksiyon etmeni ya da tümör hücresine karşı etkin bir yanıt oluşturmak için immün sistem hücrelerinin sayı ve fonksiyonun değiştiği bilinmektedir. Ayrıca primer immün yetersizlik hastalıklarında immün sistem hücrelerinin sayı ya da fonksiyonel olarak doğuştan kusurlu olduğu bilinmektedir. Bu nedenle akan hücre ölçer ile immün sistem hücrelerinin sayı, dağılım ve fonksiyonlarının belirlenmesi hastalıkların tanısının konulmasında oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Bu teknik, özellikle bağışıklık hücrelerinin çeşitliliğini analiz etmek ve çeşitli hastalıkların teşhisi ile bağışıklık sisteminin fonksiyonel durumu hakkında bilgi sağlamak için kullanılmaktadır.

Hücre yüzey/içi antijenik yapılar CD (Cluster of differentiation- farklılaşma kümesi) molekülleri ile tanımlanmaktadır. Her yeni tanımlanan molekül için ayrı bir CD numarası verilmektedir. B lenfosit diğer lenfositlerden farklı olarak yüzeyinde CD19 molekülü ifade ederken, bir T hücresi yü-

zeyinde farklı olarak CD3 ifade eder. Farklı hücre grupları birbirinden farklı CD moleküllerini ifade etmekte böylece farklı CD moleküllerine özgü üretilen floresan işaretli antikorlar kullanılarak akan hücre ölçer sistemi ile immün sistem hücreleri hakkında bilgi edinilmektedir. Aşağıdaki bölümde B ve T lenfositler ile bu hücrelerin alt gruplarının belirlenmesinde kullanılan belirteçler hakkında bilgi verilmiştir. Ayrıca akan hücre ölçer ile çalışma prosedürü, kapılama stratejisi, alt grupları değerlendirme grafikleri ile sağlıklı bireylerdeki dağılımları paylaşılarak konu detaylıca ele alınmıştır.

2. B HÜCRE ALT GRUP ANALİZLERİ

Patojenlere karşı uzun süreli ve etkin yanıtların oluşturulmasında rol alan edinsel immün sistem hücreleri ve hücrelerel immünite olmak üzere iki farklı yanıt oluşturur. Hücrelerel immünite B lenfositler ve onların sekrete ettikleri antikor moleküllerinden oluşmaktadır. Kemik iliğinde hematopoetik kök hücreden farklılaşan B lenfositler gelişimlerini kemik iliğinde tamamlayarak kana ve oradan dalağa yönelirler. Olgunlaşmalarının son aşamasını dalakta tamamlayan B lenfositler spesifik oldukları antijeni tanımak için lenf nodlarına göç ederler (1).

Olgunlaşmasını tamamlamış B lenfositler CD45, CD19, CD20 gibi yüzey belirteçlerini ifade ederler. B lenfositleri spesifik antijeni B hücre reseptörü (BCR) aracılığı ile tanırlar. Antijen ile karşılaşmamış naif B lenfositleri yüzeylerinde BCR olarak IgM ifade ederler ve aynı zamanda IgD pozitifler. B lenfositler CXCR5 kemokin reseptörleri aracılığıyla CXCL13 kemokinine yanıt olarak lenf nodunda B hücre bölgesi olarak da bilinen foliküler alana göç ederler.

Burada spesifik oldukları antijeni tanıyan B lenfositler ilk olarak klonal ekspansiyon olarak da adlandırılan çoğalma aşamasına girerler ve bu aşamada yüzeylerinde CD27 ifade etmeye başlarlar. Henüz izotip dönüşümü ve afinite olgunlaşmasını gerçekleştirmemiş olan bu hücreler “non-switched/sınıf dönüşümü yapmamış hafıza B lenfosit” olarak tanımlanır ve fenotipik olarak CD19⁺CD27⁺IgD⁺IgM⁺dir (1).

Bu hücrelerin bir kısmı, dendritik hücreler tarafından kendilerine sunulan aynı antijeni tanıyarak aktive olan CD4⁺ yardımcı T lenfositleri ile etkileşmek üzere T hücre bölgesine doğru göç ederler. Bu etkileşim sonrası tekrar B hücre bölgesine göç eden hücreler germinal merkez oluşturarak önce karanlık bölgede hızla çoğalırlar ve antijene afinitesi yüksek klonların oluşumu için afinite olgunlaşmasını gerçekleştirirler. Antijene yüksek afinite ile bağlanan klonlar germinal merkez aydınlık bölgeye göç ederler. Bu bölgede CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺ foliküler yardımcı T (T_{FH}) hücreler ile etkileşerek izotip dönüşümünü gerçekleştirir ve IgM⁺den IgA, IgG ve IgE tipi antikolar oluşur. Germinal merkez reaksiyonları sonucu izotip dönüşümü geçiren “switched/sınıf dönüşümü yapmış hafıza B lenfositler” plazmablast ve plazma hücreleri oluşur (2). Sınıf dönüşümü yapmış hafıza B lenfositler CD19⁺CD27⁺IgD⁺IgM⁺, plazmablast hücreler CD19⁺CD27^{yüksek}IgD⁻CD38^{yüksek}CD24⁻ ve plazma hücreleri CD19⁺CD27^{yüksek}IgD⁻CD38^{yüksek}CD138⁺ olarak tanımlanırlar.

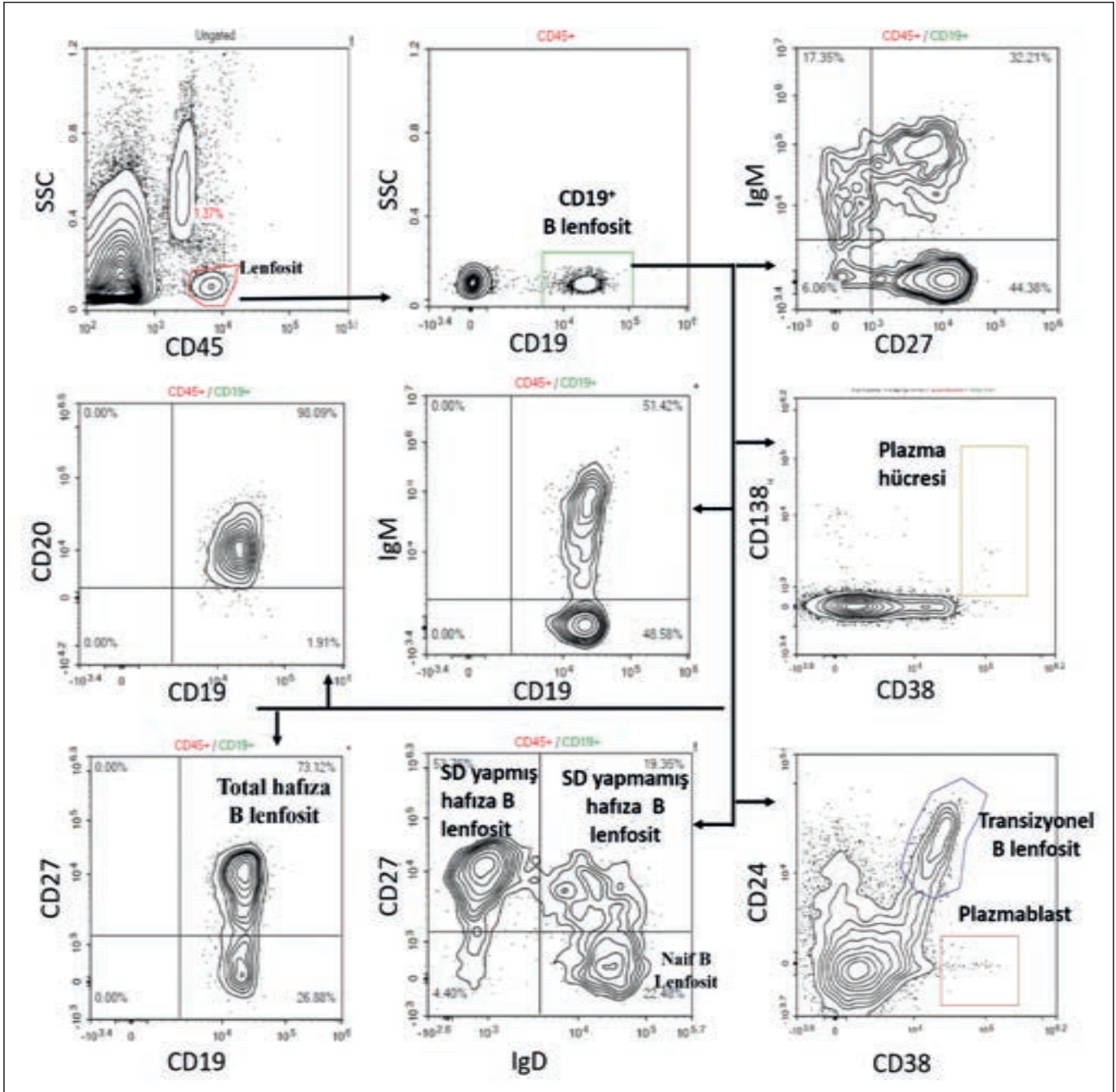
Primer immün yetersizlik (PİY) başta olmak üzere, otoimmün hastalıklar, kanser gibi birçok hastalıkta B lenfosit alt grup dağılımının değiştiği bilinmektedir. B lenfositlerin olgunlaşma sürecinde rolü olan hücre içi sinyal molekülü *Bruton’s Tirozin Kinaz (BTK)* geninde gelişen mutasyonlar sonucu oluşan BTK eksikliği, B lenfositlerinde ve immünooglobulin seviyelerinde azalmaya neden olarak, X’e bağlı agammaglobulinemiye (XLA) neden olur (3). Yaygın değişken immün yetersizlik (CVID) hastalarında sınıf dönüşümü yapmış ve yapmamış hafıza B lenfosit seviyelerinde azalma gözlenir (4). İnsan immün yetersizlik virüsü (HIV) ve rotavirüs enfeksiyonlarında, çeşitli otoimmün hastalıklarda ve Alzheimer hastalığında CD27 ve IgD ekspres etmeyen B lenfosit oranlarının arttığı bildirilmiştir (5). Bu hücrelerin aynı zamanda yaşla birlikte de azaldığı gösterilmiştir. Güncel çalışmalar yüksek CD24 ve CD38 ekspres eden transisyonel B lenfositlerinin IL-10 sekresyonu aracılığıyla regülatör özelliklerinin olduğunu ve otoimmün hastalıklarla ilişkisi olabileceğini ortaya koymaktadır (6).

İmmün sistem hücrelerinin sayı ve alt grup dağılımları üzerine yaş, cinsiyet, etnik ve coğrafi farklılıkların etkisi olduğu bilinmektedir. Literatürde farklı ülke ve merkezlerde sağlıklı bireylerden elde edilen B lenfosit alt grup dağılımlarının referans değerleri bulunmaktadır. Ülkemizde sağlıklı bireylerde CD4⁺ T, CD8⁺ T, B ve NK hücre oranlarını gösteren çalışmalar olmakla birlikte B lenfosit alt gruplarını inceleyen çalışmalar daha azdır. Ducham ve ark. farklı yaş grubundaki sağlıklı çocuklardan, Turğüt Kaynak ve ark. sağlıklı erişkin bireylerden elde edilen periferik kan örneklerinde B lenfosit alt grup dağılımları incelemiştir (7, 8). Doğumdan 16-18 yaşa kadar CD19⁺ B ve CD19⁺IgD⁻CD27⁻ naif B lenfosit oranlarında azalma, sınıf dönüşümü yapmış ve yapmamış hafıza B lenfosit alt gruplarında ise artış olduğu gösterilirken, erişkin dönemde yaş ve cinsiyet farklılıklarının ise B lenfosit alt grup dağılımları üzerine etkisinin olmadığı belirtilmektedir.

Antikor ve floresans çeşitliliğindeki artış, düşük maliyet ve hızlı sonuç alma gibi özellikleri ile akan hücre ölçer, PİY başta olmak üzere çeşitli hastalıkların tanısında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Aşağıda B lenfosit alt grup analizi için örnek çalışma prosedürü ve panel tasarımı Tablo 1’de, örnek akan hücre ölçer çıktısı Şekil 1’de ve sağlıklı çocuk ve erişkinlerde B hücre alt grup dağılımları sırasıyla Tablo 2 ve 3’te verilmiştir.

Tablo 1: B hücre alt grup analizi için kullanılan antikorlar ve belirteçler

Kullanılan Antikorlar		
CD45	CD38	IgM
CD19	CD24	IgD
CD20	CD138	CD27
B Lenfosit Alt Grup Değerlendirmesi		
CD19 ⁺	Total B lenfosit	
CD19 ⁺ CD27 ⁺	Total hafıza B lenfosit	
CD19 ⁺ CD27 ⁺ IgD ⁺	Sınıf dönüşümü yapmamış hafıza B lenfosit	
CD19 ⁺ CD27 ⁺ IgD ⁻	Sınıf dönüşümü yapmış hafıza B lenfosit	
CD19 ⁺ CD27 ⁻ IgD ⁺	Naif B lenfosit	
CD19 ⁺ CD24 ^{yüksek} CD38 ^{yüksek}	Transisyonel B lenfosit	
CD19 ⁺ CD38 ^{yüksek} CD24 ⁻	Plazmablast	
CD19 ⁺ CD38 ^{yüksek} CD138 ⁺	Plazma hücresi	



Şekil 1. Akan hücre ölçer ile B lenfosit alt grup analizi örneği

SD: Sınıf dönüşümü

2.1. Çalışma Prosedürü

1. Akan hücre ölçer tüpüne uygun antikorlar (Tablo 1) eklenir ve üzerine hasta kanı ilave edilir, tüpler vortekslenir.
2. Tüpler 15 dakika oda ısısında karanlıkta inkübe edilir.
3. İnkübasyon sonrası tüplere 2 ml "Lysing Buffer" eklenir. Tüpler vortekslenir, 15 dakika oda ısısında karanlıkta inkübe edilir.
4. İnkübasyon sonrası tüplerin üzerlerine 3 ml fosfat tampon çözeltisi (PBS) ilave edilir, 1800 rpm x 5 dakika santrifüj edilir.

Tablo 2: Sağlıklı çocuklarda yaşa göre B lenfosit ve alt gruplarının referans aralıkları (yüzde ve mutlak sayı olarak verilmiştir) (7)

Monoklonal Antikorlar	Normal referans aralıkları													
	0-1 AY		1-6 AY		6-18 AY		18 AY-4 Yaş		4-8 Yaş		8-12 Yaş		12-18 Yaş	
	%	/µL	%	/µL	%	/µL	%	/µL	%	/µL	%	/µL	%	/µL
Lenfosit kapısı[^]	0.9-13	24-580	11.1-29.3	712-2059	12.4-33.6	523-2149	7.6-28.2	319-1244	6.1-25.2	273-860	4.8-24.3	219-509	6.5-24	193-628
CD19 kapısı^{^^}														
CD19 ⁺ CD27 ⁺ (Total B hafıza)	1.5-5.4	1-29	1.2-5.1	13-85	3.5-12.2	25-217	7-24.3	45-175	8.1-33.3	23-185	9-35	31-152	7-29	26-115
CD27 ⁺ IgD ⁺ (Naif B)	90.5-98	23-553	93.1-97.3	677-1968	87.3-95.1	461-1930	69.2-90.5	212-1027	59.7-88.4	203-648	58.5-84.6	128-403	61.6-87.4	126-546
CD27 ⁺ IgD ⁻	0.4-4.2	0-27	0.3-3	3-31	0.4-2.7	4-28	1.2-8.3	10-56	1.7-13.2	8-74	2.3-11.9	7-35	1.4-13	6-42
CD27 ⁺ IgD ⁺ (Sınıf dönüşümü yapmamış hafıza B)	1.2-5.1	1-27	0.8-4.7	13-78	2.4-9.9	14-170	4.6-16.3	23-113	3.1-18	7-91	3-21.1	8-81	2.6-13.4	7-56
CD27 ⁺ IgD ⁻ (Sınıf dönüşümü yapmış hafıza B)	0.1-0.9	0-4	0.1-1	1-13	0.6-3.7	7-57	2.7-12.5	20-93	2.9-17.4	11-103	4.4-20.5	13-72	4-21.2	12-69

[^]Total CD19⁺B hücrelerinin total lenfositler içerisindeki yüzdesi, ^{^^}B hücre alt gruplarının total CD19⁺B hücreleri içerisindeki yüzdeleri verilmiştir. Hücrelerin mutlak sayıları /µL'de gösterilmiştir

Tablo 3: Sağlıklı erişkinlerde yaşa göre B lenfosit ve alt gruplarının referans aralıkları (8)

Monoklonal Antikorlar	Normal referans aralıkları														
	20-29		30-39		40-49		50-60		50-60		Total		Total Grup		
	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Total	Kadın	Erkek	Total	
Lenfosit kapısı[^]	4.5-18.1/80-310	7.4-16.2/150-540	5.8-15.9/80-470	5.45-17.1/110-460	6.04-17.6/70-410	5.2-19.2/100-410	6.3-16/40-420	6.35-20.6/120-530	4.5-17.8/50-460	5.3-20.6/100-530	5.2-19.2/80-490				
CD19 kapısı^{^^}															
CD19 ⁺ CD27 ⁺ (Total B hafıza) (%/mutlak sayı)	7.6-59.1/20-160	16.4-62.4/30-230	17.4-66/20-200	17.8-55.4/30-130	13.54.1/20-120	11-55.4/30-160	17-44.2/10-140	11.2-51/40-220	10.1-62.9/10-180	11.1-58.9/30-230	11.2-59.3/20-200				
CD27 ⁺ IgD ⁺ (Naif B) (%)	29.7-79.5	29.2-79.8	28.8-72.6	35.1-77	41.2-79.4	35-85.2	47.3-75	43.6-81	29.2-79.5	33.6-83.55	31.9-81				
CD27 ⁺ IgD ⁻ (%)	2.18-18.8	1.75-13.9	3.56-18.6	1.9-13.5	1.8-18.6	2.5-16.3	4.9-16.9	2.1-17.6	1.2-18.7	1.8-16.9	1.9-18.6				
CD27 ⁺ IgD ⁺ (Sınıf dönüşümü yapmamış hafıza B) (%)	1.75-33.3	3.81-41.76	2.78-40	3.5-37.4	0.5-28.9	1-22.7	2.7-23.7	3-27.1	1.04-37	1.9-39.6	1.7-38.4				
CD27 ⁺ IgD ⁻ (Sınıf dönüşümü yapmış hafıza B) (%)	5.95-38.15	10.6-39.2	12.2-48.9	8.3-35.6	6.4-30	6.2-38.3	7.2-28.9	6.6-29.6	6.14-44.1	6.4-38.7	1.9-18.6				

[^]Total CD19⁺B hücrelerinin total lenfositler içerisindeki yüzdesi, ^{^^}B hücre alt gruplarının total CD19⁺B hücreleri içerisindeki yüzdeleri verilmiştir. Hücrelerin mutlak sayıları /µL'de gösterilmiştir

5. Süpernatant dökülür, tüplerin üzerine 3 ml PBS tekrar eklenir. 1800 rpm x 5 dakika santrifüj edilir.
6. Süpernatant dökülür, tüplerin üzerine 300µl “flow sheat” eklenir.
7. Akan hücre ölçer cihazında tüpler okutulur.

3. T HÜCRE ALT GRUP ANALİZİ

Hücrel immünitinin kilit oyuncuları olan T lenfositleri, immün yanıtların ve homeostazın oluşturulması ve sürdürülmesinde önemli rollere sahiptir. T hücreleri reseptörleri aracılığıyla patojenik, tümöral veya çevresel antijenleri tanıma ve aynı zamanda immün hafızayı ve öz-toleransı koruma potansiyeli gösterirler. Diğer taraftan birçok otoimmün ve enflamatuvar hastalığın patogeneğinde T hücre fonksiyonlarındaki dengesizliğin temel rol oynadığı düşünülmektedir (9). T hücre gelişim ve olgunlaşması karmaşık süreçleri içermekte olup, bu süreçlerdeki kalıtsal anormallikler neticesinde T hücre sayısı veya fonksiyonlarındaki yetersizliğe bağlı olarak spesifik T hücre bozuklukları meydana gelmektedir. T hücre gelişim ve fonksiyonlarını etkileyen gen mutasyonları neticesinde ortaya çıkan primer T hücre yetersizlikleri, PİY’in yaklaşık %11’ini oluşturmaktadır

(10). Primer T hücre yetersizliklerinde klinik belirtiler genellikle bebeklik veya erken çocukluk döneminde görülmeyle birlikte, altta yatan genetik kusura bağlı olarak semptomların başlangıç yaşı değişkenlik göstermektedir. Primer T hücre yetersizliklerinde hücrel immün yanıtların yanı sıra, T hücrelerine bağımlı antikor üretimindeki yetersizlik sonucu B hücre fonksiyonlarında da bozukluk ortaya çıkabilmektedir (11).

Primer T hücre yetersizlikleri, periferik kandaki T hücre sayılarında düşüklük veya T hücre fonksiyonlarında bozukluk ile kendini göstermektedir. Bu nedenle primer T hücre yetersizliklerinin tanısında periferik kandaki T hücre sayısı ve fonksiyonlarının tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır. Primer immün yetersizliklerde tanısız yaklaşım klasik olarak klinik muayene üzerine şekillenirken, lenfosit alt popülasyonlarının immünfenotipik analizi T hücre immün yetersizliklerini de kapsayan PİY grupları arasında ayırım yapmak için değerli bir araç olarak kullanılmaktadır (Tablo 4) (12).

PİY’e neden olan genetik kusurların heterojenliğine bağlı olarak, hastalarda periferik kan immünfenotipleme önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Ağır kombine immün yetersizliklerde (AKİY) T, B ve/veya NK hücre eksikli-

Tablo 4. Primer T hücre yetersizliklerinde laboratuvar bulguları (11)

İmmün Defekt	Fenotip									
	Total	Periferik Kan Lenfositleri					Serum İmmünoglobulinleri			
		T	CD4	CD8	B	NK	IgG	IgM	IgA	IgE
AKİY										
X’e bağlı veya JAK3 yetersizliği		-	-	-		-	-		-	-
IL-7Rα yetersizliği		-	-	-		+	-		-	-
RAG-1 veya RAG-2 yetersizliği		-	-	-	-	+	-	-	-	-
Omenn sendromu					-	+	-		-	
ADA yetersizliği	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ZAP-70	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
Tip II çıplak lenfosit sendromu	+	+		+	+	+		±		
Kombine T- ve B-Hücre defektleri										
PNP yetersizliği		-	-	-	+	-	±	±	±	-
Ataksi-telanjektazi				+	+	+	IgG2	+		
Wiskott-Aldrich sendromu					+	+	+			
Seçici T-Hücre defekti										
DiGeorge sendromu					+	+	+	+	+	+

AKİY: Ağır kombine immün yetersizlik, **RAG:** Rekombinasyon aktive edici gen, **ADA:** Adenin deaminaz, **JAK:** Janus kinaz, **ZAP:** T hücre zeta zinciri ilişkili protein, **PNP:** Pürin nükleosid fosforilaz

ği, Bruton hastalığında ise spesifik olarak B hücre eksikliği söz konusudur. Benzer şekilde, CD8- α zincir eksikliği veya ZAP-70 eksikliği olan hastalar, düşük CD8⁺ T hücreleriyle karakterize edilmektedir. Majör doku uyumluluk kompleksi (MHC) sınıf II eksikliği veya magnezyum transporter 1 (MAGT1) kusuru bulunan hastalarda seçici olarak CD4⁺ T hücre düşüşü meydana gelirken (13, 14), DiGeorge sendromu bulunan hastalarda (22q11.2 delesyon sendromları) timik yetersizliğin bir sonucu olarak CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre sayılarında azalma görülmektedir (15).

İmmün yetersizliğin tipine bağlı olarak tüm bu immünofenotipik değişkenler göz önüne alındığında, lenfosit analizine dayalı teşhis için etkili yaklaşım, farklı lenfosit alt kümeleri için kapsamlı bir tarama yapılmasıdır. Bu amaçla tercihen T, B ve NK hücreleri ile bu hücrelerin farklı alt popülasyonlarının (naif veya hafıza hücreleri, olgunlaşmamış progenitör hücreler ve spesifik alt gruplar) oranları analiz edilmelidir. Lenfosit alt gruplarının karakterizasyonu ile şüpheli gen sayısı azaltılarak genetik araştırmalara yön verilebileceği gibi T, B veya NK hücre yetersizliği ile kendini gösteren PİY'lerde net tanı koyulması da mümkün olabilmektedir. Bazı durumlarda T, B ve NK hücre oranları spesifik PİY'leri teşhis etmek için yeterli olmaktadır (12).

Tanısal değerlendirmeler için immünofenotiplemede hızlı, tekrarlanabilir ve hassas bir teknoloji sunması nedeniyle akan hücre ölçer metodu tercih edilmektedir. Akan hücre ölçer süspansiyon hâlindeki hücrelerin kapsamlı ve ayrıntılı olarak analizini mümkün kılması nedeniyle, lenfosit alt gruplarının tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan bir metottur. Özellikle fonksiyonel çalışmalarla birlikte kullanıldığında, T hücre yetersizlikleri de dâhil olmak üzere geniş bir klinik ve genetik heterojeniteye sahip olan primer immün yetersizliklerin tespitinde lenfosit alt gruplarının ayrıntılı karakterizasyonuna olanak tanımaktadır (16).

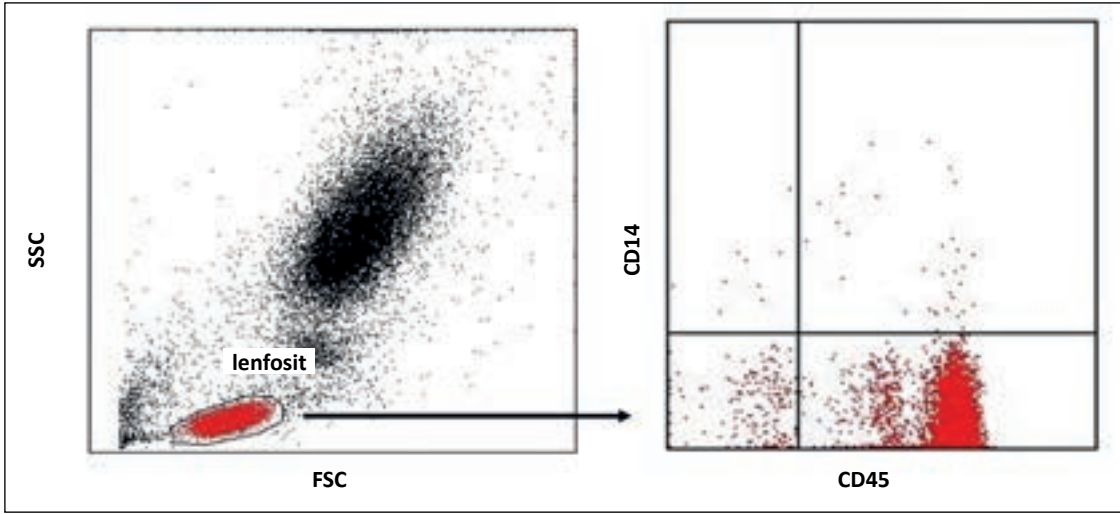
Akan hücre ölçer temelli immünofenotipleme, bir hücre popülasyonu içerisinde tespit edilmek istenen antijenlerin, floresan boya ile konjuge edilmiş spesifik antikolarla eşleştirilmesi prensibine dayanmaktadır. Antijen/antikor reaksiyonuna dayanan bu yöntemle antijen ekspresyon profili belirlenen hücreler tanımlanarak kategorize edilebilmektedir. Akan hücre ölçer ile hücre yüzey belirteçlerinin varlığının veya yokluğunun belirlenmesi, immünofenotiplemenin temelini oluşturmaktadır. İmmünofenotiplemede amaca yönelik olarak T, B veya NK hücre seviyelerini tespit etmek gibi genel hedefler belirlenebileceği gibi, immün yetersizlik kategorilerini daraltmak

amacıyla T hücre alt gruplarını tespit etmeye yönelik daha spesifik hedefler belirlenebilir (17).

Akan hücre ölçer ile immünofenotiplemede en sık kullanılan yöntem tam kan lizis yöntemidir. Bu yöntemde, anti-koagülan olarak etilen diamin tetraasetat (EDTA) veya heparin içeren tüp içerisine alınan periferik kan veya kemik iliği aspirasyon örnekleri kullanılır (18). Toplanan numuneler 20-24°C oda sıcaklığında muhafaza edilmeli ve 24 saat içinde işleme tabi tutulmalıdır (19). Bu koşullarda alınan numuneler, hedeflenen antijenlere spesifik floresan işaretli monoklonal antikolar ile muamele edilerek karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübe edilir. Akan hücre ölçer analizinde temiz bir görüntü elde etmek ve öncelikle lökositlere odaklanmak için eritrositlerin ortamdaki uzaklaştırılması önemlidir. Bu amaçla uygulanan tam kan lizis metoduna göre antikolarla inkübasyonun ardından örneklerin üzerine eritrositleri patlatarak uzaklaştırmak amacıyla lizis çözeltisi eklenerek yeniden karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübasyon gerçekleştirilir. Yıkama için izotonik bir sıvı olarak PBS eklenen örnekler santrifüj edilerek hücreler çöktürülür ve üst sıvılar uzaklaştırılarak akan hücre ölçerde değerlendirilir.

Akan hücre ölçerde lazer kaynağından hücreler üzerine çarpan ışınlar önden (FSC) ve yandan (SSC) saçılım göstererek hücre gruplarının diyagram üzerinde granülarite ve büyüklüklerine göre ayırt edilmesine olanak sağlar. Lenfositler, boyutlarına ve kısmen agranüler sitoplazmalarına bağlı olarak düşük FSC ve SSC özelliklerine sahip olmalarıyla granülositlerden ve monositlerden ayrılırlar. Bununla birlikte CD45/CD14 oranları değerlendirilerek daha saf bir lenfosit kapısı almak mümkündür. Tüm lökositler CD45 ekspresyonunu bir arada taşıyan lenfosit, monosit ve granülositlerin CD45 ekspresyon düzeyleri değişkenlik göstermektedir. Bu hücre grupları içerisinde en yüksek CD45 yoğunluğuna sahip olan lenfositler, monositlerde bulunan CD14 molekülünü ekspresyon etmezler. Bu nedenle FSC/SSC grafiğinde kapılanan lenfositler, CD45^{+/parlak} ve CD14⁻ fenotipe sahip olmalarıyla monositlerden net bir şekilde ayrılarak doğrulanabilmektedir (20). Akan hücre ölçerde lenfosit popülasyonu kapılama stratejisi Şekil 2'de gösterilmiştir.

Lenfosit kapısı içinde T, B ve NK hücreleri sırasıyla CD3, CD19 ve CD16+CD56 ekspresyonlarına göre belirlenebilmektedir. T lenfositlerinin tespitinde temel olarak T hücre reseptör kompleksi (TCR) ile ilişkili yüzey molekülü olan CD3 ekspresyonu değerlendirilmektedir. Bununla birlikte



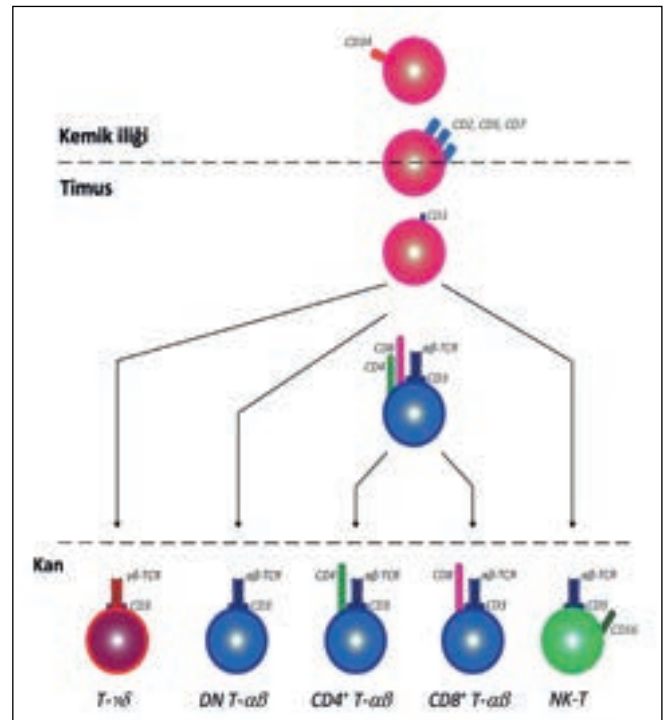
Şekil 2. Akan hücre ölçer lenfosit popülasyonu kapılma stratejisi. FSC/SSC grafiğinde alınan lenfosit kapısı içerisinde CD45^{+/parlak} ve CD14⁻ fenotipteki hücreler görülmektedir.

sağlıklı bireylerde CD3⁺ T hücreleri, olgunlaşma aşamasını timusta tamamlarken CD4⁺ (yardımcı) veya CD8⁺ (sitotoksik) T hücre alt gruplarına ayrılarak dolaşıma katılır (Şekil 3), klasik immünofenotiplemede CD4/CD8 ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi önemlidir. Akan hücre ölçer ile immünofenotip analizinde, CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre alt grup ekspresyonları CD3⁺ hücre popülasyonu içinde değerlendirilir (Şekil 4).

CD3, CD4, CD8, CD19 ve CD16/CD56 ekspresyon seviyelerinin tespitiyle yapılan klasik immünofenotipleme ile T, B ve NK hücre oranları hakkında fikir edinilmekle birlikte, kimi durumlarda daha spesifik değerlendirmeye ihtiyaç duyulmaktadır. Örneğin; bu belirteçler üzerinden gerçekleştirilen bir temel immünofenotipleme, T⁻/B⁻/NK⁻, T⁻/B⁻/NK⁺, T⁻/B⁺/NK⁻ ve T⁻/B⁺/NK⁺ olmak üzere dört farklı fenotipte gruplanan AKİY için muhtemel tanıyı mümkün kılar (22). Diğer taraftan, AKİY şüpheli hastalarda T hücre CD45RA, CD45RO izoformlarının ekspresyonu da çalışmaya dâhil edilmelidir. Şekil 5’de sağlıklı ve AKİY’li bireylere ait CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre alt gruplarındaki CD45RA/CD45RO ekspresyon profilleri gösterilmiştir.

T hücre immünofenotiplemesi çerçevesinde daha geniş bir alt popülasyon incelemesi için; farklı fazlardaki T hücre grupları, yeni timik göçmenler (RTE), regülatör T hücreleri (Treg) ve Th1/Th2/Th17 hücreleri değerlendirilebilir.

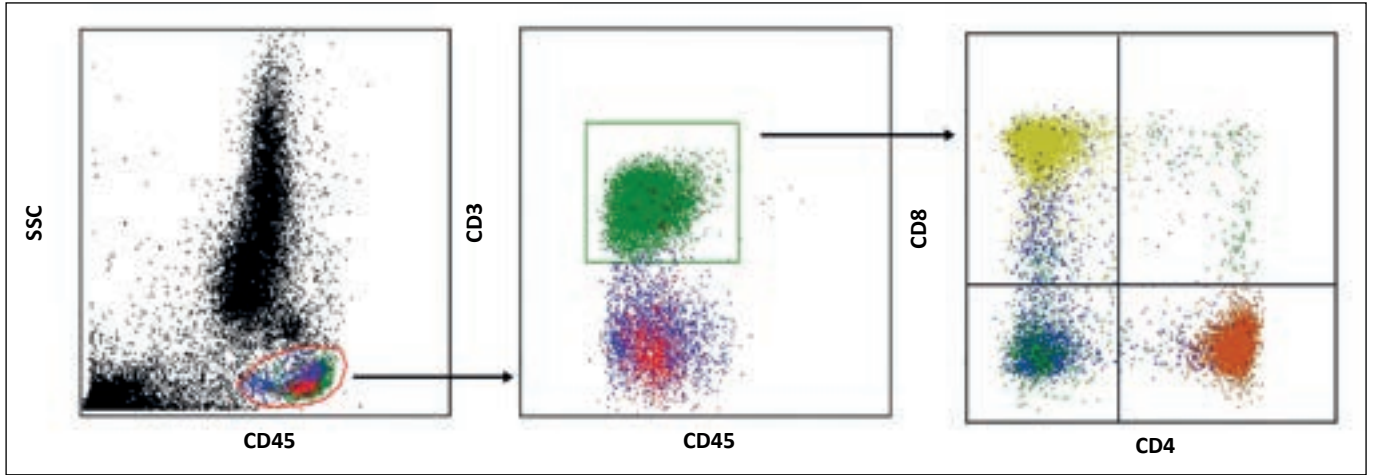
T lenfositleri, ikincil lenfoid organlara göç etmeden önce pozitif ve negatif seçim süreçlerinden geçerek timusta olgunlaşır. Doğum sırasında immün sistemde büyük oranda



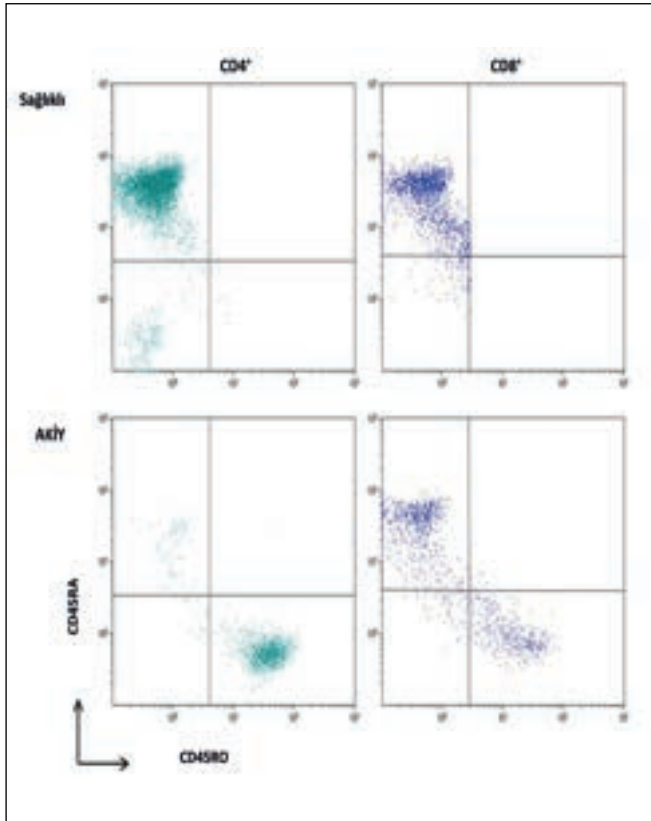
Şekil 3. T hücrelerinin olgunlaşarak periferik kan dolaşımına katılma sürecinde CD4⁺ ve CD8⁺ hücre gruplarına farklılaşma aşamaları (21)

TCR: T hücre reseptörü, DNT: Çift negatif, NK-T: doğal öldürücü T

naif T hücreleri baskın durumdayken, çok sınırlı miktarda hafıza hücresi ve kısmen daha yüksek oranda RTE’ler bulunmaktadır. Bu hücreler, timustan yakın zamanda çıkarak dolaşıma katılmış, henüz proliferasyona uğrama-



Şekil 4. CD3⁺ hücre popülasyonu içinde CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre gruplarının kapılma stratejisi



Şekil 5. Sağlıklı bireyde ve ağır kombine immün yetersizlik (AKİY) hastasında CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerinde CD45RA/CD45RO ekspresyonlarının karşılaştırılması (23)

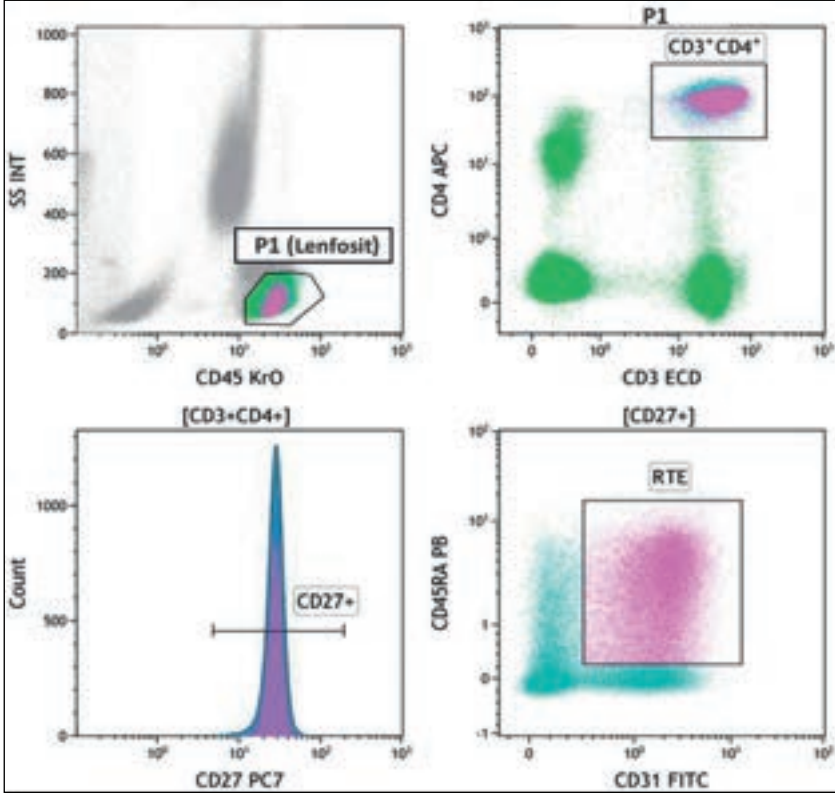
miş ve daha olgun naif T hücrelerinden farklı fenotipik ve fonksiyonel özellikler sergileyen T hücreleridir (24). Timik fonksiyon CD3, CD4, CD27, CD31 ve CD45RA ekspresyonları ile saptanan RTE'ler incelenerek belirlenebilir (Şekil 6).

Timus fonksiyonunun immünofenotipik değerlendirilmesi ayrıca AKİY, DiGeorge sendromu ve diğer T hücre yetersizlikleri şüphesi bulunduğu da yapılmaktadır.

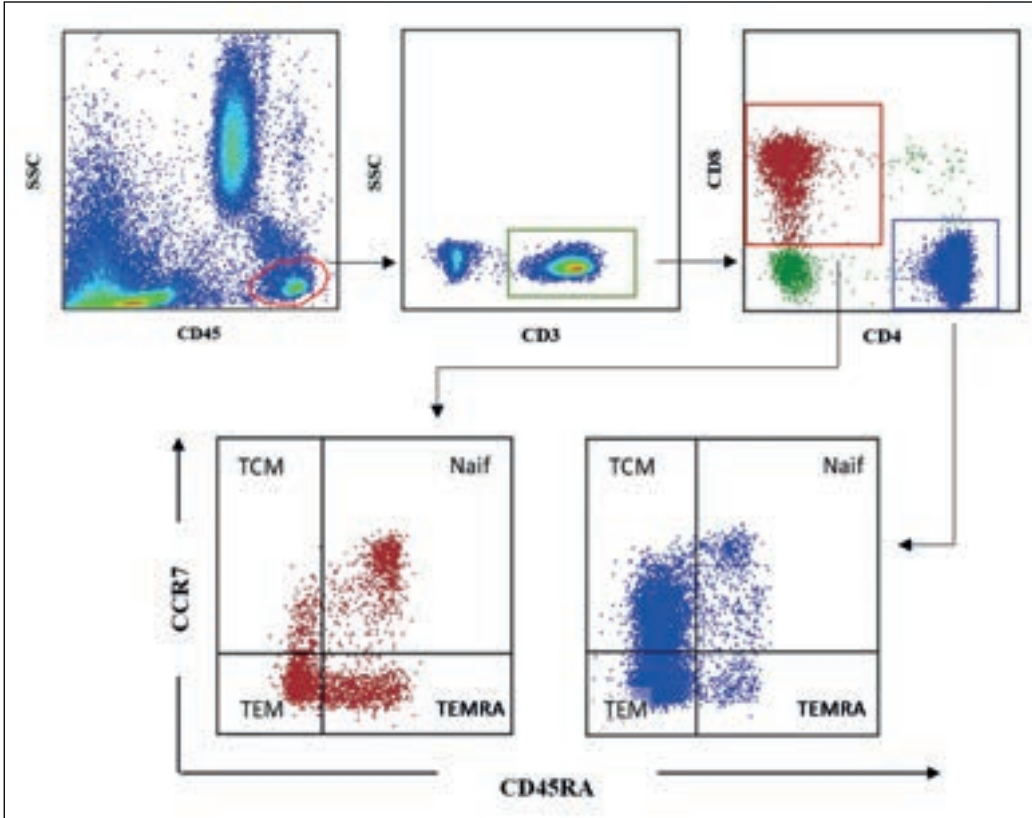
Olgun naif T lenfositleri, sekonder lenfoid organlar ve kan arasında dolaşım hâlinindedir. Naif T hücreleri CCR7, CD27, CD127 (IL-7R α), CD62L, CD132 ve CD45RA'yı eksprese ederken CD25 ve CD45RO ekspresyonu bulunmamaktadır (25). CD45RA⁺ hücreler naif ve CD45RO⁺ hücreler hafıza T hücrelerini tanımlamaktadır. CCR7 ve CD62L, T hücrelerinin sekonder lenfoid organlara yerleşiminde rol oynarken, CD45RA ve CD45RO, TCR'lerden sinyal iletiminde rol oynamaktadır (26).

Spesifik antijenlerin tanınmasını takiben naif CD4⁺ T hücreleri proliferasyon olarak efektör T hücrelerine farklılaşmaktadır. Antijene özgü bu T hücrelerinin bir kısmı ölürken, bir kısmı hafıza T hücreleri olarak dolaşımda kalmaktadır (27). Daha az efektör fonksiyona sahip olan hücreler merkezi hafıza T hücrelerini (TCM), hızla dokulara göç edip efektör fonksiyon gösterebilen hücreler efektör hafıza T hücrelerini (TEM) oluştururlar. Hafıza hücrelerinin bir grubunu ise dokuya yerleşik hafıza hücrelerini (TEMRA) oluşturmaktadır.

CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre kapıları kullanılarak yapılan CD45RA ve CCR7 ekspresyon analizi ile CD45RA⁺/CCR7⁺ (naif), CD45RA⁻/CCR7⁺ (TCM), CD45RA⁻/CCR7⁻ (TEM) ve CD45RA⁺/CCR7⁻ (TEMRA) T hücre popülasyonlarını belirlemek mümkündür (Şekil 7). Ayrıca, CD4⁺CD45RA⁻ TCM ve TEM hücre kapısı içinde CCR6 ve CXCR3 ekspresyonlarına göre CD4⁺ T hücre grupları (Th1, Th2, Th17) fenotipik olarak saptanabilmektedir.



Şekil 6. Yeni timik göçmen (RTE) hücrelerin kapılma stratejisi (23)



Şekil 7. CCR7 ve CD45RA ekspresyonlarına göre T hücre alt gruplarının analizi

T hücrelerinin bir başka fonksiyonel grubu olan Treg hücreler ise transkripsiyon faktörü - Foxp3 ekspresyonu ile karakterize olup, periferik toleransın korunmasında rol oynamaktadır. IPEX hastalarında meydana gelen Treg fonksiyon bozukluğu öz-toleransın bozulmasına yol açmaktadır (28). Treg immüfenotiplemesinde yaygın olarak kullanılan belirteçler CD25, FoxP3 ve CD127 olup, CCR4 değerlendirmesi ile daha net bir karakterizasyon gerçekleştirilebilmektedir. Efektör Treg hücreler için CD3⁺CD4⁺CD25⁺, CD127⁻, CCR4⁺ ve CD45RO⁺ hücre grupları üzerinden analiz yapmak mümkündür (23).

KAYNAKLAR

1. Abbas A, Lichtman AH, Pillai S. Properties and overview of immune response, cellular and molecular immunology. Tenth Edition, Elsevier, 2021;1-12.
2. Mesin L, Ersching J, Victora GD. Germinal center B cell dynamics. *Immunity* 2016;45(3):471-82.
3. Dogruel D, Serbes M, Sasihüseyinoglu AS, Yılmaz M, Altıntaş DU, Bisgin A. Clinical and genetic profiles of patients with X-linked agammaglobulinemia from southeast Turkey: Novel mutations in BTK gene. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2019;47(1):24-31.
4. Richardson CT, Slack MA, Dhillon G, Marcus CZ, Barnard J, Palanichamy A, et al. Failure of B cell tolerance in COVID. *Front Immunol* 2019;10:2881.
5. Demoersman J, Pochard P, Framery C, Simon Q, Boisramé S, Soueidan A, et al. B cell subset distribution is altered in patients with severe periodontitis. *PLoS One* 2018;13(2):e0192986.
6. Zhou Y, Zhang Y, Han J, Yang M, Zhu J, Jin T. Transitional B cells involved in autoimmunity and their impact on neuroimmunological diseases. *J Transl Med* 2020;18(1):131.
7. Duchamp M, Sterlin D, Diabate A, Uring-Lambert B, Guérin-El Khourouj V, Le Mauff B, et al. B-cell subpopulations in children: National reference values. *Immun Inflamm Dis* 2014;2(3):131-40.
8. Turğüt Kaynak F. Erişkin. Sağlıklı bireylerde çok renkli akan hücre ölçer ile T ve B lenfosit alt gruplarının yaşa özgü referans değerlerinin oluşturulması (İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar DETAE, İmmünoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2022, Tez No: 812309).
9. Kumar BV, Connors TJ, Farber DL. Human T cell development, localization, and function throughout life. *Immunity* 2018;48(2):202-13.
10. Eades-Perner AM, Gathman B, Knerr V, Guzman D, Veit D, Kindle G, et al. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: Results 2004-06. *Clin Exp Immunol* 2007;47(6):306-12.
11. Elder ME. T-cell immunodeficiencies. *Pediatr Clin North Am* 2000;47(6):1253-74.
12. Boldt A, Borte S, Fricke S, Kentouche K, Emmrich F, Borte M, et al. Eight-color immunophenotyping of T-, B-, and NK-cell subpopulation for characterization of chronic immunodeficiencies. *Cytometry B Clin Cytom* 2014;86(3):191-206.
13. Chapel H. Classification of primary immunodeficiency diseases by International Union of Immunological Societies (IUIS) Expert Committee on Primary Immunodeficiency 2011. *Clin Exp Immunol* 2012;168(1):58-9.
14. Khan WN. Regulation of B lymphocyte development and activation by Bruton's tyrosine kinase. *Immunol Res* 2001;23(2-3):147-56.
15. Lima K, Abrahamsen TG, Foelling I, Natvig S, Ryder LP, Olausson RW. Low thymic output in the 22q11.2 deletion syndrome measured by CCR9+CD45RA+ T cell counts and T cell receptor rearrangement excision circles. *Clin Exp Immunol* 2010;161(1):98-107.
16. Attardi E, Di Cesare S, Amodi D, Giancotta C, Cotugno N, Cifaldi C, et al. Phenotypical T cell differentiation analysis: A diagnostic and predictive tool in the study of primary immunodeficiencies. *Front Immunol* 2019;10:2735.
17. Herold NC, Mitra P. Immunophenotyping. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558927/>
18. Akanni EO, Palini A. Immunophenotyping of Peripheral Blood and Bone Marrow Cells by Flow Cytometry. *EJIFCC* 2006;17(1):17-21.
19. Diks AM, Bonroy C, Teodosio C, Groenland RJ, de Mooij B, de Maertelaere E, et al. Impact of blood storage and sample handling on quality of high dimensional flow cytometric data in multicenter clinical research. *J Immunol Methods* 2019;475:112616.
20. Nicholson JK, Hubbard M, Jones BM. Use of CD45 fluorescence and side-scatter characteristics for gating lymphocytes when using the whole blood lysis procedure and flow cytometry. *Cytometry* 1996;26(1):16-21.
21. Mousset CM, Hobo W, Woestenenk R, Preijers F, Dolstra H, van der Waart AB. Comprehensive phenotyping of T cells using flow cytometry. *Cytometry A* 2019;95(6):647-54.
22. Fleisher TA, Madkaikar M, Rosenzweig SD. Application of flow cytometry in the evaluation of primary immunodeficiencies. *Indian J Pediatr* 2016;83(5):444-9.
23. Martínez-Gallo M, García-Prat M. Flow cytometry applied to the diagnosis of primary immunodeficiencies [Internet]. Innovations in cell research and therapy. IntechOpen; 2020. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.89743>.
24. Fink PJ. The biology of recent thymic emigrants. *Annu Rev Immunol* 2013;31:31-50.
25. Sallusto F. Heterogeneity of human CD4(+) T cells against microbes. *Annu Rev Immunol* 2016;34:317-34.
26. van den Broek T, Borghans JAM, van Wijk F. The full spectrum of human naive T cells. *Nat Rev Immunol* 2018;18(6):363-73.
27. Farber DL, Yudanin NA, Restifo NP. Human memory T cells: Generation, compartmentalization and homeostasis. *Nat Rev Immunol* 2014;14(1):24-35.
28. Bacchetta R, Barzaghi F, Roncarolo MG. From IPEX syndrome to FOXP3 mutation: A lesson on immune dysregulation. *Ann N Y Acad Sci* 2018;1417(1):5-22.

Hastalık İlişkili Proteinlerin Akan Hücre Ölçer ile Analizi

Dr. Öğretim Üyesi Tolga SÜTLÜ

1. GİRİŞ

Primer immün yetersizlikler (PİY), bağışıklık sistemi hücrelerinde meydana gelen bozukluklarla karakterize edilen ve tekrarlayan enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar ve malignitelere karşı savunmasızlık ile sonuçlanabilen, 250'den fazla genetik bozukluğu içeren karmaşık bir hastalık grubudur. Bu hastalıkların hızlı ve doğru bir şekilde teşhis edilmesi, uygun tedavi yaklaşımlarının erken dönemde başlatılması, tedavi yanıtlarının iyileştirilmesi ve olası ciddi komplikasyonların önlenmesi açısından kritik bir öneme sahiptir.

Akan hücre ölçer (AHÖ), periferik kan gibi farklı immün hücre tiplerini bir arada barındıran karmaşık örneklerde, hücreleri tek tek ve hızlı bir şekilde analiz etme yeteneği sayesinde PİY tanı ve yönetiminde temel bir araç hâline gelmiştir (1). AHÖ, floresan moleküllerle işaretlenmiş spesifik antikorlar kullanarak, farklı bağışıklık hücrelerinin tanımlanmasını, sayılarının belirlenmesini ve hem hücre yüzeyinde hem de hücre içinde spesifik protein belirteçlerin tespit edilmesini mümkün kılar (2).

AHÖ sisteminin sağladığı çok yönlülük, sistemi PİY tanısında güçlü ve esnek bir teknoloji olarak konumlandırmaktadır. Bu teknoloji, lenfosit alt popülasyonlarının varlığını ve miktarını analiz ederken hücre yüzeyi ve hücre içindeki proteinleri tespit etmek ve farklı uyarılara verilen proliferasyon, sitokin salımı veya apoptoz gibi farklı efektör cevapları değerlendirmek için kullanılabilir (3). AHÖ ile yapılan testler, klinisyenlerin çeşitli PİY türlerini ayırt etmelerine, hastalığın seyrini izlemelerine ve tedavi etkinliğini değerlendirmelerine olanak tanımaktadır.

2. LENFOSİT ALT POPÜLASYONLARININ ANALİZİ

T hücreleri, B hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücreler gibi lenfosit alt popülasyonları, bağışıklık sisteminin temel bileşenleridir ve bu hücrelerde gözlemlenen anomaliler belirli PİY türlerinin işaretçisi olabilmektedir. Önceki bölümde detaylarıyla anlatıldığı üzere, AHÖ ile immünotipleme, yüzey belirteçlerini kullanarak her bir hücre tipini tanımlamak ve bu hücrelerin dolaşımdaki miktarını belirlemek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (4).

T hücreleri tipik olarak CD3, B hücreleri CD19 veya CD20 ve NK hücreleri CD56 ile tanımlanır. AHÖ, immün hücrelerin ve daha detaylı alt kümelerinin oranlarını ve mutlak sayılarını ölçerek ağır kombine immün yetersizlik (AKİY) gibi hastalıkların tanısında önemli bir rol oynamaktadır. AKİY, genetik bozukluk nedeniyle T hücrelerinin (CD3⁺) ciddi ölçüde azalması veya tamamen yokluğunun yanı sıra değişen düzeylerde B hücreleri (CD19⁺) ve NK hücreleri (CD56⁺) ile karakterize edilmektedir (5). Yaygın değişken immün yetersizlik (CVID) vakalarında ise hafıza B hücrelerinin (CD27⁺) azalmasının, düşük immünotoglobulin seviyeleri ve tekrarlayan enfeksiyonlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (6). Benzer şekilde, DiGeorge sendromunda timus gelişimindeki yetersizliği yansıtabilecek şekilde dolaşımdaki CD3⁺ T hücrelerinde azalma görülmektedir (7). Bu temel hücre gruplarını tespit etmek için AHÖ ile yapılan immünotipleme, lenfosit alt popülasyonlarının ayrıntılı analizini mümkün kılarak çeşitli PİY'lerin tanısına yardımcı olmakta ve tedavi stratejilerinin belirlenmesinde etkin bir yol oynamaktadır.

3. SPESİFİK HÜCRE YÜZEY PROTEİNLERİNİN ANALİZİ

PiY'lerin teşhisinde en kritik AHÖ uygulamalarından biri, immün hücrelerdeki hücre yüzey proteinlerini tespit etme ve ölçme yeteneğidir. Bu proteinler, hücreler arası iletişim, hücre aktivasyonunda ve bağışıklık fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Dolayısıyla, bu proteinlerde meydana gelen kusurlar, hücreler arası iletişimi etkileyerek bağışıklık yanıtında düzensizliklere veya eksikliklere yol açabilir ve bu durum genellikle AHÖ ile doğrudan gözlemlenebilir.

AHÖ sistemi ile hücre yüzeyi proteinlerinin tespiti, hücrelerin hedef proteinlere özgül antikolarla boyanmasını gerektirir. Bu antikolar, lazerle uyarıldıklarında ışık yayan floresan moleküllerle etiketlenir ve bu sayede hedef proteinlerin tespiti ve miktarının belirlenmesi sağlanabilir. Analiz süreci genellikle kan örneklerinden hücrelerin izole edilmesi ve bu hücrelerin spesifik antikolarla inkübe edilmesiyle başlar. İnkübasyondan sonra fazla antikolar yıkanarak uzaklaştırılır ve numuneler AHÖ cihazında analiz edilir.

Doğru ve güvenilir sonuçlar elde edebilmek için, örneklerin uygun şekilde hazırlanması büyük önem taşımaktadır. Antikoların bağlanacağı floresan işaretlerin seçimi sırasında, kullanılan AHÖ cihazının lazer ve filtre kurulumu dikkate alınarak spektral örtüşme önlenmeli ve sinyal tespiti optimize edilmelidir. Doğru protein tespiti için yüksek kaliteli, spesifik monoklonal antikoların seçilmesi ve antikor spesifitesini bozmayacak şartlarda boyama yapılması önemlidir. İzotip kontroller, yöntemden kaynaklanabilecek spesifik olmayan bağlanma aktivitesini ve arka plan floresansını ölçmek için kullanılır ve sonuçların sadece spesifik antijen-antikor etkileşimlerinden kaynaklandığını doğrulamaya yardımcı olmaktadır.

3.1. PiY Tanısında Önemli Hücre Yüzey Proteinleri

İmmün hücrelerin yüzeyindeki proteinler, reseptör, yapışma molekülü veya sinyal iletilici olarak görev yaparak hücrelerin iletişimi ve fonksiyonları için kritik roller üstlenirler. Bu proteinlerdeki mutasyonlar veya anormallikler, bağışıklık fonksiyonunu bozarak enfeksiyonlara karşı savunmanın zayıflamasına ve immün disfonksiyona yol açabilir. AHÖ sistemi bu proteinlerin hücre yüzeyindeki ifade miktarını analiz ederek çeşitli PiY'lerin tanısını saptamada kullanılmaktadır. PiY tanısında kullanılan temel hücre yüzeyi proteinlerinin hangi hücre tiplerinde ve hangi olası

endikasyonlarda analiz edilmesi gerektiği Tablo 1'de sunulmuştur. Bunlardan önde gelen bazı örnekler şu şekildedir:

• *CD40 Ligandı (CD154)*

CD154, aktive olmuş yardımcı CD4⁺ T hücrelerinde ifade edilen ve T hücreleri ile B hücreleri arasındaki etkileşimde kritik rol oynayan bir proteindir (8). CD40L genindeki mutasyonlar, CD154'ün eksikliğine veya fonksiyon bozukluğuna yol açarak, yardımcı T hücreleriyle B hücreleri arasındaki iletişimin kopmasına, dolayısıyla da immünoglobulin sınıf geçişinin defektif olmasından kaynaklanan hiper IgM sendromuna neden olur. AHÖ, uyarılmış hasta T hücrelerinde CD154'ün varlığını analiz ederek tanıyı doğrulamak için kullanılır (9). Uyarılma sonrası CD154'ün yokluğu veya düşük seviyede ifadesi tanıyı destekler ve ileri genetik testlerle doğrulanabilir.

• *IL-7 Reseptör Alfa Zinciri (IL-7R α)*

IL-7R α , timusta T hücrelerinin gelişimi için kritik öneme sahip bir reseptör zinciridir. IL-7R α genindeki mutasyonlar, T hücrelerinin eksikliği ile karakterize edilen AKİY'e neden olabilirken, B hücreleri ve NK hücreleri etkilenmeyebilir (T-B+NK+ fenotipi) (10). Lenfositlerde IL-7R α ekspresyonu AHÖ sistemi ile saptanarak, bu reseptör zincirinin eksikliğinin tespiti AKİY tanısını desteklemektedir. Bu bilgi, hematopoetik kök hücre nakli gibi bağışıklık sistemini yeniden yapılandırıcı tedavi seçeneklerinin planlanmasında kritik rol oynar.

• *İntegrinler (örn. CD18)*

Lökosit adhezyon eksikliği (LAD tip 1), lökosit yapışması ve göçü için gerekli olan CD18 integrin alt birimini kodlayan ITGB2 genindeki mutasyonlardan kaynaklanır (11). LAD1 hastalarında lökosit fonksiyonunda görülen bozukluklardan dolayı tekrarlayan enfeksiyonlar ve yara iyileşmesinde sorunlar görülmektedir. AHÖ ile nötrofiller üzerinde analiz edilen CD18 ifadesinin düşük veya tamamen olmaması LAD1 tanısını doğrulamaktadır (12). Bu teşhis, enfeksiyonları yönetmek ve tedavi seçeneklerini değerlendirmek için önem taşır.

• *B Hücre Aktivasyon Faktörü Reseptörü (BAFF-R)*

BAFF-R, B hücrelerinin hayatta kalması ve olgunlaşması için gerekli olan B hücre aktivasyon faktörüne (BAFF) bağlanan bir reseptördür (13). BAFF-R'de meydana gelen mutasyonlar, B hücrelerinin hayatta kalma sinyallerini bozar

Tablo 1: PİY tanısında kullanılan başlıca hücre yüzeyi proteinleri

Protein	İmmün Hücre Tipi	Olası Tanı
BAFF-R (CD268)	B hücreleri	Yaygın Değişken İmmün Yetersizlik (CVID)
CCR6 (CD196)	Th17 hücreleri	Hiper IgE Sendromu (HIES) Kronik Mukokutanöz Kandidiyazis (KMK)
CD11a, CD11b, CD11c	Nötrofiller, Monositler	Lökosit Adezyon Defekti (LAD1)
CD132 (Ortak γ -zinciri)	Lenfositler	X'e bağlı Ağır Kombine İmmün Yetersizlik (X-AKİY)
CD15s (Sialyl Lewis X)	Nötrofiller	Lökosit Adezyon Defekti Tip 2 (LAD2)
CD18 (İntegrin β 2)	Nötrofiller	Lökosit Adezyon Defekti Tip 1 (LAD1)
CD25	Düzenleyici T hücreleri (Treg)	İmmün Disregülasyon, Poliendokrinopait, Enteropati, X'e bağlı Sendrom (IPEX)
CD27	B hücreleri	Yaygın Değişken İmmün Yetersizlik (CVID) X'e bağlı Agammaglobulinemi (XLA)
CD40	B hücreleri	Hiper IgM Sendromu (Otozomal Resesif)
CD40 Ligand (CD154)	Aktive CD4 ⁺ T hücreleri	Hiper IgM Sendromu (X'e bağlı)
DAF (CD55)	T, B hücreleri, Monositler	Atipik Hemolitik Üremik Sendrom (aHUS) Protein Kaybettiren Enteropati (PKE)
HLA-ABC	Lenfositler	Kombine İmmün Yetersizlik (MHC-I Eksikliği)
HLA-DR	B hücreleri	Kombine İmmün Yetersizlik (MHC-II Eksikliği)
ICOS (CD278)	Aktive T hücreleri	Yaygın Değişken İmmün Yetersizlik (CVID)
IFN- γ Reseptör 1 (CD119)	Monositler	Mikobakteriyel Hastalıklara Mendelian Duyarlılık (MSMD)
IL-12R β 1 (CD212)	Aktive T hücreleri	Mikobakteriyel Hastalıklara Mendelian Duyarlılık (MSMD)
IL-7 Reseptör Alfa (CD127)	Lenfositler ve monositler	IL-17RA eksikliği AKİY (T-B+NK+)
MCP (CD46)	T, B hücreleri, Monositler	Atipik Hemolitik Üremik Sendrom (aHUS) Protein Kaybettiren Enteropati (PKE)
SLAM	T, NK hücreleri	X'e bağlı Lenfoproliferatif Hastalık (XLP)

ve CVID ile sonuçlanır, bu da düşük immünooglobulin seviyeleri ve tekrarlayan enfeksiyonlarla karakterizedir. AHÖ sistemi ile B hücrelerinde BAFF-R ekspresyonu analizi ile CVID tanısı desteklenebilmektedir (14). BAFF-R ekspresyonundaki azalma veya eksiklik, immün yetersizliği işaret etmekte ve CVID teşhisinin konulmasında kritik rol oynamaktadır.

• İnterferon-Gamma Reseptörü 1 (IFN- γ R1)

IFN- γ R1, interferon-gamma sinyal iletiminde önemli rol oynayan bir reseptördür ve makrofajlar gibi immün hücrelerde patojenlerin kontrol edilmesinde kritik bir öneme sahiptir (15). IFN- γ R1 genindeki mutasyonlar, hücrelerin interferon-gamma sinyaline yanıt verememesine yol açarak, mikobakteriyel enfeksiyonların sıklıkla görülmesiyle karakterize mikobakteriyel hastalıklara mendelyen duyarlılık sendromu'na (MSMD) sebep olabilir (16). AHÖ

sistemi ile immün hücrelerde IFN- γ R1 ekspresyonu analiz edilerek bu reseptörün eksikliği veya işlevselliği değerlendirilebilmektedir (17). IFN- γ R1 ifadesinin azalması veya yokluğu, MSMD tanısını destekler ve enfeksiyonların yönetimi için uygun tedavi stratejilerinin belirlenmesine rehberlik eder.

Multiparametrik AHÖ analizi, birden fazla hücre yüzeyi proteininin aynı anda analiz edilmesini sağlayarak bağışıklık hücrelerinin kapsamlı bir profilini oluşturur. Bu, birden fazla immün hücre tipinin etkilenebileceği karmaşık veya atipik PİY'lerin teşhisinde özellikle değerlidir. Ancak, güvenilir sonuçlar elde edebilmek için numune işleme, antikor spesifikliği ve boyama protokollerindeki değişikliklerin kontrol altına alınması gereklidir. Ayrıca, antikorların spesifik olmayan bağlanması yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir, bu nedenle uygun kontrollerin ve bloklama reaktiflerinin kullanılması önemlidir. Bu noktalara dikkat

edildiği müddetçe, AHÖ ile hücre yüzeyi protein analizinin PİY teşhisi ve yönetimindeki faydaları büyüktür. Bağışıklık sistemi işlevi hakkında kritik bilgiler sağlar ve klinik kararla alma sürecini destekler.

4. SPESİFİK HÜCRE İÇİ PROTEİNLERİN ANALİZİ

Hücre içi proteinler, hücre sinyal iletimi, hücre döngüsünün düzenlenmesi ve bağışıklık yanıtlarının modülasyonu dahil olmak üzere çeşitli işlevlerin temel bileşenleridir. AHÖ teknolojisinin bu proteinleri hücre içinde tespit etme yeteneği, hücre içi yollarda bozukluklar içeren PİY'lerin teşhisinde önemli rol oynamaktadır.

Hücre içi proteinlerin AHÖ ile analiz edilmesi, hücre zarının geçirgen hâle getirilmesiyle antikorların hücre içindeki hedef proteinlere bağlanmasını mümkün kılan bir dizi işlem gerektirir. Hücre içi proteinlerin analizi genellikle formaldehit veya paraformaldehit gibi kimyasallarla hücrelerin fikse edilmesi ile başlar. Fiksasyon işlemi, hücrelerin yapısını korur ve proteinleri hareketsiz hâle getirir. Ardından, hücre zarı alkol bazlı (metanol, etanol) veya deterjan bazlı (saponin, Triton X-100) tampon çözeltilerle geçirgen hâle getirilir (permeabilizasyon), bu da antikorların hücre içine nüfuz edebilmesini sağlar.

Hücre içi proteinlerin doğru tespiti için yüksek özgüllüğe sahip monoklonal antikorların seçilmesi esastır. Doğru sonuçlar elde edebilmek için, arka plan floresansını ve spesifik olmayan bağlanmayı hesaba katmak üzere izotip kontrolleri kullanılmalıdır. Hücre içi proteinlerin güvenilir bir şekilde tespit edilebilmesi için fiksasyon süresi, permeabilizasyon koşulları, antikor konsantrasyonu ve inkübasyon süresi gibi protokol parametrelerinin dikkatlice optimize edilmesi gereklidir (18). Fiksasyon veya permeabilizasyon koşullarının uygun şekilde optimize edilmediği durumlar, proteinlerin veya kullanılan antikorun yapısının veya floresan işaret moleküllerinin bozulmasına neden olarak sinyal gücünü ve özgüllüğünü azaltabilir. Bu gibi hataların yapılmadığından emin olmak için sadece optimizasyon sırasında değil, rutin testler sırasında da uygun pozitif ve negatif kontrollerin kullanıldığından emin olmak ve sonuçları kontrollerle birlikte değerlendirmek önemlidir.

4.1. PİY Tanısında Önemli Hücre İçi Proteinler

Hücre içi proteinler, hücre sinyal iletimi, gen ifadesinin düzenlenmesi, apoptoz ve bağışıklık hücrelerinin efektör işlevleri gibi önemli süreçlerde rol oynarlar. Bu proteinle-

rin ifade miktarındaki veya işlevlerindeki anomaliler, ciddi bağışıklık disfonksiyonlarına yol açabileceğinden, bunların tespiti ve analizi PİY tanısı açısından büyük önem taşımaktadır. İmmün hücrelerdeki kilit hücre içi proteinlerin varlığını, eksikliğini veya değişimini inceleyerek çeşitli PİY'lerin altında yatan moleküler mekanizmalar anlaşılabilir. PİY tanısında kullanılan temel hücre içi proteinlerin hangi hücre tiplerinde ve hangi olası endikasyonlarda analiz edilmesi gerektiği Tablo 2'de sunulmuştur. Bunlardan önde gelen bazı örnekler şu şekildedir:

• *Wiskott-Aldrich Sendromu Proteini (WASP)*

WASP, immün hücrelerin hareketliliği, fagositoz ve immün sinaps oluşumu için gerekli olan aktin hücre iskeletinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar (19). WAS genindeki mutasyonlar, trombositopeni, egzama ve immün yetersizlikle karakterize Wiskott-Aldrich sendromu'na (WAS) neden olur. AHÖ, lenfositlerde ve trombositlerde WASP ifadesi miktarını tespit etmek için kullanılmaktadır (20). Ancak, bazı hastalar işlevsiz ancak tespit edilebilen mutant WASP formlarını ifade edebilir; bu durumda, proteinin aktivitesini değerlendirmek için ek fonksiyonel testler gerekmektedir (21).

• *Bruton Tirozin Kinaz (BTK)*

BTK, B hücre reseptör sinyal iletiminde kritik rol oynayan bir enzimdir ve B hücrelerinin gelişimi ve olgunlaşması için vazgeçilmezdir. X'e bağlı agammaglobulinemi (XLA), BTK genindeki mutasyonlar sonucu gelişir ve olgun B hücrelerinin eksikliğine, dolayısıyla da ciddi hipogamaglobulinemiye yol açar (22). AHÖ monositler ve trombositler gibi B hücresi dışı hücrelerde BTK ekspresyonu değerlendirilerek XLA tanısını koymada yardımcıdır (23). BTK ekspresyonunun azalması veya eksikliği, genetik testlerle doğrulanarak XLA tanısı güçlendirilebilmektedir (24).

• *Forkhead box P3 (FOXP3)*

FOXP3, düzenleyici T hücrelerinin (Treg) gelişimi ve işlevi için kritik bir transkripsiyon faktörüdür. FOXP3 genindeki mutasyonlar, şiddetli otoimmünite ve enflamatuvar bozukluklarla karakterize IPEX sendromuna yol açar (25). CD4⁺ T hücrelerinde FOXP3 ekspresyonu AHÖ sistemi ile değerlendirilerek Treg işlevindeki kusurların saptanmasında yardımcıdır (26). FOXP3 ekspresyonunun azalması veya eksikliği, IPEX tanısını desteklemekte ve genetik testlerle daha ileri doğrulama sağlanmaktadır.

Tablo 2: PİY tanısında kullanılan başlıca hücre içi proteinler

Protein	İmmün Hücre Tipi	Olası Tanı
Adenosine Deaminase (ADA)	T, NK hücreleri	Ağır Kombine İmmün Yetersizlik (ADA-AKİY)
Bruton Tyrosine Kinase (BTK)	Monositler, Plateletler	X'e bağlı Agammaglobulinemi (XLA)
CTLA4	Düzenleyici T hücreleri (Treg)	CTLA4 Eksikliği
Dedicator of Cytokines 8 (DOCK8)	Lenfositler	DOCK8 Eksikliği
Forkhead Box P3 (FOXP3)	Düzenleyici T hücreleri (Treg)	İmmün Disregülasyon, Poliendokrinopait, Enteropati, X'e bağlı Sendrom (IPEX)
Munc13-4	Trombositler	Ailesel Hemofagositik Lenfositiositoz 3 (FHL3)
Nükleer Faktör κB (NF-κB)	T, NK hücreleri, Monositler	Hiper IgM yüksekliği ile immün yetersizlik, Yaygın Değişken İmmün Yetersizlik (CVID)
Perforin	NK hücreleri, Sitotoksik T hücreleri	Ailesel Hemofagositik Lenfositiositoz 2 (FHL2), X'e bağlı Lenfoproliferatif Hastalık (XLP)
Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 1 (STAT1)	Lenfositler	Kronik Mukokutanöz Kandidiyazis (KMK), Hiper IgE sendromu (HIES)
Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3 (STAT3)	Lenfositler	Hiper IgE Sendromu (HIES)
SLAM- ilişkili Protein (SAP)	CD8 ⁺ T hücreleri, NK hücreleri	X'e bağlı Lenfoproliferatif Hastalık 1 (XLP1)
Wiskott-Aldrich Sendrom Proteini (WASP)	Lenfositler, Trombositler	Wiskott-Aldrich Sendromu (WAS), X'e bağlı Trombositopeni (XLT)
X'e bağlı Apoptoz İnhibitör Proteini (XIAP)	Lenfositler	X'e bağlı Lenfoproliferatif Hastalık type 2 (XLP2)
ZAP70	T hücreleri	ZAP70 Eksikliği

• *LPS-Responsive Beige-Like Anchor Protein (LRBA)*

LRBA, T hücrelerinde CTLA-4 (Sitotoksik T-Lenfosit Antijen 4) adlı önemli bir bağışıklık kontrol noktası molekülünün hücre içi taşınmasını ve yüzeyde ifadesini düzenleyen kritik bir proteindir. LRBA genindeki mutasyonlar, bu proteinin eksikliğine veya işlev bozukluğuna yol açarak CTLA-4 proteininin geri dönüşümünü bozar ve immün yanıtları düzenlenememesine neden olur (27). CTLA-4 yüzey ifade miktarı azalır, bu da T hücre aktivasyonunun kontrolsüz artışına ve otoimmüniteye yol açar. LRBA eksikliği, otoimmün hastalıklar, lenfoproliferasyon ve enfeksiyonlara karşı artmış duyarlılıkla karakterize edilen bir primer immün yetersizlik tablosuna yol açar (28). LRBA eksikliği olan hastalarda, bu hücre içi proteinin ekspresyonu azalmış veya tamamen yok olmuş olabileceğinden, AHÖ, T hücrelerinde LRBA proteininin ekspresyonunu değerlendirmek için kullanılabilir (29).

Hücre içi protein analizinin yüzey belirteç analizleri ile birleştirilmesi, bağışıklık hücrelerinin işlevleri ve düzenleyici mekanizmaları hakkında kapsamlı bir anlayış sağlamaktadır. Hücre içi protein analizindeki zorluklar arasında, yanlış sonuçları önlemek için boyama koşullarının opti-

mize edilmesi, fiksasyon ve permeabilizasyon sırasında örneklerdeki proteinlerin bozulmasının önlenmesi ve bu koşullar altında antikor özgüllüğünün yanı sıra optimum sinyalin sağlanması yer alır. AHÖ birçok durumda şüphelenilen endikasyona dair hızlı bir teşhis olanağı sunsa da elde edilen bulgularının klinik veriler ve diğer tanısal testlerle entegre edilmesi gerekmektedir. AHÖ siteminin yeni nesil dizileme ve diğer moleküler tekniklerle entegrasyonu, PİY'lerin daha bütünsel bir şekilde anlaşılmasını sağlayarak daha doğru teşhislere ve hedefe yönelik tedavilere imkân sağlayabilir.

5. BAĞIŞIKLIK HÜCRESİ FONKSİYONLARININ ANALİZİ

Bağışıklık hücrelerinin fonksiyonel kapasitesinin değerlendirilmesi, PİY'lere sebebiyet veren mutasyonların bağışıklık yanıtı üzerindeki etkilerini anlamak için hayati öneme sahiptir (30). AHÖ, bağışıklık hücrelerinin çeşitli temel işlevsel yönlerini değerlendirmek için de uygun bir yöntemdir. Bu gibi yaklaşımlar genellikle periferik kandan izole edilmiş olan hücre gruplarının, hücre kültürü ortamında belirli muamelelere tabi tutulmasının ardından AHÖ ile analiz edilmesi şeklinde ilerlemektedir.

Örneğin, kronik granümatöz hastalık (KGH) tanısında kullanılan dihidrorhodamin (DHR) testinde, nötrofillerin oksidatif patlama kapasitesini değerlendirmek için AHÖ kullanılır. KGH'da NADPH oksidaz kompleksinin bileşenlerindeki mutasyonlar reaktif oksijen türlerinin (ROS) kusurlu üretimine yol açar. AHÖ sistemi DHR ile yüklenmiş nötrofillerin uyarılmadan önce ve sonra floresan yoğunluğunu ölçer. DHR'ın NADPH oksidaz kompleksinin normal fonksiyonu ile floresan özellikteki Rhodamine-123 molekülüne dönüşmesi sayesinde uyarılmış nötrofillerde yüksek düzeyde floresan sinyal artışı kaydedilir (31). Yetersiz artmış floresan sinyali, KGH tanısını destekleyen kusurlu bir oksidatif patlamayı gösterir.

Benzer şekilde, T ve NK hücrelerinin sitotoksik aktivitelerinin değerlendirilmesi AHÖ yardımıyla yüzey CD107a moleküllerinin ölçümüyle sağlanabilir. CD107a, hedef hücreyle karşılaşan ve sitotoksik granüllerini hedef hücre üzerine salgılayarak (degranülasyon) öldürme aktivitesi yürüten NK hücrelerinin yüzeyine bu granüllerle birlikte çıkan bir belirteç proteindir (32). NK hücre sitotoksitesini AHÖ ile değerlendirmek için hedef hücreyle karşılaşma sonrası yüzeyde biriken CD107a miktarı ölçülmektedir. Bu test, örneğin hemofagositik lenfositozda (HLH) görülen NK hücre işlev bozukluklarının teşhisinde oldukça faydalıdır (33, 34).

Sitokin sinyalleri ile ilgili fonksiyonel bozuklukların tespiti için ise sitokin sinyal iletiminde kilit rol oynayan hücre içi STAT moleküllerinin fosforilasyonu AHÖ kullanarak yürütülen testlerle analiz edilebilir. STAT fosforilasyonundaki bozukluklar, çeşitli PİY'lerle ilişkilendirilmiştir (35). AHÖ, sitokin stimülasyonundan sonra fosforile STAT proteinlerini (örneğin, fosfo-STAT1, fosfo-STAT4) tespit ederek tanıya büyük katkı sunabilir (36).

Fonksiyonel testler, yüzey ve hücre içi protein analizlerinden elde edilen statik fenotip bilgilerini tamamlayarak bağışıklık yanıtı hakkında dinamik bilgiler sunmaktadır. Bu testlerin diğer tanı verileriyle entegrasyonu, klinisyenlerin PİY'lerde mevcut olan bağışıklık kusurları hakkında kapsamlı bir anlayış kazanmalarına yardımcı olmakta ve daha hedefli, etkili tedavi stratejilerinin belirlenmesine rehberlik etmektedir.

Sonuç olarak, AHÖ sisteminin primer immün yetersizliklerin teşhis ve yönetiminde kritik bir araç olduğu kanıtlanmıştır. Lenfosit alt gruplarını analiz etme, spesifik hücre yüzeyi ve hücre içi proteinleri tespit etme ve bağışıklık hücre işlevlerini değerlendirme kabiliyeti, karmaşık im-

münolojik bozuklukların kapsamlı bir şekilde anlaşılmasını sağlar. AHÖ, fenotipik ve fonksiyonel verileri bir araya getirerek klinisyenlerin PİY'lerin altında yatan mekanizmaları ortaya çıkarmasını, doğru teşhis koymasını ve kişiye özel tedavi stratejileri geliştirmesini mümkün kılar.

İmmünoloji alanındaki ilerlemeler ve AHÖ teknolojisinin yeteneklerinin artması, tanılabilir potansiyelin sürekli olarak genişlemesine olanak tanımaktadır. İlerleyen yıllarda, yeni belirteçlerin geliştirilmesi ve analitik tekniklerin iyileştirilmesi ile PİY tanısında daha da etkili bir yaklaşım sunulması mümkündür. AHÖ sisteminin gelecekteki yönelimleri arasında, yeni nesil dizileme ve diğer moleküler araçlarla entegrasyon yer alır, bu da hasta bakımını iyileştirmek ve PİY'lerin daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasını sağlamak için önemli fırsatlar sunar.

Sonuç olarak, AHÖ, primer immün yetersizliklerin tanısında klinik immünoloji alanında vazgeçilmez bir teknoloji olmaya devam etmektedir. Bağışıklık hücresi işlevselliğinin yanı sıra hücre yüzeyi ve hücre içi protein ifadesi hakkında ayrıntılı bilgi sunma kapasitesi, bu teknolojiyi bağışıklık sistemi bozukluklarını anlamada paha biçilmez kılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Abraham RS, Aubert G. Flow cytometry, a versatile tool for diagnosis and monitoring of primary immunodeficiencies. *Clin Vaccine Immunol* 2016;23(4):254-71.
2. Maciorowski Z, Chattopadhyay PK, Jain P. Basic multicolor flow cytometry. *Curr Protoc Immunol* 2017;117:5.4.1-5.4.38.
3. Kanegane H, Hoshino A, Okano T, Yasumi T, Wada T, Takada H, et al. Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases. *Allergol Int* 2018;67(1):43-54.
4. van Dongen JJM, van der Burg M, Kalina T, Perez-Andres M, Mejstrikova E, Vlkova M, et al. EuroFlow-based flowcytometric diagnostic screening and classification of primary immunodeficiencies of the lymphoid system. *Front Immunol* 2019;10:1271.
5. Madkaikar MR, Shabrish S, Kulkarni M, Aluri J, Dalvi A, Kelkar M, et al. Application of flow cytometry in primary immunodeficiencies: Experience from India. *Front Immunol* 2019;10:1248.
6. Warnatz K, Denz A, Dräger R, Groth C, Wolff-Vorbeck G, Eibel H, et al. Severe deficiency of switched memory B cells (CD27(+) IgM(-)IgD(-)) in subgroups of patients with common variable immunodeficiency: A new approach to classify a heterogeneous disease. *Blood* 2002;99(5):1544-51.
7. Boldt A, Bitar M, Sack U. Flow cytometric evaluation of primary immunodeficiencies. *Clin Lab Med* 2017;37(4):895-913.
8. França TT, Barreiros LA, al-Ramadi BK, Ochs HD, Cabral-Marques O, Condino-Neto A. CD40 ligand deficiency: Treatment strategies and novel therapeutic perspectives. *Expert Rev Clin Immunol* 2019;15(5):529-40.

9. O’Gorman MR. Measurement of CD40 ligand (CD154) expression on resting and in vitro-activated T cells. *Curr Protoc Cytom.* 2001;Chapter 6:Unit 6.7.
10. Giliani S, Mori L, de Saint Basile G, Le Deist F, Rodriguez-Perez C, Forino C, et al. Interleukin-7 receptor alpha (IL-7Ralpha) deficiency: Cellular and molecular bases. Analysis of clinical, immunological, and molecular features in 16 novel patients. *Immunol Rev* 2005;203:110-26.
11. van de Vijver E, Maddalena A, Sanal Ö, Holland SM, Uzel G, Madkaikar M, et al. Hematologically important mutations: leukocyte adhesion deficiency (first update). *Blood Cells Mol Dis* 2012;48(1):53-61.
12. Yaz I, Ozbek B, Bildik HN, Tan C, Oskay-Halacli S, Soyak-Aytemkin E, et al. Clinical and laboratory findings in patients with leukocyte adhesion deficiency type I: A multicenter study in Turkey. *Clin Exp Immunol* 2021;206(1):47-55.
13. Smulski CR, Eibel H. BAFF and BAFF-receptor in B cell selection and survival. *Front Immunol* 2018;9:2285.
14. Warnatz K, Schlesier M. Flowcytometric phenotyping of common variable immunodeficiency. *Cytometry B Clin Cytom* 2008;74(5):261-71.
15. Pestka S, Kotenko SV, Muthukumaran G, Izotova LS, Cook JR, Garotta G. The interferon gamma (IFN-gamma) receptor: A paradigm for the multichain cytokine receptor. *Cytokine Growth Factor Rev* 1997;8(3):189-206.
16. Kerner G, Rosain J, Guérin A, Al-Khabaz A, Oledga-Quinta C, Rapaport F, et al. Inherited human IFN- γ deficiency underlies mycobacterial disease. *J Clin Invest* 2020;130(6):3158-71.
17. Quispel WT, Stegehuis-Kamp JA, Santos SJ, von Wengen A, Dompeling E, Egeler RM, et al. Intact IFN- γ R1 expression and function distinguishes Langerhans cell histiocytosis from mendelian susceptibility to mycobacterial disease. *J Clin Immunol* 2014;34(1):84-93.
18. Lovelace P, Maecker HT. Multiparameter Intracellular Cytokine Staining. *Methods Mol Biol* 2018;1678:151-66.
19. Rivers E, Thrasher AJ. Wiskott-Aldrich syndrome protein: Emerging mechanisms in immunity. *Eur J Immunol* 2017;47(11):1857-66.
20. Chiang SCC, Vergamini SM, Husami A, Neumeier L, Quinn K, Ellerhost T, et al. Screening for Wiskott-Aldrich syndrome by flow cytometry. *J Allergy Clin Immunol* 2018;142(1):333-5.e8.
21. Jin Y, Mazza C, Christie JR, Giliani S, Fiorini M, Mella P, et al. Mutations of the Wiskott-Aldrich Syndrome Protein (WASP): hotspots, effect on transcription, and translation and phenotype/genotype correlation. *Blood* 2004;104(13):4010-9.
22. Corneth OBJ, Klein Wolterink RGJ, Hendriks RW. BTK signaling in B cell differentiation and autoimmunity. *Curr Top Microbiol Immunol* 2016;393:67-105.
23. Futatani T, Miyawaki T, Tsukada S, Hashimoto S, Kunikata T, Arai S, et al. Deficient expression of Bruton’s tyrosine kinase in monocytes from X-linked agammaglobulinemia as evaluated by a flow cytometric analysis and its clinical application to carrier detection. *Blood* 1998;91(2):595-602.
24. Ma CS, Tangye SG. Flow cytometric-based analysis of defects in lymphocyte differentiation and function due to inborn errors of immunity. *Front Immunol* 2019;10:2108.
25. Borna S, Meffre E, Bacchetta R. FOXP3 deficiency, from the mechanisms of the disease to curative strategies. *Immunol Rev* 2024;322(1):244-58.
26. Gavin MA, Torgerson TR, Houston E, DeRoos P, Ho WY, Stray-Pedersen A, et al. Single-cell analysis of normal and FOXP3-mutant human T cells: FOXP3 expression without regulatory T cell development. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103(17):6659-64.
27. Ezen E, Çatak MC, Çatak FB, Piepoli S, Zahedimarem P, Ultanir E, et al. Structure and function of the LRBA protein. *Turkish J Immunol* 2024;12:37-46.
28. Jamee M, Hosseinzadeh S, Sharifinejad N, Zaki-Dizagi M, Matloubi M, Hasani M, et al. Comprehensive comparison between 222 CTLA-4 haploinsufficiency and 212 LRBA deficiency patients: a systematic review. *Clin Exp Immunol* 2021;205:28-43.
29. Lo B, Zhang K, Lu W, Zheng L, Zhang Q, Kanellopoulou C, et al. AUTOIMMUNE DISEASE. Patients with LRBA deficiency show CTLA4 loss and immune dysregulation responsive to abatacept therapy. *Science* 2015;349(6246):436-40.
30. Salzer U, Sack U, Fuchs I. Flow cytometry in the diagnosis and follow up of human primary immunodeficiencies. *EJIFCC* 2019;30(4):407-22.
31. Yu JE, Azar AE, Chong HJ, Jongco AM, Prince BT. Considerations in the diagnosis of chronic granulomatous disease. *J Pediatric Infect Dis Soc* 2018;7(Suppl 1):S6-S11.
32. Alter G, Malenfant JM, Altfeld M. CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. *J Immunol Methods* 2004;294(1-2):15-22.
33. Chiang SCC, Bleesing JJ, Marsh RA. Current flow cytometric assays for the screening and diagnosis of primary HLH. *Front Immunol* 2019;10:1740.
34. Marcenaro S, Gallo F, Martini S, Santoro A, Griffiths GM, Arico M, et al. Analysis of natural killer-cell function in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL): defective CD107a surface expression heralds Munc13-4 defect and discriminates between genetic subtypes of the disease. *Blood* 2006;108:2316-23.
35. Mogensen TH. IRF and STAT transcription factors - from basic biology to roles in infection, protective immunity, and primary immunodeficiencies. *Front Immunol* 2019;9:3047.
36. Esteve-Solé A, Sologuren I, Martínez-Saavedra MT, Deya-Martinez, Oleaga-Quintas C, Martínez-Barricarte R, et al. Laboratory evaluation of the IFN- γ circuit for the molecular diagnosis of Mendelian susceptibility to mycobacterial disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018;55(3):184-204.

Fonksiyonel Analizler

Dr. Öğr. Üyesi. Nilgün AKDENİZ
Prof. Dr. Umut Can KÜÇÜKSEZER
Prof. Dr. Esin ÇETİN AKTAŞ
Prof. Dr. Günnur DENİZ

1. LENFOSİT PROLİFERASYON ANALİZİ

Bağışıklık sistemi, vücut savunmamızda yer alan, organizmayı bakteri, virüs, mantar ve parazitler gibi patojenlere karşı korumanın yanı sıra, organizmanın kendi hücrelerinin kontrolden çıkmış bölünmesi sonucu ortaya çıkan kanserlere karşı da savunan karmaşık yapıdır. Doğal ve edinsel olarak iki kola ayrılabilen bağışıklık sisteminde salgısal ve hücreler bileşenler bulunmakta, bu karmaşık sistem elemanlarının denge içerisindeki etkileşimi ise, normal savunmanın sağlanması kadar aşırı immün yanıtın önlenmesi açısından da önem taşımaktadır (1).

Bağışıklık sisteminde bulunan hücrelerin oranları ve sitokinler, kompleman gibi salgısal faktörlerin değerleri, sağlıklı bir immün yanıt için önem taşımakla beraber, günümüzde hücre fonksiyonlarının incelenmesi daha fazla önem kazanmaktadır (2). Savunma sisteminin aşırı çalışması, otoimmünite ve aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olabilirken, sistemdeki eksiklikler veya bozukluklar ise immün yetersizlikler ve kanserlerle sonuçlanabilmektedir. Sağlıklı bir immün yanıt ise tehditleri ortadan kaldırırken organizmanın bütünlüğünü de korumalıdır (3).

Hücre aktivasyon belirteçleri, lenfosit proliferasyonu, hücre içi sitokinler ve sitotoksik aktivitenin belirlenmesine yönelik laboratuvar uygulamaları, önemli immün fonksiyon çalışmaları olarak dikkat çekmektedir.

1.1. Lenfosit Proliferasyon Testleri

Hücre proliferasyonu veya lenfosit transformasyonu adıyla bilinen çalışmalarda temel amaç, hücre kültürü or-

tamında, çeşitli uyarılara cevaben bölünen hücrelerin tespitine dayanmaktadır. İmmün yanıtın gelişimi esnasında, antijeni tanıyan naif lenfositlerin cevapları; aktivasyon, klonal çoğalma (proliferasyon) ve fonksiyonel farklılaşma olarak dikkat çekmektedir. Günümüzde, proliferasyon çalışmaları, temelde, T ve B lenfositlerin antijenler, sitokinler ve mitojenler gibi uyarılara cevabını değerlendirmek için kullanılmaktadır. CD4⁺ T lenfosit fonksiyonları, enfeksiyonların önlenmesi, aynı zamanda, protein antijenlere B hücre yanıtlarında, antikor izotip seçiminde yardım sağlanması açısından oldukça önemlidir (4, 5). Adaptif immünite hücreleri, antijenleri özgül reseptörlerle tanıyarak, klonal olarak çoğalırlar ve hızlıca efektör hücrelere farklılaşırlar. Mitojenler *in vitro* yanıtı uyarak, hücre içi sinyalizasyon yoluyla hücre bölünmesini başlatabilen moleküllerdir. Fitohemaglutinin (phytohemagglutinin - PHA) fitomitojen olarak adlandırılan bir lektin olup günümüzde geniş kullanım alanı bulunmaktadır (6, 7). PHA'nın sadece T hücrelerini uyabilme gücü bilinmesine karşın, aktive T hücrelerinin sitokin salgıları ile B hücrelerini de aktive edebildiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, pokeweed mitojen (PWM) hem T hem B hücrelerini uyabilirken, lipopolisakkaritlerin (LPS) ise B hücre proliferasyonunu tetiklediği bilinmektedir. Yine uyarıcı olarak kullanılabilen CD2, CD3 ve CD28 moleküllerine yönelik monoklonal antikor kokteyli (CD-Mix) güçlü T hücre yanıtını uyarmakla beraber, PHA gibi B hücre proliferasyonunu da indirekt olarak uyatabilmektedir (5, 8, 9). Bu mitojenler haricinde, çeşitli antijenler (tetanoz toksoidi, kandida antijeni, aşı antijenleri), uyarıcı sitokinler, konkanavalin A gibi farklı moleküller de proliferasyonu tetikleyici olarak kullanılabilir.

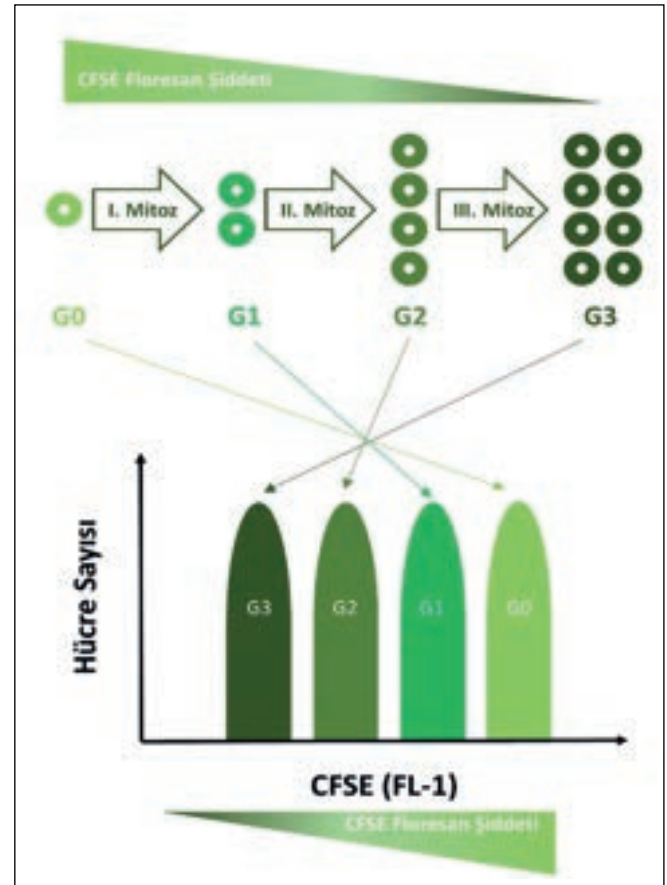
Lenfosit proliferasyonu çalışmalarında temel yöntem (H^3)-timidin inkorporasyonudur. Bu yöntemde, timin bazı analogu olarak kullanılan radyoaktif (H^3)-timidin, yeni bölünmekte olan hücrelerin DNA'sına bağlanır ve oluşan radyoaktivitenin beta sayıcısı aracılığı ile ölçülmesi sayesinde hücre bölünme hızı hakkında bilgi elde edilmektedir (10). Ancak, radyoaktivite kullanımının gerektirdiği özel koşullar, teknik zorluklar ve en önemlisi, çoğalan hücre alt grubu hakkında bilgi eksikliği nedeniyle bu yöntem yerini akan hücre ölçer kullanımı ile gerçekleştirilen proliferasyon analiz yöntemlerine bırakmıştır (11).

Akan hücre ölçer ile proliferasyon analizinin gerçekleştirilmesi için, florokrom özelliğine sahip, hücre membranından serbestçe geçerek hücre içi moleküllere bağlanabilen maddelere ihtiyaç duyulmaktadır. Karboksifloresein süksinimidil ester (CFSE) floresan özelliğe sahip olan, hücre içerisine kolayca girebilen ve hücre yapıları ile güçlü bağlantılar kurabilen bir madde olarak proliferasyon analizlerinde geniş kullanım alanına sahiptir. Hücre proteinlerine kovalent bağlarla bağlanan CFSE, her bir mitoz bölünme sonucu, oluşan kardeş hücrelere eşit olarak (%50) dağıtmakta, eş zamanlı olarak floresan şiddeti yarıya inmektedir (Şekil 1). Bu sayede, akan hücre ölçer cihazında hücre bölünmelerini takip etmek mümkün olmaktadır (12, 13). Akan hücre ölçer ile T lenfosit proliferasyon tayininin, immün yetersizliklerin tanı ve takibinde önemi bildirilmiştir (14-16).

1.1.1. Çalışma Prosedürü

CFSE analizi için, öncelikle lenfositlerin izolasyonu gerekmektedir. Periferik kan mononükleer hücreler (PBMC), taze alınmış heparinli venöz kan örneklerinden, ficol yoğunluk gradyan yöntemi ile saflaştırılabilir. Tüm aşamalarda sterilite ve hijyene dikkat edilmelidir. Bu amaçla, taze heparinize venöz kan 1:1 oranında fosfat tampon çözeltisi ile seyreltilir, daha sonra bu karışım, ficol çözeltisi üzerine 2:1 oranında yayılarak 800G'de, 20dk süreyle santrifüj edilir. Sürenin sonunda ficol ve plazmanın kesişim noktasında bulunan (interfaz) PBMC'ler toplanarak bir başka falkon tüpüne aktarılarak 2 defa, fosfat tampon tuz (PBS) çözeltisi ile 300G'de, 5'er dakika süreyle yıkanır. Süpernatantın uzaklaştırılmasının ardından pellet, yani PBMC tabakası, penisilin, streptomisin, L-glutamin, non-esansiyel amino asitler, vitaminler, sodyum piruvat ve fetal sığır serumu ile zenginleştirilmiş RPMI (C-RPMI) ile re-süspanse edilerek ışık mikropkonda, tripan dışlama yöntemi ile PBMC sayısı belirlenir. PBMC sayımından son-

ra, hücre süspansiyonu içerisine, final konsantrasyonu 5 mikro molar olacak şekilde CFSE çözeltisi eklenip birkaç kere pipetleme ile iyice karıştırıldıktan sonra, 6 dk süreyle karanlıkta ve soğukta inkübasyon gerçekleştirilmelidir. Bu aşamanın ardından, hücreler 2 defa, PBS ile yıkanır ve C-RPMI ile re-süspanse edildikten sonra, tripan mavisi ile ışık mikroskopu altında canlı hücre sayısı saptanır. CFSE ile işaretlenmiş PBMC konsantrasyonu, 1 mL RPMI içerisinde 1×10^6 hücre olacak şekilde ayarlanır ve deney planına



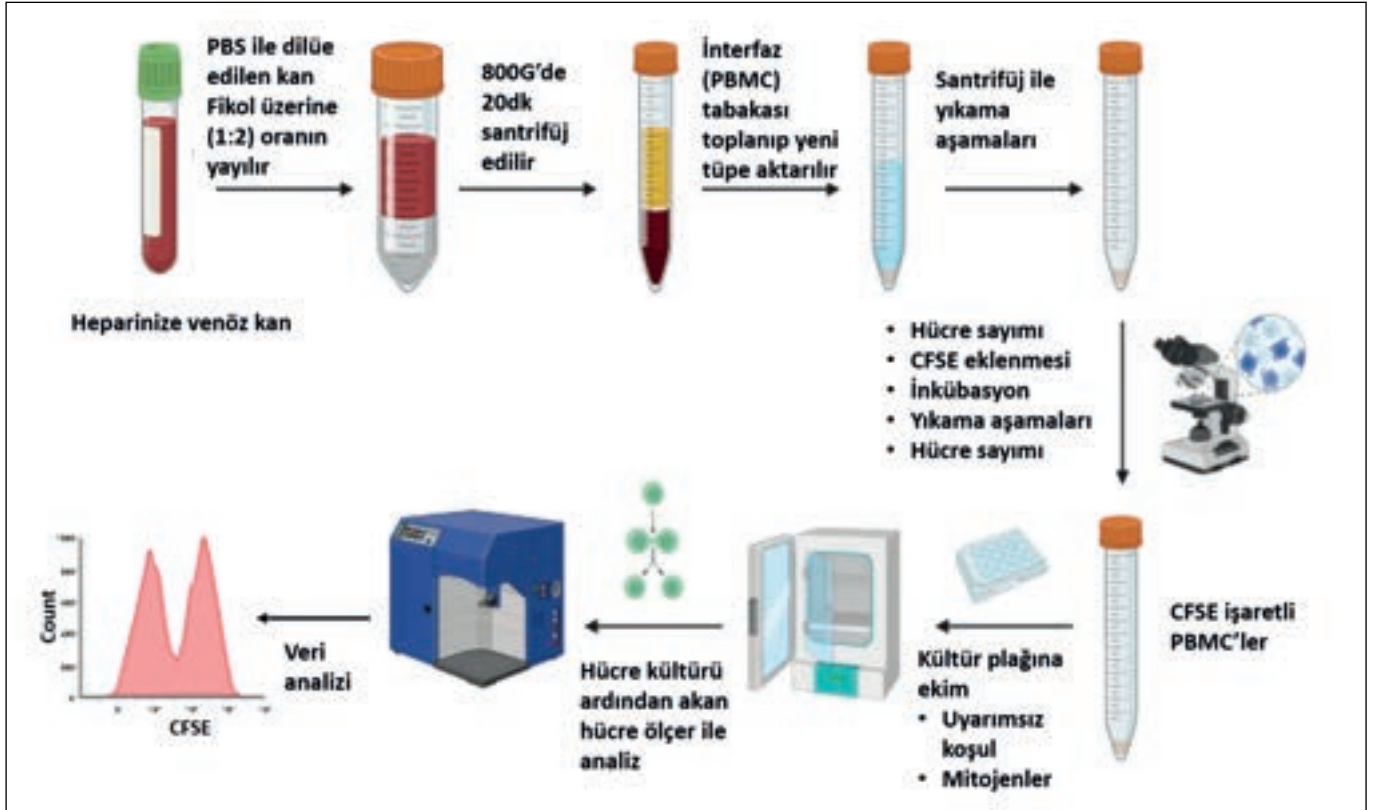
Şekil 1. Karboksifloresein süksinimidil ester (CFSE) dilüsyon yönteminin şematik gösterimi. Hücre kültürünün başlangıcındaki hücreler (G0), uyarıcıların etkisiyle, mitoz bölünme geçirirken, her nesilde, hücre içerisindeki CFSE boyası kardeşlere yarı yarıya paylaşılır. Bu şekilde, her bir bölünmede CFSE boyasının floresan şiddeti %50 oranında azalmaktadır. Hücre sayısı mitoz bölünme ile artarken, her bir hücre neslinde (G1, G2, G3) floresan şiddeti ters orantılı olarak azalmaktadır. Akan hücre ölçer histogram grafiğinde, en güçlü floresan şiddetine sahip G0 hücreleri en sağda (en güçlü floresan) yer alırken, her bir bölünme ile boya miktarı kardeş hücrelere paylaşıldıkça, grafikteki hücre toplulukları sola (düşük floresan şiddetine) doğru kaymaktadır. Başlangıçta kullanılan CFSE konsantrasyonu oranında hücre neslinin görüntülenmesi mümkündür

göre hücre kültürü aşamalarına geçilir (8). Bu aşamalarda, deney amacına göre, hücre mitozunu tetiklemek için uygun uyaranlar seçilmelidir. Araştırmacı, incelemek istediği hücre grubuna ve araştırmak istediği patogeneze göre farklı proliferasyon uyaranlarını, çalışmasına göre seçerek ve uygun dozları ön deneylerle belirleyerek çalışma tasarımını yapmalıdır. Hücre kültürü için uygun süre, zayıf mitojenler ve antijenler için 120 saat, güçlü mitojenler için ise 72 saat olarak önerilmekle beraber, yapılan çalışmanın özelliğine göre süre optimizasyonu gereklidir.

Kültür aşamasından sonra, PBMC toplanarak, gerekiyorsa, incelenecek yüzey moleküllerinin (CD4 - yardımcı T, CD8 - sitotoksik T, CD19 - B, ya da NK hücre gruplarına yönelik CD3, CD16, CD56 gibi) boyanmasından sonra akan hücre ölçer cihazı ile inceleme aşamalarına geçilir (Şekil 2). Bu yüzey molekül boyalarının seçilmesinde en önemli nokta, CFSE'nin floresin izotiyosiyanat (FITC) (fl-1) kanalından okunması nedeniyle, diğer yüzey işaretçilerinin bu florokrom dışındakilerden seçilmesidir. Ayrıca, CFSE ile fikoeritrin (PE) kompensasyonunda çeşitli zorlukların olduğu akılda tutulmalıdır.

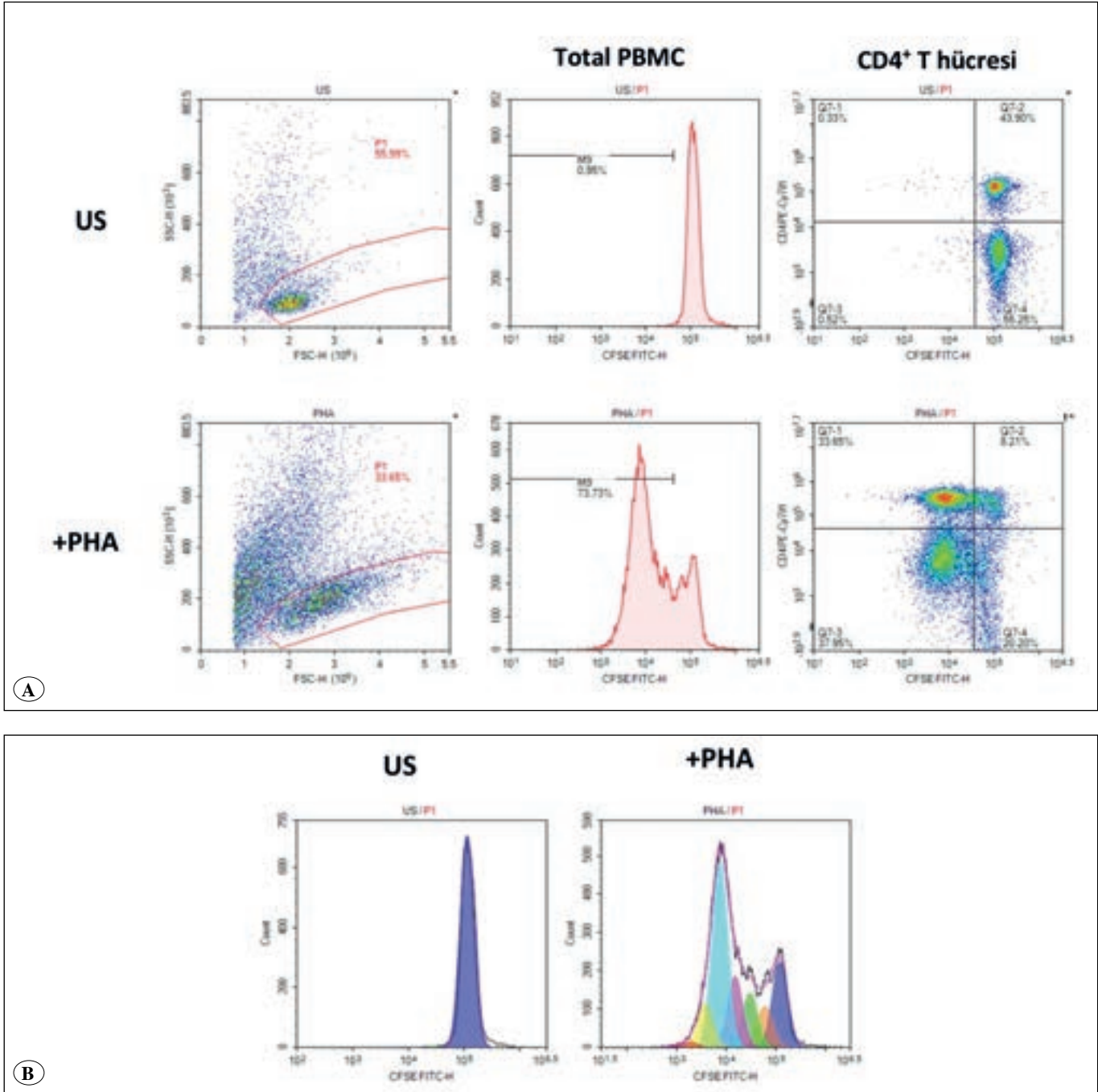
Analiz aşamalarında, eğer total proliferasyon incelenecekse histogram grafiği, yüzey belirteçleriyle beraber inceleme yapılacaksa dot plot ya da dansite plot grafikleri kullanılabilir. Analizde, öncelikle önden saçılım (FSC) - yandan saçılım (SSC) grafiğinde lenfositler kapılanmalıdır. Mitoz aşamalarında olan hücrelerin boyut ve içeriğindeki artışlar nedeniyle, daha geniş kapı kullanımının gerekliliği akılda tutulmalıdır. Grafiklerde, uyarımsız (US) koşullar için yapılan kadranlama sayesinde spontan çoğalma saptanırken, bu kadran, mitojen uyarımlı koşullara kopyalanarak değerlendirme yapılabilir (Şekil 3).

Akan hücre ölçer ile proliferasyon değerleri, bölünen hücrelerin yüzdesi olarak ifade edilmektedir. Ayrıca, uyarımlı koşul/uyarımsız koşul formülü ile uyarım indeksi (stimulation index: SI) olarak elde edilebilen SI değeri, uyarım gücünü göstermektedir. $SI \geq 2$, genel anlamda uyarım eşiği olarak kabul görmekte beraber, güçlü mitojenlerin çok yüksek SI değerlerini uyarabildiği, bununla beraber antijenik uyarımlarda ise daha düşük değerlerin dahi pozitif olarak değerlendirilebileceği bilinmelidir.



Şekil 2. Akan hücre ölçer aracılığı ile, CFSE boyası kullanılarak gerçekleştirilen proliferasyon çalışmaları için yöntem özeti

PBS: Fosfat tampon tuz, PBMC: Periferik kan mononükleer hücre, CFSE: Karboksifloresin süksinimidil ester



Şekil 3. CD4⁺ T hücre proliferasyonu incelemesine yönelik örnek çıktı A Şekilde fitohemaglutinin (PHA) mitojenine cevaben proliferasyon görülmektedir. Uyarılmamış koşulda (US), FSC/SSC grafiğinde yapılan kapılamanın ardından, histogram grafiğinde total PBMC proliferasyonu görülmektedir. CD4 ile yüzey boyaması yapıldığından, density plot grafiğinde CD4⁺ T lenfositlerinin proliferasyonu görülmektedir. PHA varlığında, FSC/SSC grafiğinde, mitoz bölünme nedeniyle artmış hücre yoğunluğu ve boyutu gözlenmektedir, her bir bölünme ile yarı yarıya azalan CFSE sayesinde ise histogram ve dot plot grafiklerinde lenfositlerin proliferasyon olmaları değerlendirilebilmektedir. Bu analizde, proliferasyon, bölünmüş hücre yüzdesi olarak ifade edilmiştir. **B**) Jenerasyon analizini gösteren bu figürde, uyarılmamış koşulda bazal proliferasyon gözlenmektedir, PHA'nın neden olduğu güçlü proliferasyona bağlı ortaya çıkan hücre nesilleri ise sağdaki temsili grafikte gözlenebilmektedir. Bu analiz, bazı yazılımlar tarafından otomatik olarak yapılabilmektedir.

US: Unstimüle, **PHA:** Fitohemaglutinin, **PBMC:** Periferik kan mononükleer hücre

Sonuç olarak, lenfositlerin bölünme hızlarının değerlendirildiği proliferasyon testleri gerek immünolojik araştırmalar gerekse klinik tanıda kendisine kullanım alanı bulmaktadır. Akan hücre ölçer sistemlerinin gelişimine paralel olarak, proliferasyon testleri de hem kolaylaşmış hem daha fazla bilgi verir hâle gelmiştir. Çok renkli akan hücre ölçer sistemleri sayesinde pek çok hücre grubunun aynı anda incelenmesi mümkündür. Ancak, başarılı bir laboratuvar çalışması için deneyim gerekmektedir. Farklı tanılara yönelik farklı hücre gruplarının araştırılması için, ilgili hücre gruplarının doğru karakterize edilmesi, uygun mitojenlerle uygun uyarım sürelerinin seçilmesi gereklidir. Klinik ile laboratuvarların iş birliğinin ise, en güçlü ve doğru sonuçların ön şartı olduğu unutulmamalıdır.

2. HÜCRE İÇİ SİTOKİN ÖLÇÜMÜ

Sitokinler, doğal ve edinsel immün yanıtta önemli görevleri olan aracı moleküller olarak fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde kritik roller oynamaktadırlar. Bu çözünür faktörler, dokuda bulunan hücreler dahil olmak üzere çok farklı hücre alt gruplarının göçünü, aktivasyonunu ve proliferatif yanıtlarını düzenleyerek immün sistemin regülasyonunda görev almaktadırlar. Sitokinlerin doğru bir şekilde tespit edilmesi ve tanımlanması sağlıkta ve hastalıkta bağışıklık sistemi dinamiklerinin anlaşılması için temel öneme sahiptir. Bu nedenle, biyolojik sıvılardaki tek bir sitokinden ziyade farklı sitokinlerin birlikte değerlendirilmesi, çeşitli fizyolojik ve/veya patolojik durumların daha iyi araştırılması için optimal bir strateji olabilmektedir (17). Uzun yıllardır sitokin üretiminin hücrel ve moleküler düzeyde değerlendirilmesi için yeni teknikler geliştirilmeye devam etmekte, insan ve hayvan modellerinde sitokin saptama yöntemleri yoğun bir şekilde araştırılmaktadır.

Akan hücre ölçer cihazı hızlı bir şekilde hücre içi sitokinleri ölçen güçlü bir analitik tekniktir. Bu teknik sadece sitokin ekspresyona eden hücre oranlarını belirlemekle kalmamakta aynı zamanda sitokin salgılayan hücre alt gruplarının belirlenmesine de olanak sağlamaktadır. Hücrelerin dış zarları antikorlar gibi büyük moleküler yapılara karşı geçirgen değildir. Bu nedenle boyama yönteminde hem hücre morfolojisinin hem de hücre içi antijenitesinin korunması amacıyla fiksasyon ve permeabilizasyon aşamaları mevcuttur. Hücre içi sitokin boyama yönteminde uyarım sonrası hücreler protein salınım inhibitörü ile kısa süreli inkübe edilmektedir. Bu aşama salgılanan sitokinlerin an-

tijen-spesifik hücrelerin içinde tutulmasına izin vermekte ve sonrasında sitokinlerin ve florokrom işaretli monoklonal antikorlar ile boyanmasını sağlamaktadır. Günümüzde sofistike akan hücre ölçer cihazlarının bulunması ve çok sayıda hücre yüzey ve hücre içi moleküllerine spesifik üretilen florokrom işaretli antikorların kullanımı ile aynı anda farklı hücre alt gruplarından salgılanan sitokinlerin çok parametli analizleri yapılabilmektedir. Farklı hücre alt gruplarında hücrelerin sitokin üretimi ile aynı anda hücre canlılıkları ve proliferasyon oranları eşzamanlı olarak değerlendirilebilmektedir (18-21).

Sitokin seviyelerinin belirlenmesinde enzime bağlı immüno-sorbent analizi (ELISA), sitokinlerin tek hücre düzeyinde belirlenmesini sağlayan SPOT oluşturan hücre (ELISPOT) analizi, sınırlayıcı dilüsyon analizi, *in situ* hibridizasyon ve semikantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknikleri kullanılmaktadır. Multipleks boncuk tabanlı immünolojik testlerin keşfi biyolojik sıvılar ve kültür üst sıvılarında sitokinler ve çözünür faktörlerin analiz yaklaşımını önemli ölçüde değiştirmiştir. Bu yöntemin temel prensibi, ELISA tekniğinin bir versiyonu gibi "katı" bir destek olarak görev yapan spesifik antikor kaplı mikroboncukların kullanımıdır. Mikroboncuklar, florokrom ile işaretlendiğinden akan hücre ölçer cihazları tarafından tespit edilebilmektedir. Örnekle mikroboncukların inkübasyonu sonrası bakılması hedeflenen sitokin mikroboncuk üzerindeki antikoruna bağlanır. Farklı bir florokrom ile konjuge sekonder antikorun eklenmesi sitokin-mikroboncuk kompleksinin akan hücre ölçer cihazında tespitine olanak sağlamaktadır. Sitokin düzeylerinin konsantrasyon dozları bilinen standartlarla hazırlanan standart eğrilerin kullanımı yoluyla belirlenmektedir. Farklı boyuttaki ve/veya farklı floresan yoğunluğuna sahip boncukların bir arada kullanımı, bu yöntemin kullanılabilirliğini artırmakta ve bu özellik sayesinde aynı örnekte eş zamanlı olarak 100 analiti değerlendirmek mümkün olabilmektedir. Farklı ticari satıcılar tarafından üretilen çeşitli multipleks boncuk tabanlı test kitleri bulunmaktadır. Bu kitlerin her biri kullanılacak örneğin hacmi (genellikle 15-50 µL arasında değişen), test süresi (inkübasyon ve yıkama adımlarının süresine bağlı olarak ortalama olarak sadece birkaç saat), mikroboncukların yapısı ve testin duyarlılığı gibi farklı özelliklere sahiptir. Multiboncuk tabanlı kitler insan, fare ve sıçan kaynaklı çözünebilir proteinlerin, immüno-globulinlerin ve sinyal iletiminde rol oynayan faktörlerin analizlerine olanak sağlamaktadır (22, 23).

2.1. Periferik Kan Mononükleer Hücre İzolasyonu

Hücre içi sitokin analizlerinde sıklıkla periferik venöz kan kullanılmaktadır. Periferik kan heparin içeren tüplere alınmakta ve 8 saat oda ısısında işlem öncesi gerekirse muhafaza edilebilmektedir (19). Taze izole edilmiş PBMC deneysel aşamalarda çok sık kullanılan hücrelerdir. PBMC izolasyonunda Ficoll-Histopaqu (Fikol) gradiyent santrifüj yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde fosfat tuz çözeltisi (PBS) ile dilüe edilen veya dilüe edilemeyen heparinize kan 1:2 (Fikol:Periferik kan) oranında fikol çözeltisi üzerine yayılarak oda ısısında 1800 rpm'de 20 dakika santrifüj sonrası PBMC tabakası dikkatlice toplanarak canlılık analizleri ve hücre sayımlarının ardından deneysel aşamalarda kullanıma hazır hâle gelmektedir. Fikol ile santrifüj yönteminde PBMC dışında plazma örnekleri de izole edilebilmekte ve plazma sitokin düzeyleri ELISA ve boncuk tabanlı akan hücre ölçer yöntemleri gibi farklı yöntemlerle analiz edilebilmektedir (24, 25). PBMC'ler taze olarak çalışılmak istenmediği durumlarda %90 fetal sığır serumu ve %10 dimetilsülfoksit (DMSO) içinde polipropilen özel kriyotüplerde dondurulabilir (26). Hücreler kısa sürede kullanılacak ise -80°C derin dondurucu veya uzun sürelerde likit sıvı nitrojen tanklarında donmuş halde muhafaza edilebilmekte ve deneysel aşamalarda kullanılacakları zaman uygun metotlarla çözdürülüp kullanılabilir (27).

2.2. Lenfositlerin *in vitro* Kısa Süreli Kültür Aşamaları

Hücrelerin *in vitro* aktivasyon aşamasında *Stafilokok enterotoksin B*, forbol esterleri/kalsiyum iyonoforları ve fitohemaglutininler gibi poliklonal aktivatörler sitokin üreten hücrelerin uyarılması ve karakterizasyonu için kullanılmaktadır. Lenfositlerin kısa süreli *in vitro* kültür aşamalarında negatif kontrol olarak uyarılan eklenmemiş hücre süspansiyonu, pozitif kontrol olarak antijen, kostimülatör moleküller (anti-CD28 ve anti-CD49d antikoları) veya sitokin salınım uyarıcıları ile spesifik veya non-spesifik olarak uyarılmış hücreler kullanılmaktadır. CD80 (B7-1) ve CD86 (B7-2)'nin ligandı olan CD28 molekülü T hücreleri için etkili bir kostimülatör moleküldür (28). Pozitif uyarıcı olarak en sık olarak forbol 12-miristat 13 asetat (PMA) / ionomisin kullanılmakta ve böylece kostimülatör moleküle ihtiyaç duyulmadan T lenfositlerinin uyarımı sağlanmaktadır. Bununla birlikte PMA/ionomisinin optimal uyarım dozları (50 ng/ml ve 250 ng/ml, sırasıyla) bile hücreler için toksik etki oluşturabilmekte ve bu nedenle deney şartlarına göre farklı uyarıcı doz ve süresinin belirlenmesi gerekmektedir. *Stafilokokal enterotoksin A* veya

Stafilokokal enterotoksin B enterotoksinleri T hücre uyarımı için 100-1000 ng/ml'lik optimal dozlarda kullanılmakta ve süper antijen görevi görerek T hücre reseptörünün değişken beta ($V\beta$) zincirleri yoluyla T lenfosit aktivasyonunu sağlamaktadır (29). Pokeweed mitojeni gibi mitojenler veya saflaştırılmış anti-CD3 monoklonal antikoru da T lenfosit uyarımı için kullanılmaktadır (30). Bakılması hedeflenen sitokine spesifik pozitif kontrol olabilecek uygun uyarıcıların seçilmesi önemlidir. Yukarıda bahsedilen uyarıcılar birçok sitokinin salınımını uyarmakla beraber lipopolisakkarit veya farklı ajanlar da bakılması hedeflenen sitokin türlerine spesifik olabilmektedir. Örneğin hem interferon-gamma ($IFN-\gamma$) hem de LPS'in birlikte kullanımı insan PBMC'lerden interlekin-12 (IL-12) salınımını uyarmaktadır. Antikoların satın alındığı ticari firmalarda farklı hücre alt gruplarında hangi tip uyarıcıların hangi sitokin salınımını artırdığı ile ilgili web sitelerinde güncel kılavuzlar bulunmaktadır. Uyarıcılar eklendikten sonra hücre süspansiyonu deney prosedürüne göre farklı sürelerde 37°C'de %5 CO₂'li ortamda inkübe edilmektedir. İnkübasyon süresi kültür şartlarında farklı uyarıcıların hücrelere etki etmesine veya bakılması hedeflenen antijen uyarımı ise antijen sunumunun gerçekleşmesine olanak sağlamaktadır.

2.3. Sitokinlerin Hücre İçi Depolanması

Hücrelerin uygun ajanlarla inkübasyonun ardından, Brefeldin A (BFA) 10 µg/ml son konsantrasyon olacak şekilde hücre plaklarına eklenir. Bir mantar metaboliti olan Brefeldin A (BFA), Golgi aygıtının yapısını ve işlevini bozan bir etki göstererek sitokinlerin sekresyonu engellemekte ve hücre içinde tutulmasına olanak sağlamaktadır. Alternatif olarak, monensin'de aynı amaçla kullanılabilir ve bazı durumlarda BFA'ya göre avantajlar sunabilmektedir. BFA'nın lenfositlerde CD69 ekspresyonunu inhibe ettiğini gösteren çalışmalar bulunmakta ve BFA yerine monensin kullanımı tercih edilebilmektedir (31, 32). Hücre içi sitokin düzeylerinin belirlenmesinde tümör nekroze edici faktör (TNF)- α için 4 saat, 8 saat ($IFN-\gamma$ ve IL-2) ve hatta 12 saat (IL-12) inkübasyon süreleri gerekebilmektedir (33). Farklı sitokinler için inkübasyon süreleri ve metodolojik değişkenler konusunda antikor firma üreticilerinden ve literatür çalışmalarından öneri alınabilmektedir.

2.4. Hücre İçi Sitokin Boyama Aşamaları

Hücrelerin uyarılmasını takiben hücrelerin yüzey boyama aşamalarına geçilir. Bakılması hedeflenen hücrelerin yüzey belirteçleri eğer fiksasyon aşamasından etkilenmiyor-

sa hücre süspansiyonuna fiksasyon solüsyonu eklenerek kullanılan ticari kitin markasına göre hücreler oda ısısı veya buz üzerinde inkübe edilir. Monoklonal antikörlerin çoğunluğu hücre yüzeyinde fikse edilmemiş epitoplara daha iyi bağlanabildiğinden deney planlanırken bu durumun dikkate alınması gerekmektedir. Çoğu araştırmacı fikse edilmemiş hücreleri ilk aşamada yüzey moleküllerine spesifik antikörle boyamakta, ardından fiksasyon ve permeabilizasyon sonrası hücre içi antijenlere spesifik antikörlerle boyamayı tercih etmektedir. Hücrelerin fiksasyon ve permeabilizasyon aşamalarıyla sitokin hücre içine immobilizasyonu sağlanmaktadır. Bu aşamada saponin içeren deterjanlar hücre zarlarının permeabilize edilmesinde kullanılmakta ve anti-sitokin monoklonal antikörler kullanılarak hücrelerin boyanma aşamalarına geçilmektedir (34). Fiksasyon ve permeabilizasyon aşamaları bakılması hedeflenen sitokine spesifik monoklonal antikörlerin hücre zarı, sitosol ve endoplazmik retikulum ile golgi aygıtına penetrasyonuna olanak sağlamaktadır. Birçok antikör tedarikçisi tarafından tescilli fiksasyon ve permeabilizasyon kitleri bulunmaktadır. Bu kitler kullanıma hazır ve basit protokoller sağlamakla beraber araştırmak istenilen hücre alt grupları, hedef sitokinler için optimal kitlerin seçilmesi önemlidir. Akan hücre ölçer sistemi ile hücre içi sitokin tayini teknik olarak zorlayıcı olabilmekte ve her bir deney düzeneği için araştırmacılar tarafından optimize edilmesi gerekebilmektedir. Yapılacak deney düzeneğine göre ve laboratuvarınızda bulunan akan hücre ölçer cihazının lazer opsiyonları göz önüne alınarak uygun florokrom işaretli monoklonal antikörlerin seçilmesi gerekmektedir. Bakılması hedeflenen hücre alt gruplarındaki yüzey molekülleri ve salgıladıkları sitokine yönelik piyasada bulunan florokrom işaretli monoklonal antikörler ile kaç renkli boyamaların yapılabileceği planlanmalıdır. Tek lazerli akan hücre ölçer cihazlarında sadece 3 farklı florokrom işaretli antikör kullanılırken günümüzde çok lazerli teknolojik akan hücre ölçer cihazlarının üretimi ile aynı örnekte 50 veya daha fazla farklı antikör kullanılarak çok renkli analizler yapılabilmektedir (29, 35). PBMC örneklerinde sitotoksik CD3⁺CD8⁺ T ve yardımcı CD3⁺CD4⁺ T lenfositlerinde hücre içi IFN- γ ve TNF- α sitokin tayini tespitinde kullanılan temel deney protokolü aşağıda maddeler hâlinde özetlenmiştir.

Akan hücre ölçer cihazında hücre içi boyama teknikleri kullanılarak birçok protein ve moleküller tespit edilebilmektedir. Bu yöntem hücresel fonksiyonlar ve sinyal yollarının ayrıntılı analizlerine de imkân sağlamaktadır.

Hücre içi boyama yönteminin hassasiyeti ve aynı örnekte akan hücre cihazı ile çok farklı analizlerin yapılabilmesi immünoloji, onkoloji ve gelişim biyolojisi gibi çok farklı alanlarda hücresel dinamiklerin karmaşık dünyasına dair çok değerli perspektifler sunmaya devam etmektedir.

Materyaller

1. Kimyasal çözeltiler ve maddeler

- **Heparinize tam kan:** Periferik venöz kan (10 ml) sodyum heparinli vakumlu tüplere alınır.
- **Zenginleştirilmiş RPMI-1640 (zRPMI-1640) kültür besiyeri:** %10 fetal sığır serumu, 1 mM sodyum pirüvat, %1 MEM (Minimal esansiyel medium) non-esansiyel aminoasit ve vitamin solüsyonu, 2 mM L-glutamin, 100 U/ml penisilin, 100 μ g/ml streptomisin, 50 μ M 2 merkaptotanol içeren RPMI-1640 kültür besiyeri.
- **Aktivasyon antijenleri (Opsiyonel):** Antijenlerin her biri (Stafilokok enterotoksin B, sitomegalovirüs pp65 proteini, HIV p55 gag peptid karışımı vb. kullanım dozları kültür şartlarına göre belirlenir) ve kostimülatör moleküller (anti-CD28, CDmix vb) PBS içinde hazırlanır.
- **PMA:** 200 mg/ml %100 ethanolde çözündürülerek ve son kullanım konsantrasyonu 50 ng/ml'ye ayarlanır (-20°C'de saklanır).
- **Ionomisin (Ca²⁺ tuzu):** 10 mM ionomisin dimetilsülfoksitte (DMSO) çözündürülerek son kullanım konsantrasyonu 250 ng/ml'ye ayarlanır (-20°C'de saklanır).
- **BFA:** 5 mg/ml DMSO'da çözündürülerek son kullanım konsantrasyonu 3 mg/ml'ye ayarlanır (-20°C'de saklanır).
- **Florokrom işaretli monoklonal antikörler:** İnsana spesifik anti-CD45-BV421TM, -CD3-BV785TM, -CD4-APC, -CD8-FITC, -IFN- γ -PE-Cy7 ve -TNF- α -APC-Cy7 antikörleri.
- **Hücre fiksasyon solüsyonu:** Ticari firmalardan temin edilir.
- **Hücre permeabilizasyon yıkama solüsyonu:** Ticari firmalardan temin edilir.
- **Fiksasyon tampon çözeltisi:** %1 paraformaldehitli PBS çözeltisi

- **Yıkama tampon çözeltisi:** %1 sığır serum albümin içeren PBS çözeltisi

2. Ekipmanlar

- 24 kuyucuklu kültür plağı
- 37°C, %5 CO₂ inkübatör
- Akan hücre ölçer cihazı (En az 6 parametrelidir)

Metod

1. Örnek toplanması

- Taze alınmış periferik kandan ficol gradiyent yöntemi ile PBMC ayırımı
- zRPMI-1640 medium içinde PBMC'lerin süspanse edilmesi, canlılık tayininin yapılması ve 2×10⁶ hücre/ml olacak şekilde hücrelerin hazırlanması

2. Hücrelerin aktivasyonu

- Antijen veya uyarıların derin dondurucudan alınıp çözündürülmesi
- **Kısa süreli kültür:** Hücrelerin (bakılması istenen sitokinlere göre uyarım süresi değişkenlik gösterir) PMA (50 ng/ml), ionomisin (250 ng/ml) ve BFA (3 µg/ml) ile uyarım aşaması hücre içi sitokin salınımı için güçlü bir uyarı ve sitokinlerin Golgi cisimciğinde toplanmasına neden olur. PBMC'ler 4 saatlik PMA, ionomisin ve BFA ile 37°C'de 4 saat inkübe edilir.
- **Uzun süreli kültür:** Spesifik antijenlerle T hücre (*M. tuberculosis* spesifik sitokin salınımı için ESAT-6 ve CFP-10 antijen uyarımı vb.) uyarımının sağlanması PMA ve ionomisine göre daha fizyolojik bir uyarım oluşturur. BFA varlığı antijen sunum sürecini etkileyeceğinden BFA'nın kültürün son 18 saatinde kullanımı tercih edilmektedir.

Notlar

- BFA veya monensin bazı antijenlerin hücre yüzey ekspresyonunu etkileyebilmektedir. Monensinin hücre ölümünü daha fazla tetiklediği gösterilmiştir ve bu yüzden uzun inkübasyon sürelerinde BFA tercih edilebilir.
- PMA'nın olgunlaşmamış fare timositleri, insan PBMC ve CD4 pozitif insan tümör hücre hatlarında CD4 molekül ekspresyonunu azalttığına dair çalışmalar bulun-

maktadır (36). Araştırmacıların transport inhibitörlerinin hücre yüzey molekül ekspresyonuna etkilerini bilmeleri gerekmektedir.

- Bazı durumlarda klonal popülasyonlarda bile hücrelerin tümü senkronize olarak sitokin salgılamamaktadır. Stimülasyon ve fiksasyon aşamaları arasındaki süreler sonuçlar açısından çok önemlidir.

2.5. Hücrelerin Boyanma Aşamaları

• Fc reseptörlerinin blokasyonu

- a. Fc reseptörlerini bloke eden reaktifler, spesifik olmayan immünofloresan boyamanın azaltılmasında faydalı olabilmektedir. Fc reseptörleri, immünofloresan boyama için kullanılan aynı izotip antikolarla veya PBS içinde %10 fetal sığır serumun ile +4°C'de 15 dakika inkübasyonla bloke edilebilir (37).

• Hücre yüzey boyaması

- a. Stimüle edilmiş hücreler PBS ile 300g 5 dakika santrifüj edildikten sonra PBS veya zRPMI-1640 besiyerinde süspanse edilir.
- b. 100 ml hücre süspanسیونuna (5×10⁴ hücre/tüp) bakılması istenen hücre yüzey moleküllerine spesifik florokrom işaretli monoklonal antikolar (insana spesifik anti-CD45-BV421™, -CD3-BV785™, -CD4-APC ve -CD8-FITC antikoları) pipetlenerek 30 dakika +4°C veya oda ısısında inkübe edilir.
- c. İnkübasyon sonrası hücrelere 2 kez yıkama tampon çözeltisi ile 300g 5 dakika santrifüj edilir.

• Fiksasyon ve permeabilizasyon aşaması

- a. Süspanse edilmiş hücrelere 250 ml fiksasyon/permeabilizasyon solüsyonu varlığında 20 dakika 4°C'de 15 dakika inkübe edilir.

Not: Hücrelerin birbirlerine yapışması fiksasyon/permeabilizasyon solüsyonunun eklenmesinden sonra vorteks yaparak önlenir.

- b. Hücreler 2 kez permeabilizasyon yıkama solüsyonu ile 300g 5 dakika santrifüj edilir.

Not: Hücreler permeabilize olduklarından özelliklerinin korunması amacıyla yıkama tampon çözeltisi yerine permeabilizasyon yıkama solüsyonun kullanılması gerekmektedir.

- c. Hücrelere 50 ml permeabilizasyon yıkama solüsyonu eklenir.
- d. Süspanse edilmiş hücrelere florokrom işaretli insana spesifik IFN- γ -PE-Cy7 ve TNF- α -APC-Cy7 antikorları eklenir. Spesifik olmayan bağlanmaların önlenmesi amacıyla anti-sitokin antikorları ile aynı konsantrasyonda incelenecek antikor ile aynı immünooglobulin alt tipi ve florokrom işaretli sıçan kaynaklı antikorlar olan izotipik kontrol antikorları veya boyasız hücre süspansiyonu kullanılabilir.
- e. 20 dakika +4°C'de inkübasyon aşaması
- f. Permeabilizasyon yıkama solüsyonu konularak 300g' de 5 dakika santrifüj edilir.
- g. Hücreler 500 ml of fiksasyon tampon çözeltisinde fikse edilir. Tüpler akan hücre ölçer cihazında analiz yapılabilmektedir. Tüpler akan hücre ölçer cihazında analiz yapılabilmektedir. Örneklerin 24 saat içinde okunması önerilmektedir.
- **Akan hücre ölçer analiz aşaması**
 - a. Akan hücre cihazının boncuk ve kalibrasyon yazılımları ile ayarları yapılır.
 - b. Hücre süspansiyonunda debrilerin eliminasyonu için önden saçılım (FSCH) dedektöründe eşik değeri ayarlanır.
 - c. Hücreler cihazdan geçerken önden (FSC) ve yandan saçılım (SSC) dedektörleri yardımıyla cihaz yazılımında uygun hücreler kapılama stratejisiyle seçilir ve bakılması hedeflenen sitokin ve hücre alt gruplarına göre analiz histogramları hazırlanır. Şekil 4'de PBMC'lerin 4 saat PMA, iyonomisin ve BFA uyarımından sonra CD4 ekspresyon eden yardımcı ve CD8 ekspresyon eden sitotoksik T lenfositlerinde hücre içi IFN- γ ve TNF- α ekspresyon analizi görülmektedir. Akan hücre ölçer cihazlarında bulunan farklı yazılımlar her bir örneğin çok parametrelili analizine olanak vermektedir. Antijene özgü yanıtların analizinde uyarılmamış bir numunedeki pozitif yüzdeyi, antijenle uyarılmış sonuçlardan farkı alınarak tespit edilmektedir.

3. DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ HÜCRELER - SİTOTOKSİSİTE ANALİZİ

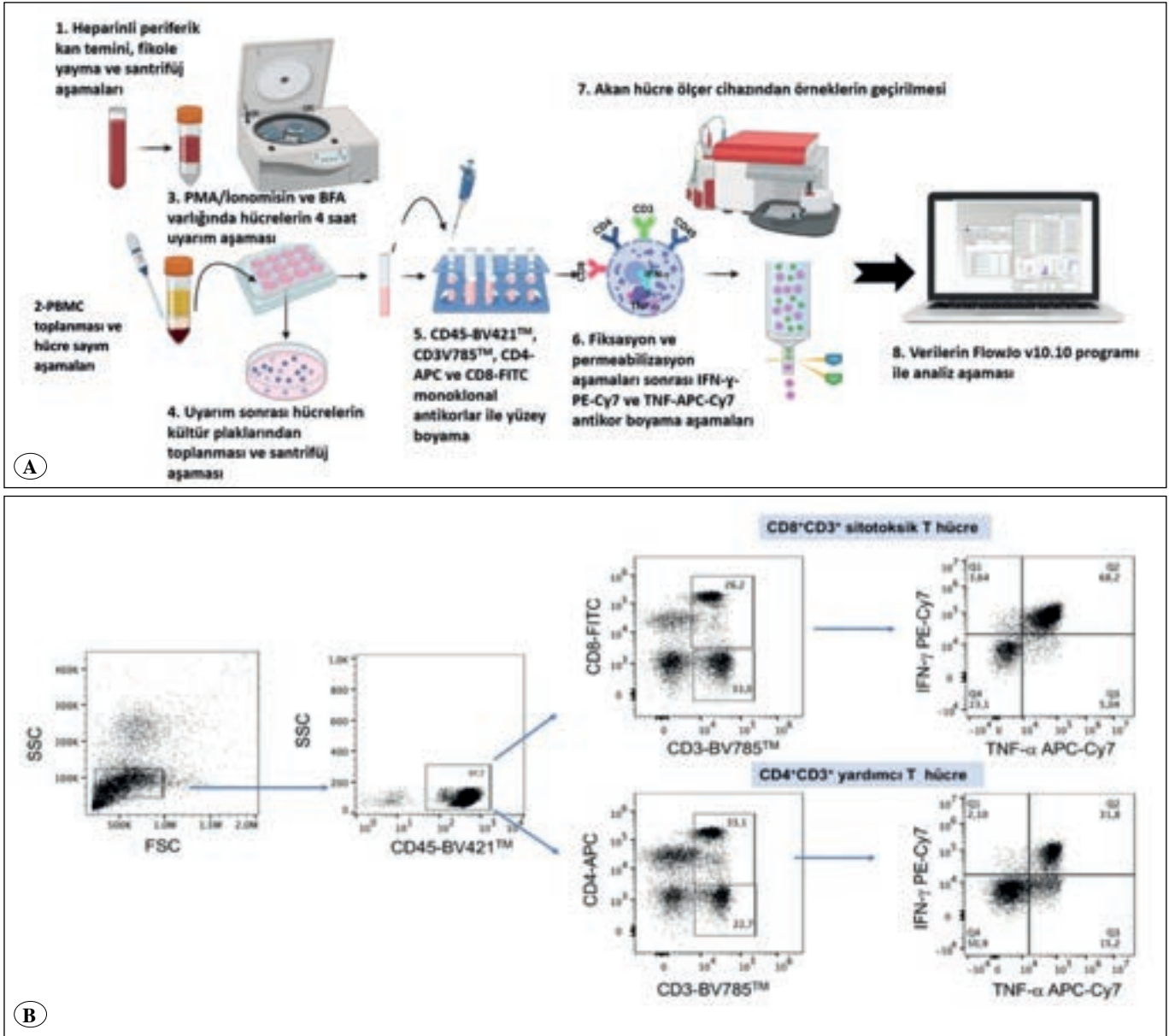
3.1. Doğal Öldürücü Hücreler

Doğal öldürücü (NK) hücreler, kemik iliği kökenli olup, enfekte hücreleri ve tümör hücrelerini direkt sitotoksik etki

ile öldürebilen büyük granüllü lenfositlerdir. NK hücreleri taşıdıkları aktive ve inhibe edici reseptörler aracılığıyla tümör veya virüsle enfekte hücreleri öldürürken aynı zamanda oluşturdukları inhibitör sinyaller ile sağlıklı otolog hücrelere karşı tolerans oluşturmaktadırlar (38). Periferik kan NK hücreler yüzeylerinde, T hücre belirteci olan CD3 antijenini ifade etmeyen, CD16 (Fc γ RIIA) ve CD56 (nöral hücre adezyon molekülü) moleküllerini ifade eden hücreler olarak tanımlanmakta ve sağlıklı insanda periferik kan lenfositlerinin yaklaşık %5-15'ini oluşturmaktadırlar (39). Periferik kan NK hücreleri, güçlü sitokin salgılama yeteneğine sahip CD16^{düşük}CD56^{yüksek} (%10) ve doğal sitotoksiteden sorumlu CD16^{yüksek}CD56^{düşük} (%90) NK hücreleri olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır (40-42). Aynı zamanda NK hücreleri son yıllarda doğal lenfoid hücrelerin (ILC) bir alt grubu olan ILC1 hücre alt grubunun sitotoksik hücre grubunda sınıflandırılmaktadır (43).

3.1.1. Doğal Öldürücü Hücrelerinin Sitotoksik Fonksiyonları

NK hücreleri herhangi bir uyarıdan bağımsız olarak hedef hücreyi tanıyıp hücrel sitotoksik mekanizma aracılığıyla öldürme yeteneğine sahiptir. Antikora bağımlı hücrel sitotoksik mekanizma aracılığı ile humoral bağışıklık sistemiyle işbirliği yaparak immünooglobulin G (IgG) antikorları ile kaplı hedef hücreyi ortadan kaldırırlar (44, 45). NK hücreleri reseptörleri ile hedef hücre yüzeyinde bulunan ligandları ile etkileşimi sonucunda "doğal" veya "spontan" sitotoksik mekanizmasıyla hedef hücreyi öldürebilmektedir (45). Sitotoksik T lenfositleri de NK hücrelerine benzer şekilde, virüs ve tümör antijenlerinin MHC sınıf I molekülleri aracılığıyla hedef hücreyi sitotoksik aktivite ile öldürme kapasitesine sahip olan hücrelerdir. NK hücreleri MHC sınıf I den bağımsız olarak enfekte hücreleri tanır ve sahip olduğu lizozomal enzimler yardımı ile sitotoksik aktivite gösterirler (44, 46). NK hücrelerinin hedef hücre ile temasına bağlı olarak öldürme programı tetiklendiğinde lizozomlarda bulunan ve ekzositoz ile salgılanan sitotoksik proteinler olan perforin ve granzimler salgılanır (47, 48). Perforin hedef hücre yüzeyinde gözenek oluşturarak granzim enziminin hücre içine girişini sağlar ve kaspaz aktivasyonunu başlatarak hedef hücrenin lizisine neden olur (49). Granül aracılı hedef hücrenin apoptozisi dışında, NK hücrelerinin yüzeylerin de bulunan TNF (tümör nekroze faktör) ilişkili apoptoz indükleyen ligand (TRAIL) ve Fas ligand (FasL) gibi moleküllerle, hedef hücre zarında bulunan Fas ve TNF benzeri hücre ölüm reseptörleri ile etkileşime girerek apoptozisi tetiklemektedir. NK hücreleri hem anti-viral

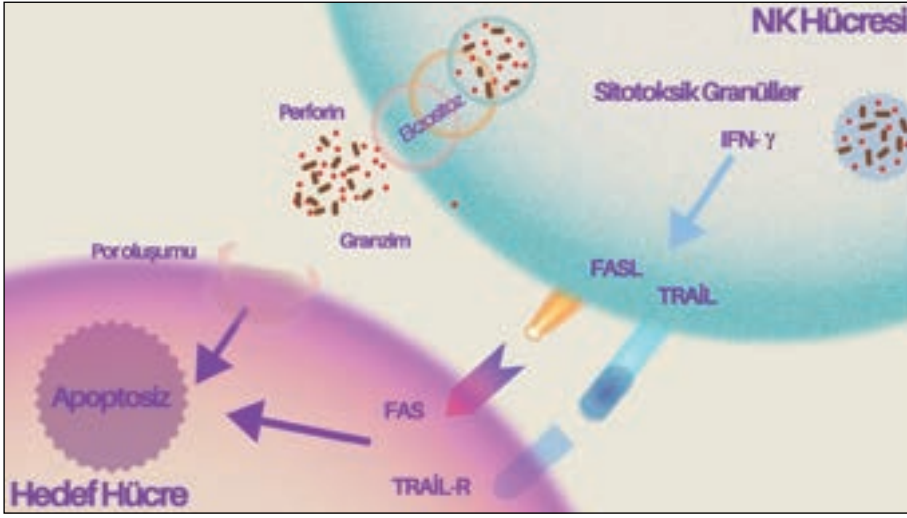


Şekil 4. Yardımcı ve sitotoksik T lenfositlerinde hücre içi sitokin salınımının akan hücre ölçer sisteminde değerlendirilmesi

A) PBMC'lerin kısa süreli uyarım aşamasını takiben hücre yüzey molekülleri (CD45, CD3 ve CD4), fiksasyon ve permeabilizasyon aşamaları sonrası sitokin (IFN-γ ve TNF-α) spesifik florokrom işaretli monoklonal antikorlarla boyama aşamaları görülmektedir. **B)** PBMC akan hücre cihazındaki analizlerinde CD45 eksprese eden lökosit kapisında CD45⁺CD3⁺CD4⁺ yardımcı ve CD45⁺CD3⁺CD8⁺ sitotoksik T hücrelerinde IFN-γ ve TNF-α salgılayan hücre dot plot analiz sonuçları verilmiştir.

hem de bağışıklığı artırıcı özelliklere sahip olan interferon gamma (IFN-γ) sitokinini salgılar. IFN-γ uyarısı ile NK hücre yüzeyinde FasL ve TRAIL reseptörlerinin ifadesi artmakta ve hedef hücre NK hücreleri tarafından yok edilmektedir (Şekil 5) (50, 51). NK hücrelerinin diğer bir sitotoksik fonksiyonu antikor bağımlı hücrel sitotoksitesidir. Bu meka-

nizmada, virüs ile enfekte olmuş hücelere ya da tümör hücresine bağlanan IgG1 ve IgG3 yapıdaki antikorların Fc bölgesine NK hücre yüzeyinde eksprese olan yüksek afiniteli FcγRIIIA (CD16) reseptörü bağlanarak hedef hücrenin ortadan kaldırılması sağlanmaktadır (52).



Şekil 5. NK hücre aracılı hücre ölümüne ait yollar. Granül aracılı hücre ölümü ve TRAIL ve FasL aracılı hücre ölümü

NK: Doğal öldürücü, **TRAIL:** Tümör nekroze faktör ilişkili apoptoz indükleyen ligand, **FASL:** Fas ligand



Şekil 6. NK hücre yetersizliği için tanısal algoritma (51)

NK: Doğal öldürücü

3.1.2. Doğal Öldürücü Hücre Yetersizlikleri ve Sınıflandırılması

Birçok hastalık, ilaç, enfeksiyon ve bazı fizyolojik durumlar NK hücre sayılarını ve/veya işlevini etkileyebilmektedir. Bundan dolayı izole NK hücre yetersizlik tanısını düşünebilmek için, hastanın NK hücre sayısı ve fonksiyonunun bozuk olması ve aynı zamanda hastanın kliniği ile de bu durumun uyumlu olması gerekmektedir (51). NK hücre yetersizliği, periferik kanda NK hücrelerinin bulunup bulunmamasına bağlı olarak iki ana tipe ayrılabilir. Klasik NK hücre yetersizliğinde periferik kan lenfosit popülasyonunda NK hücreleri olmadığından fonksiyonları da saptanamamaktadır. Fonksiyonel NK hücre yetersizliğinde ise,

periferik kan popülasyonunda NK hücreleri bulunmakta fakat fonksiyonel aktivite göstermemektedirler. NK hücre yetersizliği konjenital olan veya olmayan, ciddi ve sıklıkla ölümcül viral enfeksiyonlarla birlikte maligniteye yatkınlık ile seyreden bir primer immün yetersizlik (PIY) olarak bilinmektedir (Şekil 6) (51, 53). NK hücre fonksiyonunun bozukluğuna bağlı en iyi bilinen PIY örneği perforin eksikliği olup fonksiyonel testler akan hücre ölçer cihazında saptanabilmektedir.

3.2. Sitotoksik Aktivite Tayininde Kullanılan Yöntemler

NK hücrelerinin sitotoksik aktivitelerinin saptanmasında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. ⁵¹Cr salınım yöntemi,

akan hücre ölçer cihazında NK bağımlı litik kapasiteyi ölçmek için CFSE işaretli K562 hedef hücre lizisine dayalı yöntem ve son yıllarda NK hücre degranülasyonu için iyi bir belirteç olan CD107a ekspresyonu gibi yöntemler kullanılmaktadır (Şekil 7) (54, 55).

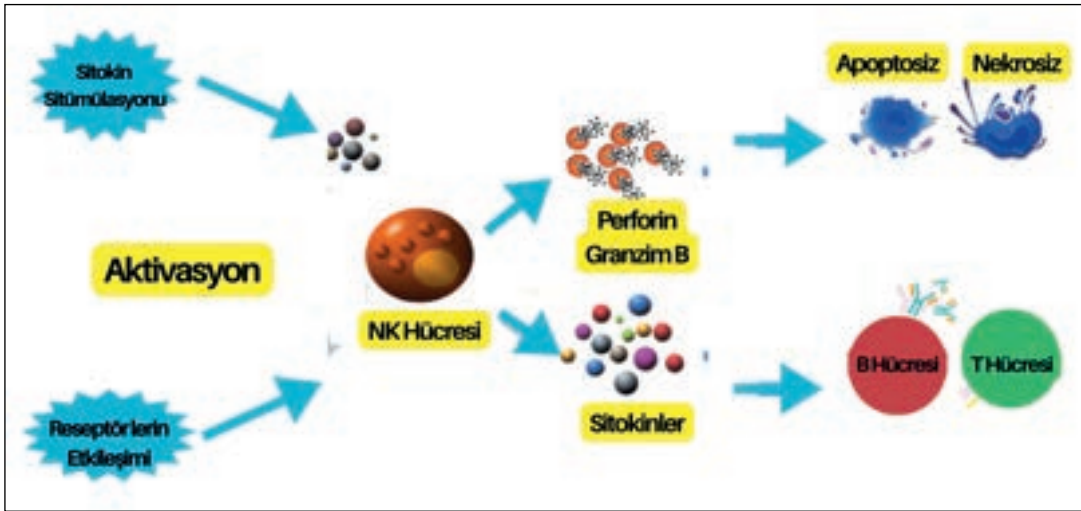
3.2.1. ⁵¹Chromium Salınım Deneyi

NK hücre sitotoksik aktivitesinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan ⁵¹Chromium deneyi ilk kez 1964 yılında ⁵¹Chromium salınım deneyi olarak tanımlanmıştır (56). Bu yöntemde kullanılan hedef hücre, genellikle kronik myeloid lösemi hastalarından elde edilmiş, MHC sınıf I molekülünü yüzeyinde ifade etmeyen K562 hücreleridir ve radyoaktif ⁵¹Cr ile inkübe edilmektedir. Radyoaktif ⁵¹Cr işaretli hücelere efektör hücreler (NK) eklenerek farklı inkübasyon süresi (genellikle 4 saat) sonrasında, hücre lizisi ile ortama salınan radyoaktif prob (⁵¹Cr) ölçümü yapılmak-

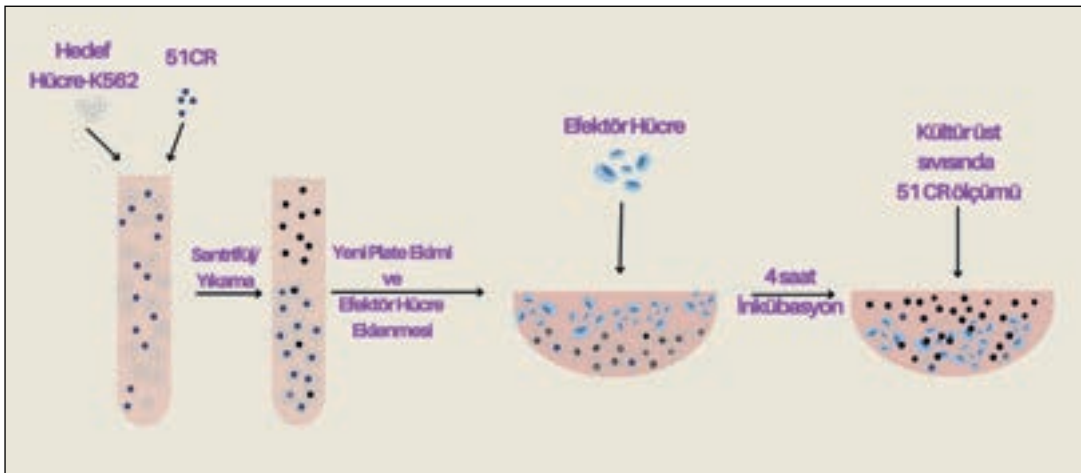
tadır. Hedef hücrelerden salınan ⁵¹Cr oranı, NK hücreler tarafından öldürülen hedef hücreler ile doğru orantılı olup ölçülen ⁵¹Cr miktarına göre NK hücre sitotoksik oranı belirlenmektedir. Ancak kullanılan molekülün radyoaktif olması ve ⁵¹Cr yarılanma süresinin kısa olması nedeniyle yeni teknikler tercih edilmeye başlanmıştır (Şekil 8) (57).

3.2.2. K562 Hücre Lizisine Bağlı Sitotoksik Aktivite Tayini

NK hücrelerin sitotoksik aktivitesinin değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir yöntem CFSE işaretli K562 hücrelerinin, efektör hücreler tarafından lizisine dayanmaktadır. Efektör hücre olarak kullanılan PBMC, ficol-histopak yöntemi ile izole edilir. İzole PBMC'ler dışında manyetik hücre ayırımı gibi yöntemlerle saflaştırılan NK hücreleri de efektör hücre olarak kullanılabilir. İkinci aşamada, hedef olarak kullanılan K562 hücreleri yeşil floresan renk veren CFSE (5 mM) ile +4°C de 10 dk inkübe edilerek işa-



Şekil 7. NK Hücre aktivasyonu
NK: Doğal öldürücü



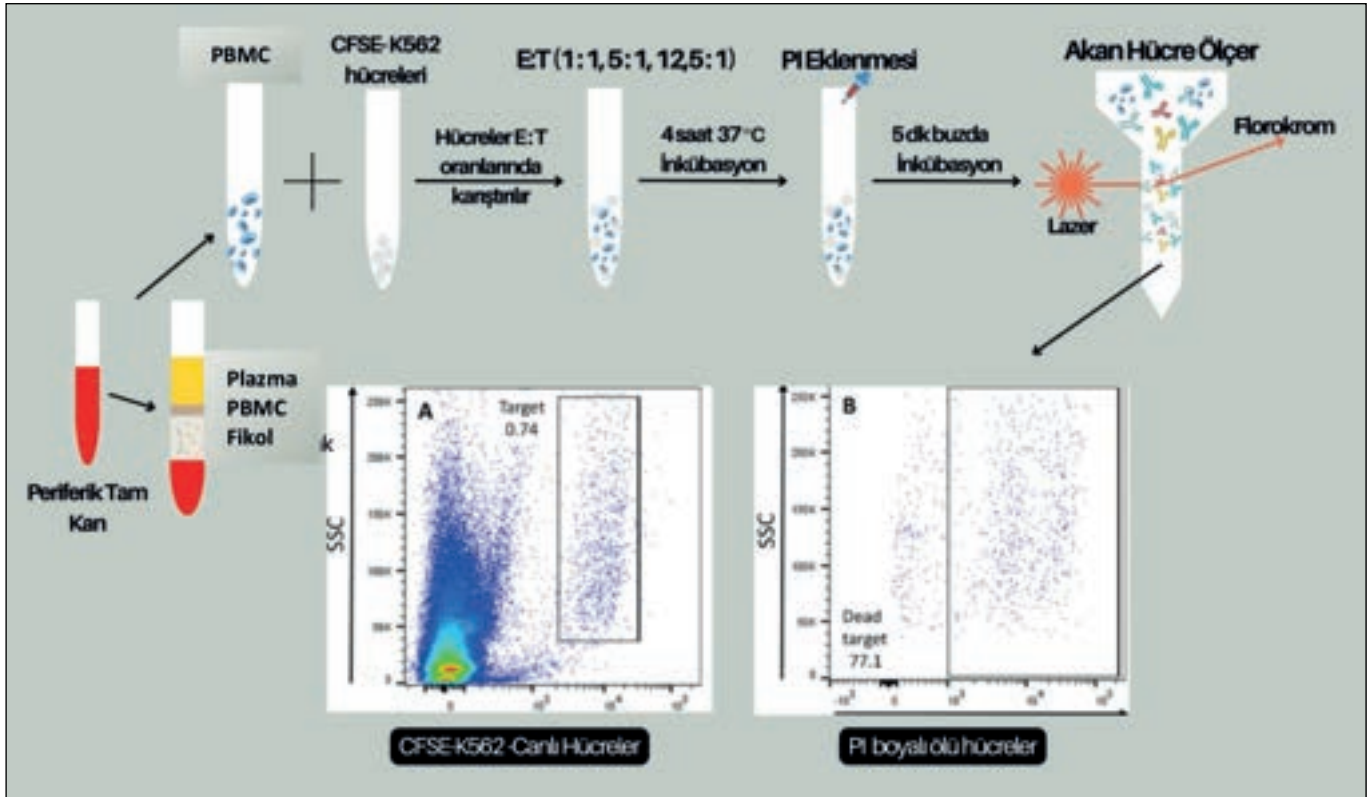
Şekil 8. ⁵¹Chromium salınım deneyi aşamaları

retlenir. CFSE işaretli K562 hedef hücreler ile saflaştırılmış NK hücreleri veya PBMC'ler ile farklı E:T (efektör:target) oranlarında (1:1, 5:1, 12.5:1, 25:1) 4 saat boyunca 37°C'de inkübe edilirler. İnkübasyonu takiben ölü hücrelerin belirlenmesi amacıyla kırmızı floresan veren propidyum iyodür (PI) eklenerek +4°C'de 15 dk inkübe edilir ve akan hücre ölçer cihazından geçirilerek analiz yapılır. Canlı K562 hücreleri sadece yeşil floresan renk verirken, ölü K562 hücreleri hem yeşil hem de kırmızı floresan renk vermektedir. Akan hücre ölçer cihazında iki parametrelili logaritmik histogramlar kullanılarak ölü ve canlı hücrelerin yüzdesi belirlenmektedir (Şekil 9) (54).

3.2.3. Doğal Öldürücü Hücre Degranülasyon Belirteci - CD107a Tayini

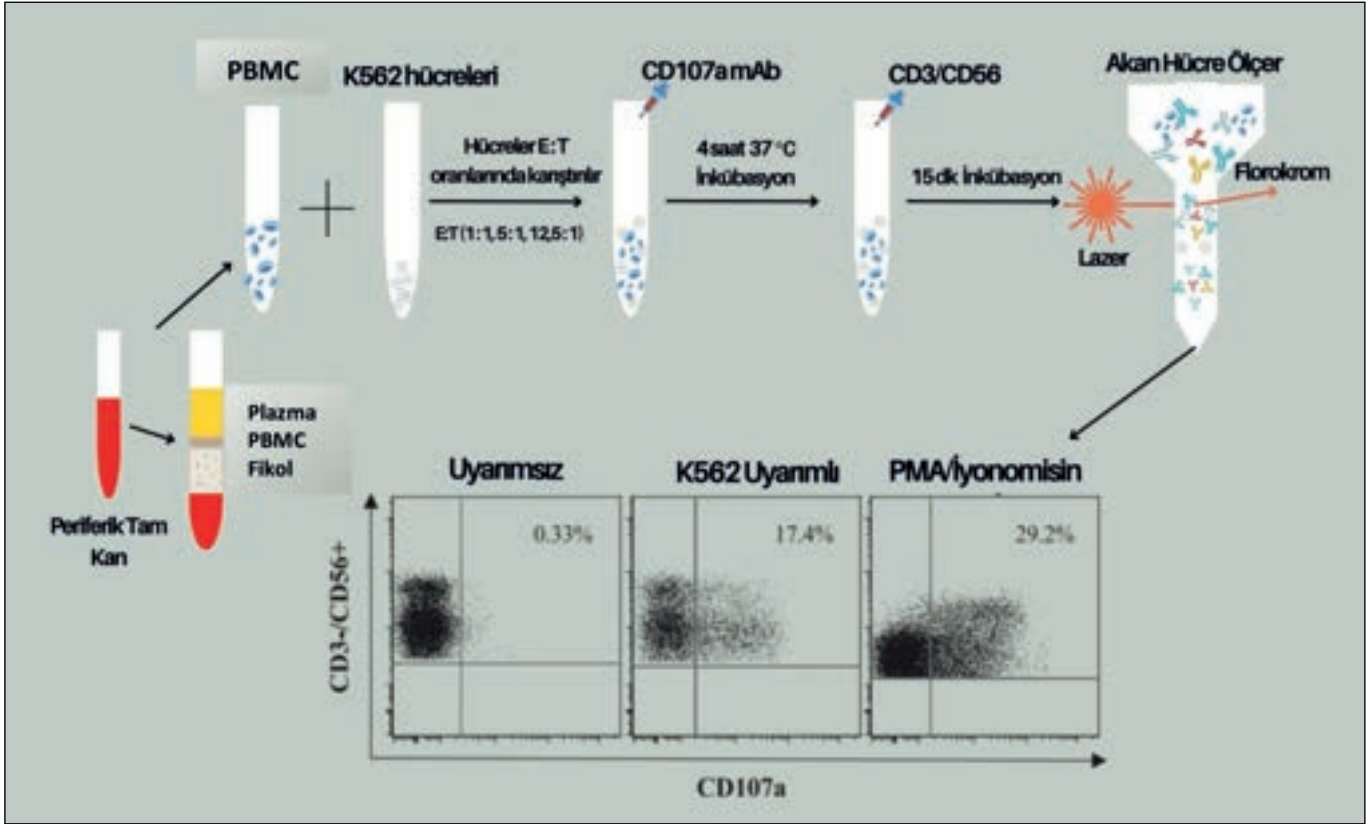
NK hücrelerinin sitotoksik aktivitelerinin tespitinde kullanılan diğer yöntem akan hücre ölçer sisteminde CD107a (LAMP-1, lizozom bağlı membran proteini-1) belirtecinin ölçülmesidir. Çalışmalar, CD107a'nın NK ve aktive CD8⁺ T hücrelerinin degranülasyon belirteci olduğunu gös-

termektedir (54, 55). Daha önce de belirttiğimiz gibi NK hücrelerin sitoplazmasında perforin ve granzim gibi litik granüller bulunmaktadır. Hedef hücre ile karşılaştıklarında gerekli reseptör etkileşimleri sonrası litik granül içeriklerini hedef hücre zarına boşaltırlar (42). Degranülasyon gerçekleştiğinde sekretuar lizozomlar da ortama salınır ve lizozomla ilişkili membran proteini olan CD107a NK hücresinin yüzeyine taşınır ve antikarla tespit edilebilir (55). Bu yöntemde ilk olarak, NK hücreleri yüzeyindeki bazal CD107a değeri floresan işaretli anti-CD107a antikoru ile boyanarak belirlenir. Uyarım aşamasında NK hücreleri floresan işaretli anti-CD107a antikoru varlığında hedef hücreler (K562) ile 10:1 (E:T) oranında IL-2/IL-10 ile yaklaşık 5 saat 37°C'de inkübe edilir. Aynı zamanda pozitif kontrol olarak NK hücreleri, phorbol-12-miristat-13-asetat/iyonofor (PMA/I) ile de inkübe edilir. İnkübasyon sonrası hücreler %1'lik paraformaldehit ile fiske edilir ve CD3, CD16 ve CD56 monoklonal antikolar kullanılarak NK hücrelerinde ifade edilen CD107a akan hücre ölçer cihazında analiz edilir (Şekil 10) (54, 55).



Şekil 9. Akan hücre ölçer cihazında K562 hücre lizisine bağlı sitotoksik aktivite tayini

PBMC: Periferik kan mononükleer hücreler, CFSE: Karboksifloresin süksinimidil ester, E:T: Efektör:Target, PI: Propidyum iyodür



Şekil 10. Akan hücre ölçer cihazında CD107a belirteciye bağlı sitotoksik aktivite tayini

PBMC: Periferik kan mononükleer hücreleri, **E:T:** Eftör:Target, **PMA:** Forbol miristat asetat

KAYNAKLAR

- Kucuksezer UC, Ozdemir C, Akdis M, Akdis CA. Influence of innate immunity on immune tolerance. *Acta Med Acad* 2020;49(2):164-80.
- Marits P, Wikstrom AC, Popadic D, Winqvist O, Thunberg S. Evaluation of T and B lymphocyte function in clinical practice using a flow cytometry based proliferation assay. *Clin Immunol* 2014;153(2):332-42.
- Kucuksezer UC, Ozdemir C, Cevhertas L, Ogulur I, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and allergen tolerance. *Allergol Int* 2020;69(4):549-60.
- Kervevan J, Chakrabarti LA. Role of CD4+ T cells in the control of viral infections: recent advances and open questions. *Int J Mol Sci* 2021;22(2):523.
- Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: Fates, functions, and faults. *Blood* 2008;112(5):1557-69.
- Carvalho EMM, Oliveira WF, Coelho LCBB, Correia MTS. Lectins as mitosis stimulating factors: Briefly reviewed. *Life Sci* 2018;207:152-7.
- Movafagh A, Hamisi Z, Mansouri N, Solimani S, Mortazavi Tabatabaei SA. Laboratory use of lectin mitogens for mitotic stimulation of human lymphocytes. *Trends Pept Protein Sci* 2017;1(2):83-8.
- Elshari ZS, Nepesov S, Tahrali I, Kiykim A, Camcioglu Y, Deniz G, et al. Comparison of mitogen-induced proliferation in child and adult healthy groups by flow cytometry revealed similarities. *Immunol Res* 2023;71(1):51-9.
- Watson CL, Furlong SJ, Hoskin DW. Impaired interleukin-2 synthesis and T cell proliferation following antibody-mediated CD3 and CD28 cross-linking in trans: Evidence that T cell activation requires the engagement of costimulatory molecules within the immunological synapse. *Immunol Invest* 2008;37(1):63-78.
- Cost KM, Fineman D, Steger S. A flow cytometry-based screening assay for lymphocyte proliferation. *Clinical Immunology Newsletter* 1993;13(7):82-5.
- Fulcher D, Wong S. Carboxyfluorescein succinimidyl ester-based proliferative assays for assessment of T cell function in the diagnostic laboratory. *Immunol Cell Biol* 1999;77(6):559-64.

12. Quah BJ, Warren HS, Parish CR. Monitoring lymphocyte proliferation in vitro and in vivo with the intracellular fluorescent dye carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester. *Nat Protoc* 2007;2(9):2049-56.
13. Quah BJ, Parish CR. The use of carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFSE) to monitor lymphocyte proliferation. *J Vis Exp* 2010;(44):2259.
14. Stone KD, Feldman HA, Huisman C, Howlett C, Jabara HH, Bonilla FA. Analysis of in vitro lymphocyte proliferation as a screening tool for cellular immunodeficiency. *Clin Immunol* 2009;131(1):41-9.
15. Azarsiz E, Karaca N, Ergun B, Durmuscan M, Kutukculer N, Aksu G. In vitro T lymphocyte proliferation by carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester method is helpful in diagnosing and managing primary immunodeficiencies. *J Clin Lab Anal* 2018;32(1):e22216.
16. Stefano AD, Boldt A, Schmiedel L, Sack U, Kentouche K. Flow cytometry as an important tool in the diagnosis of immunodeficiencies demonstrated in a patient with ataxia-telangiectasia. *Laboratoriums Medizin* 2016;40(4):255-61.
17. Raphale I, Nalawade S, Eagar TN, Fosthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine* 2015;74(1):5-17.
18. Nomura L, Maino VC, Maecker HT. Standardization and optimization of multiparameter intracellular cytokine staining. *Cytometry A* 2008;73(11):984-91.
19. Horton H, Thomas EP, Stucky JA, Frank I, Moodie Z, Huang Y, et al. Optimization and validation of an 8-color intracellular cytokine staining (ICS) assay to quantify antigen-specific T cells induced by vaccination. *J Immunol Methods* 2007;323(1):39-54.
20. uchel TR, Mather LE, Runciman WB, Carapetis RJ. Physiological and biochemical consequences of electroimmobilisation in conscious sheep. *Aust Vet J* 1990;67(2):33-8.
21. Preffer F, Dombkowski D. Advances in complex multiparameter flow cytometry technology: Applications in stem cell research. *Cytometry B Clin Cytom* 2009;76(5):295-314.
22. Vignali DA. Multiplex particle-based flow cytometric assays. *J Immunol Methods* 2000;243(1-2):243-55.
23. Antal-Szalmás P, Nagy B Jr, Debreceni IB, Kappelmayer J. Measurement of Soluble Biomarkers by Flow Cytometry. *EJIFCC* 2013;23(4):135-42.
24. Benamar M, Chen Q, Chou J, Jule AM, Boudra R, Contini P, et al. The Nothc1/CD22 signaling axis disrupts Treg function in SARS-CoV-2-associated multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest* 2023;133(1):e163235.
25. Tahrali I, Akdeniz N, Yılmaz V, Kucuksezer UC, Oktelik FB, Ozdemir O, et al. The modulatory action of C-Vx substance on the immune system in COVID-19. *Emerg Microbes Infect* 2022;11(1):2698-710.
26. Riedhammer C, Halbritter D, Weissert R. Peripheral blood mononuclear cells: Isolation, freezing, thawing and culture. *Methods Mol Biol* 2016;1304:53-61.
27. Fazekas J, Grunt TW, Jansen-Jarolim E, Singer J. Long term storage in liquid nitrogen leads to only minor phenotypic and gene expression changes in the mammary carcinoma model cell line BT474. *Oncotarget* 2017;8(21):35076-87.
28. Xia F, Qian CR, Xun Z, Hamon Y, Sartre AM, Formisano A, et al. TCR and CD28 concomitant stimulation elicits a distinctive response in naive T cells. *Front Immunol* 2018;9:2864.
29. Gauduin MC. Intracellular cytokine staining for the characterization and quantitation of antigen-specific T lymphocyte responses. *Methods* 2006;38(4):263-73.
30. Suni MA, Picker LJ, Maino VC. Detection of antigen-specific T cell cytokine expression in whole blood by flow cytometry. *J Immunol Methods* 1998;212(1):89-98.
31. O'neil-Andersen NJ, Lawrence DA. Differential modulation of surface and intracellular protein expression by T cells after stimulation in the presence of monensin or brefeldin A. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9(2):243-50.
32. Nylander S, Kalies I. Brefeldin A, but not monensin, completely blocks CD69 expression on mouse lymphocytes: Efficacy of inhibitors of protein secretion in protocols for intracellular cytokine staining by flow cytometry. *J Immunol Methods* 1999;224(1-2):69-76.
33. Mascher B, Schlenke P, Seyfarth M. Expression and kinetics of cytokines determined by intracellular staining using flow cytometry. *J Immunol Methods* 1999;223(1):115-21.
34. Mandala W, Harawa V, Munyenembe A, Soko M, Longwe H. Optimization of stimulation and staining conditions for intracellular cytokine staining (ICS) for determination of cytokine-producing T cells and monocytes. *Curr Res Immunol* 2021;2:184-93.
35. Saxena A, Dagur PK, Biancotta A. Multiparametric flow cytometry analysis of naive, memory, and effector T cells. *Methods Mol Biol* 2019;2032:129-40.
36. Tahara-Hanaoka S, Ushijima Y, Tarui H, Wada M, Hara T, Imanishi S, et al. Differential level in co-down-modulation of CD4 and CXCR4 primed by HIV-1 gp120 in response to phorbol ester, PMA, among HIV-1 isolates. *Mikrobiol Immunol* 2000;44(6):489-98.
37. Andersen MN, Al-Karradi SN, Kragstrup TW, Hokland M. Elimination of erroneous results in flow cytometry caused by antibody binding to Fc receptors on human monocytes and macrophages. *Cytometry A* 2016;89(11):1001-9.
38. Prager I, Watzl C. Mechanisms of natural killer cell-mediated cellular cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 2019;105(6):1319-29.
39. Angelo LS, Banerjee PP, Monaco-Shawver L, Rosen JB, Makedonas G, Forbes LR, et al. Practical NK cell phenotyping and variability in healthy adults. *Immunol Res* 2015;62(3):341-56.
40. Cosan F, Aktas Cetin E, Akdeniz N, Emrence Z, Cefle A, Deniz G. Natural Killer Cell Subsets and Their Functional Activity in Behçet's Disease. *Immunol Invest* 2017;46(4):419-32.
41. De Maria A, Bozzano F, Cantoni C, Moretta L. Revisiting human natural killer cell subset function revealed cytolytic CD56(dim) CD16+ NK cells as rapid producers of abundant IFN-gamma on activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(2):728-32.

42. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol* 2001;22(11):633-40.
43. Calvi M, Di Vito C, Frigo A, Trabanelli S, Jandus C, Mavilio D. Development of Human ILCs and Impact of Unconventional Cytotoxic Subsets in the Pathophysiology of Inflammatory Diseases and Cancer. *Front Immunol* 2022;13:914266.
44. Lanier LL. NK cell recognition. *Annu Rev Immunol* 2005;23:225-74.
45. Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, Cantoni C, Mingari MC, et al. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol* 2001;19:197-223.
46. Moretta L, Biassoni R, Bottino C, Cantoni C, Pende D, Mingari MC, et al. Human NK cells and their receptors. *Microbes Infect* 2002;4(15):1539-44.
47. Lettau M, Schmidt H, Kabelitz D, Janssen O. Secretory lysosomes and their cargo in T and NK cells. *Immunol Lett* 2007;108(1):10-9.
48. Chowdhury D, Lieberman J. Death by a thousand cuts: Granzyme pathways of programmed cell death. *Annu Rev Immunol* 2008;26:389-420.
49. Lieberman J. The ABCs of granule-mediated cytotoxicity: New weapons in the arsenal. *Nat Rev Immunol* 2003;3(5):361-70.
50. Smyth MJ, Cretney E, Kelly JM, Westwood JA, Street SE, Yagita H, et al. Activation of NK cell cytotoxicity. *Mol Immunol* 2005;42(4):501-10.
51. Orange JS. Natural killer cell deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(3):515-25.
52. Wang W, Erbe AK, Hank JA, Morris ZS, Sondel PM. NK Cell-Mediated Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity in Cancer Immunotherapy. *Front Immunol* 2015;6:368.
53. Orange JS. Unraveling human natural killer cell deficiency. *J Clin Invest* 2012;122(3):798-801.
54. Aktas E, Kucuksezer UC, Bilgic S, Erten G, Deniz G. Relationship between CD107a expression and cytotoxic activity. *Cell Immunol* 2009;254(2):149-54.
55. Alter G, Malenfant JM, Altfeld M. CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. *J Immunol Methods* 2004;294(1-2):15-22.
56. Vainio T, Koskimies O, Perlmann P, Perlmann H, Klein G. In vitro cytotoxic effect of lymphoid cells from mice immunized with allogeneic tissue. *Nature* 1964;204:453-5.
57. Brunner KT, Mauel J, Cerottini JC, Chapuis B. Quantitative assay of the lytic action of immune lymphoid cells on 51-Cr-labelled allogeneic target cells in vitro; inhibition by isoantibody and by drugs. *Immunology* 1968;14(2):181-96.

Kronik Granülomatöz Hastalıkta Tanısal Yaklaşım

Prof. Dr. Mustafa Yavuz KÖKER

1. KRONİK GRANÜLOMATÖZ HASTALIK

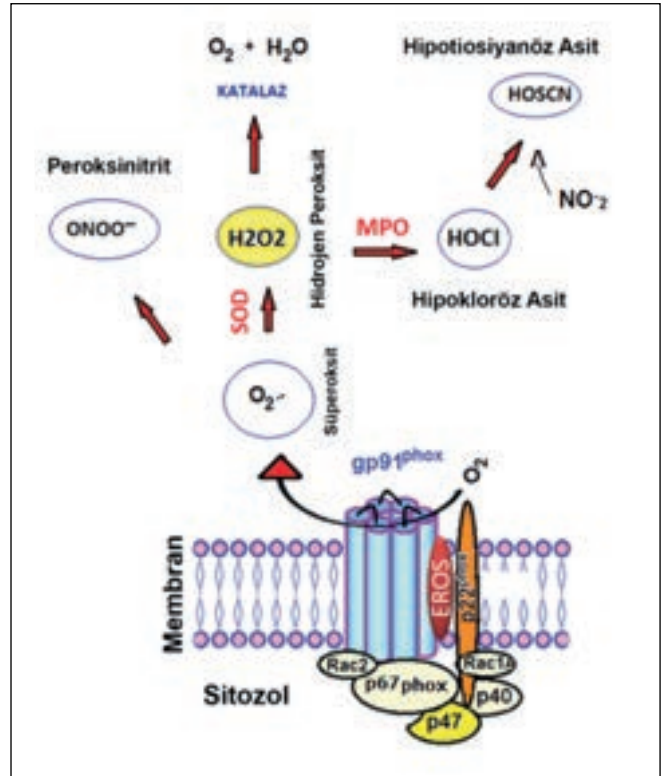
Nadir hastalıklar grubunda yer alan kronik granülomatöz hastalık (KGH) nötrofil NADPH oksidaz enzim fonksiyon bozukluğu ile seyreden ve özellikle çocukluk döneminde görülen bir primer immün yetersizlik (PİY) hastalığıdır. KGH, etkilenen NADPH-oksidad ünitesine bağlı olarak X-bağlı veya otozomal resesif (OR) geçiş gösterebilir. En yaygın görülen genotip X kromozomunda yerleşik olan sitokrom b-245 beta (CYBB) geninde oluşan mutasyon sonucu gp91-*phox* protein defektinin görüldüğü X-bağlı (X-KGH) formdur. KGH dünya genelinde özellikle batı toplumlarında yaygınlığı X-KGH (%60) ve OR KGH %40 şeklindedir. KGH'nin OR formu ise nötrofil sitozol faktörü 1 (NCF1), NCF2 ya da sitokrom b-245 alfa (CYBA) genlerindeki mutasyonlar sonucu oluşmakta ve sırası ile p47-*phox*, p67-*phox* ve p22-*phox* olarak isimlendirilen NADPH oksidaz bileşenleri etkilenmektedir (Şekil 1) (1-3). Nadiren sitokrom b-245 şaperon 1 (CYBC1) ve Ras ile ilişkili C3 botulinyum toksini substratı 2 (Rac2) mutasyonu olan olgular da bildirilmiştir (3).

Başta gelen nötrofil fonksiyon bozukluklarından biri olan KGH, daha ziyade tekrarlayan cilt, derin organ apseleri veya solunum yolu enfeksiyonları ile kendini gösterir. Bununla beraber, normalde rastlanmayan fırsatçı bakteri ve mantarların neden olduğu fırsatçı enfeksiyonlar sıklıkla gözlenebilir. KGH'nin en yaygın tipi olan X'e bağlı form (X-KGH) batı ülkelerinde yaygın olarak görülmektedir. OR (OR-KGH) formlar (p22*phox*, p47*phox* veya p67*phox* defektleri) daha çok akraba evliliği oranlarının yüksek olduğu Akdeniz ve Orta Doğu bölgelerinde görülmektedir (1, 3).

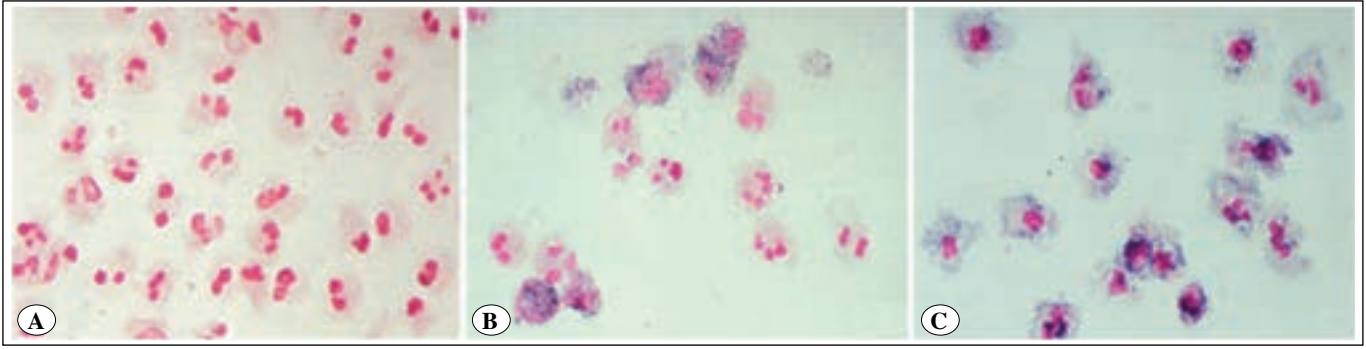
2. TANI TESTLERİ

2.1. Nitroblue Tetrazolium Testi

KGH laboratuvar tanısında bilinen başlıca test nitroblue tetrazolium testidir (NBT). NBT testi nötrofil oksijen radikali (hidrojen peroksit (H_2O_2) üretebilme kabiliyeti ölçen kalitatif bir testtir (Şekil 2). Tam kan veya nötrofil izolatu NBT boyası ile karıştırılır ve forbol miristil asetat (PMA)



Şekil 1. NADPH oksidaz kompleksi ve ürünleri
SOD: Süperoksit dismutaz, MPO: Miyeloperoksidad



Şekil 2. Nitroblue tetrazolium testi, forbol miristat asetat (PMA) uyarımı sonrasında boyanan nötrofil görüntüleri A) KGH da nötrofil de NBT redükte olmaz mor boyanma oluşmaz. B) X'e bağlı KGH taşıyıcılarında iki grup (hasta ve sağlıklı) nötrofil mevcuttur. C) Sağlıklı kişide NBT redükte (indirgenir) olur ve mor granüller ışık mikroskobu ile gözlenir.

ile 15-30 dakika 37 derecede stimüle edilir. Cam yayma üzerine örnek konularak kurutulur ve %0,1'lik safraninle tekrar boyama yapılarak ışık mikroskobunda incelenir. Sağlıklı nötrofillerde NBT indirgenerek hücre içinde mavimor formazan granülleri gözlenir (Şekil 2). Ancak KGH hastalarında mavi granüller görülmez. X'e bağlı KGH'da random inaktivasyon nedeniyle NBT pozitif ve NBT negatif iki grup nötrofil mevcuttur (Şekil 2). NBT pozitif nötrofillerin oranı %5-95'e kadar olabilmektedir, mikroskop bakıda sayarak sonuç elde edilir. Ayrıca deneyimli personel gerekmektedir (4). Son 20 yılda mikroskobik değerlendirme gerektiren NBT testi yerini akan hücre ölçer ile uygulanan dihidrorodamin-1,2,3 (DHR) testi almıştır.

2.2. Dihidrorodamin Testi

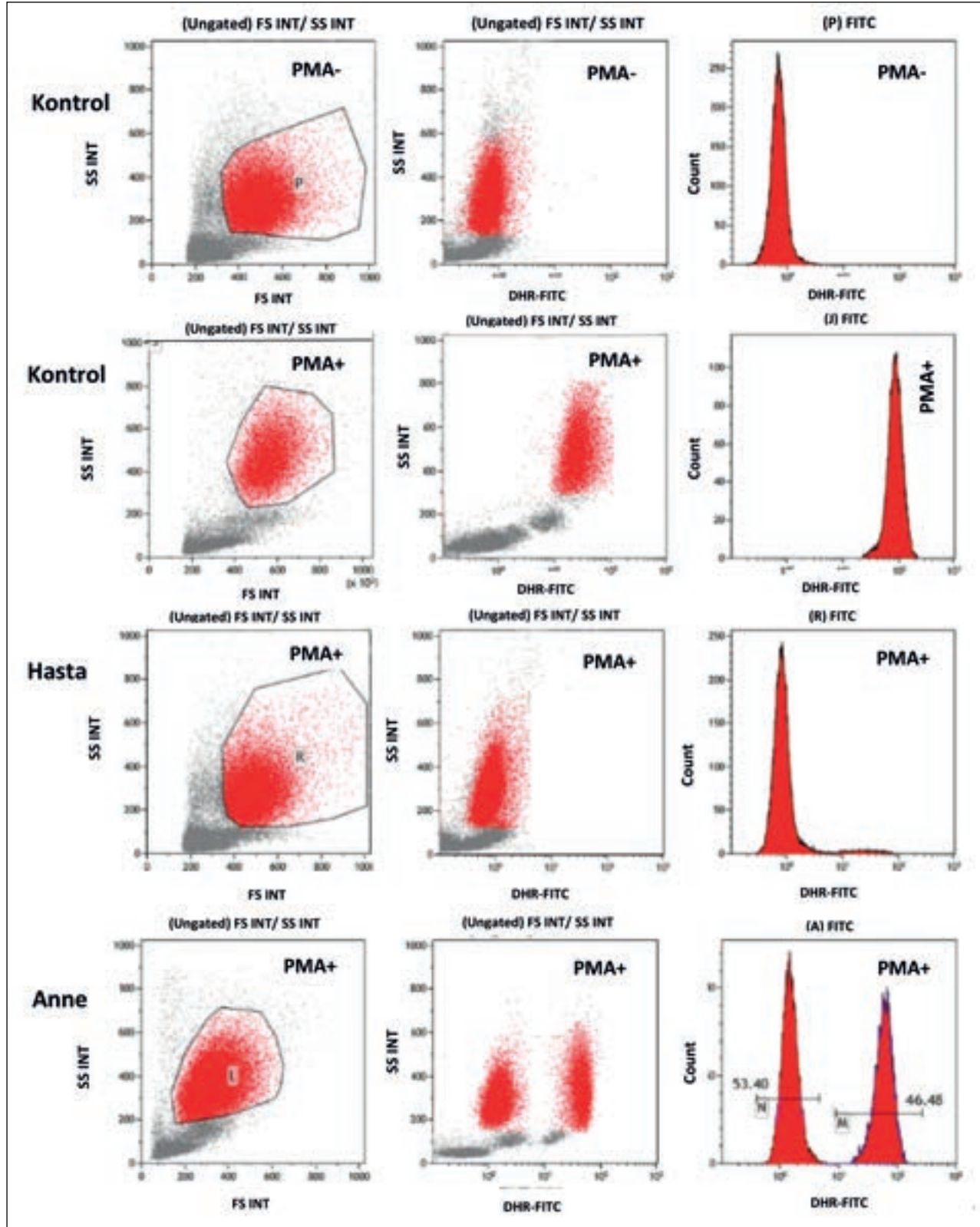
KGH tanısında fagositer hücre fonksiyon göstergesi olarak DHR-123 testi kullanımı bütün dünyada yaygın olarak kabul görmüştür. DHR testinde tepkime ölçümü akan hücre ölçer ile yapılmaktadır. Ortalama 20 bin hücre saydırılarak sonuç verilir. Temel mekanizma, NADPH oksidaz enzimi tarafından üretilen süper oksitten süperoksit dismutaz enzim reaksiyonu ile hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşmasıdır (Şekil 1). DHR testinde; dihidrorodamin normalde floresan ışımaya yapmaz, hücre içine serbestçe geçebilir ve hücre içinde PMA uyarımı sonrası indirgenerek rodamin 1,2,3 ü oluşturur. Bu reaksiyon peroksidaz bağımlıdır ve reaksiyona katalaz eklenerek hücre dışı ortamdaki H_2O_2 'nin uyarım sürecine etkisi elimine edilir ve PMA uyarımı sonrasında oluşabilen oksidatif etki tam olarak ölçülebilir. Uyarım sonrası rodamin 585nm de floresan ışımaya yapar ve bu etki akan hücre ölçerde FITC kanalında okunabilir (4). Fagositlerdeki miyeloperoksidaz (MPO) veya eozinofil peroksidaz H_2O_2 yi hipokloröz asite (HOCL) dönüştürür (Şekil 1) ve oluşan düşük pH da mikroorganizmaların yıkı-

mı gerçekleşir. MPO eksikliği olan kişilerde DHR testinde yanlış negatiflik görülebilir. Bu nedenle DHR de uyarım oluşmayan her örnekte hücre içi MPO ekspresyonu kontrol edilerek MPO eksikliği ayırıcı tanısı yapılmalıdır (4). DHR testi ile X-KGH'da kadın taşıyıcılarına özgü bimodal nötrofil grubunun izlenmesi X-KGH ve OR-KGH ayırımında katkı sunabilir.

DHR testinde hasta ve kontrolün stimüle olmamış ve stimüle olmuş örnekleri çalışılarak *Mean Floresan Intensity* (MFI) değerleri üzerinden stimülasyon indeksi (SI) hesaplanır. Akan hücre ölçer cihazında okuma sonrası FITC kanalından geometrik mean alınarak SI hesaplanır. Sağlıklı kişilerde nötrofil kapılanarak PMA ile stimülasyonda MFI değerinde uyarılmamış örneğe göre (en az 50 kat) artış gözlenir. Hasta kişilerde bu oran genellikle 1-5 aralığında beklenir, nadiren (p47-phox defect) 10'un altında kalır ve SI olarak ifade edilir.

KGH tanısal sürecinde klinik ön tanıyı destekleyen iki farklı laboratuvar bulgusu (biri DHR / NBT testi) olması beklenir. İkinci doğrulamanın akan hücre ölçer ya da western blot ile NADPH oksidaz subgrup bileşenlerinin ekspresyon kaybının gösterilmesi ya da ilgili mutasyonun gösterilmesi ile yapılır.

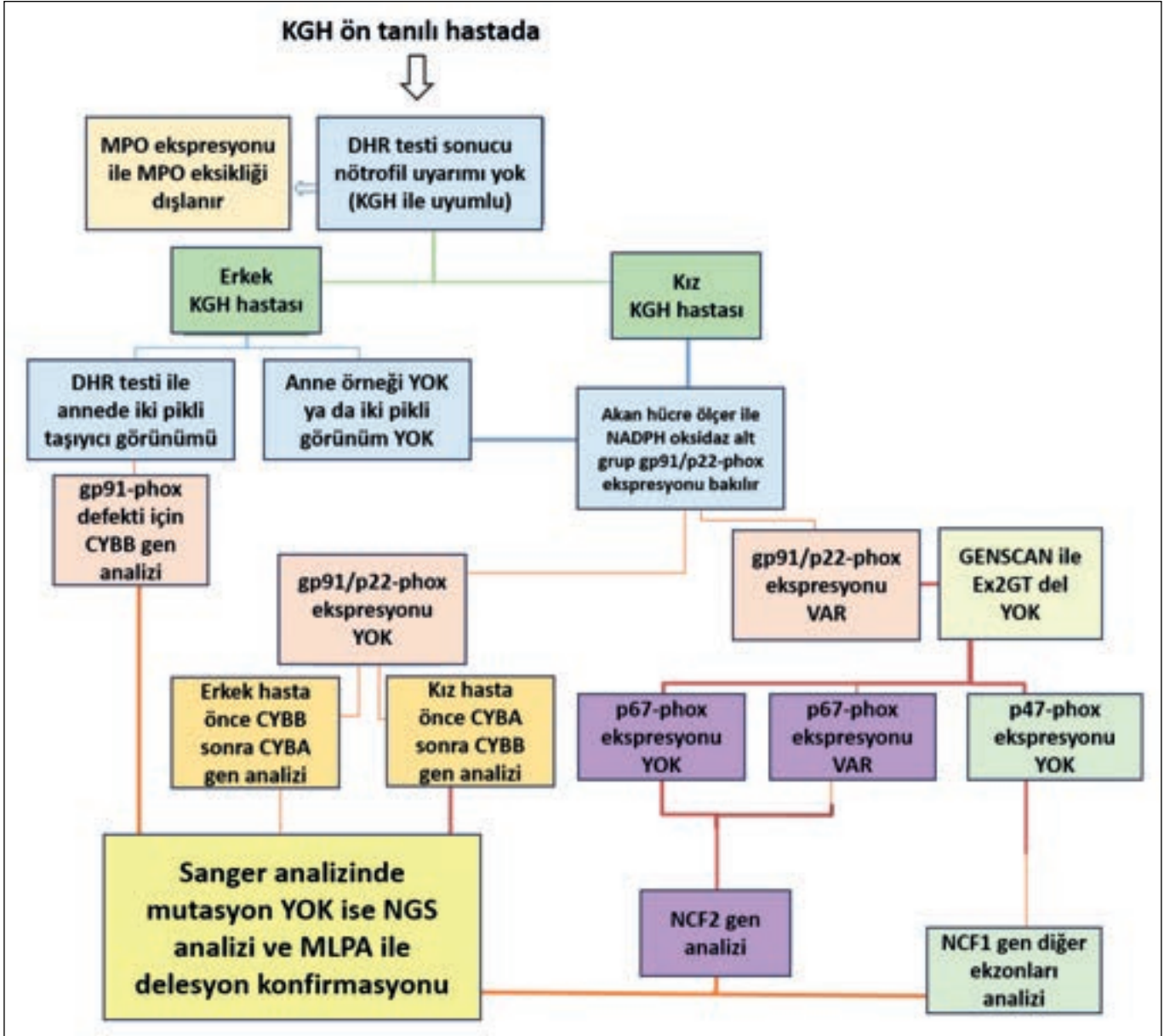
KGH tanısına ek olarak X-KGH'nin kadın taşıyıcılarına özgü bimodal nötrofil grubunun DHR testi gösterilmesi, X-KGH ve OR-KGH ayırımına önemli katkı sunabilir (4). Ancak *de novo* mutasyon gibi nadir durumlarda X-KGH ön tanısı için DHR testi yetersiz kalabilir. Ayrıca, X-KGH taşıyıcılarının klinik bulgu ve iyonizasyon (X-kromozom inaktivasyon) sapsması yönünden DHR testi ile izlenmesi önerilir. Normal durumda, somatik hücrelerde taşıyıcı anne ya da kız kardeşte bulunan her iki X kromozomunun her birinin %50'si



Şekil 3. DHR-123 testinde sağlıklı, hasta ve taşıyıcının akan hücre ölçer histogram görüntüleri Forbol miristat asetat (PMA) uyarımı sonrasında X-KGH da taşıyıcı annelerde hastalık taşıyıcı ve sağlıklı fagositer hücre (nötrofil, monosit) görüntüsü izlenir.

rastgele inaktive olması beklenir (5). Taşıyıcı kadınlarda iyonizasyonun KGH hastalıklı-X-ch'a doğru sapması durumunda, asemptomatik X-KGH oluşabilir veya enfeksiyon, apse, egzema ve fotosensitivite gibi klinik belirtiler ortaya çıkabilir (6). Ayrıca tam miyeloperoksidaz (cMPO) eksikliği olan hastalarda, DHR testinde KGH benzeri stimülasyon kaybına rastlanabilir. Bu nedenle KGH hastalarında MPO eksikliğinin dışlanması için MPO ekspresyonunun akan hücre ölçer ile kontrol edilmesi gereklidir (Şekil 4) (7).

Ayrıca sağlıklı sonuç elde etmek için nötrofil CD15/CD16 ekspresyonu kontrol edilerek nötrofil maturasyon durumu da belirlenmelidir. Bazı immatür nötrofillerin (blast) KGH da olduğu gibi oksidaz aktiviteleri bozuktur ve PMA ile uyarım gerçekleşmez. Sonuç olarak, PİY'lerin heterojen klinik belirtiler gösterdiği ve bu nedenle nadir semptomları olan hastalarda ipuçlarını tanımak için multidisipliner bir bakış açısı ile tanılma sürecin yönetilmesi gerektiği unutulmamalıdır.



Şekil 4. Kronik granümatöz hastalık (KGH) alt grupları ve moleküler tanısında laboratuvar işlem akışı

DHR: Dihidrorodamin, MPO: Miyeloperoksidaz, CYBB: Sitokrom b-450 beta, CYBA: Sitokrom b-450 alfa, GENS SCAN: Biyoinformatikte DNA'daki gen yapılarını tanımlayan program, NCF: Nötrofil sitozol faktörü, NGS: Yeni nesil sekanslama, MLPA: Multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu

2.3. Kronik Granülomatöz Hastalıkta Klinik Tanı ve Laboratuvar Tanısının Önemi

Avrupa İmmün Yetersizlik Derneği (ESID) 2019 yılında PİY tanı kriterleri kapsamında kronik granülomatöz hastalık tanısı için aşağıdaki kriterleri yayınlamıştır. Buna göre KGH tanısı için;

- Bakteri veya mantar etkeni olan derin doku enfeksiyonu (apse, osteomyelit, lenfadenit)
- Tekrarlayan pnömoni
- Lenfadenopati, hepatomegali veya splenomegali
- Obstrüktif veya yaygın granülom (gastrointestinal sistemde veya ürogenital yolla)
- Kronik enflamatuvar bulgular (kolit, karaciğer apsesi, fistül formasyonu)
- Büyüme gelişme geriliği
- Benzer semptomlara sahip etkilenmiş bir aile bireyi olması

Yukarıdakilerden en az biri ve oksidaz aktivitesinin olmayışı veya az oluşu gösterilmelidir (NBT veya DHR ile iki kez ölçülmesi önerilir).

Enfeksiyon kliniklerinde, özellikle fırsatçı patojenlerin neden olduğu ciddi enfeksiyonlarda KGH'nın ayırıcı tanısının hızlı bir şekilde yapılabilmesi tedavi planlaması için oldukça önemlidir. Bununla beraber klinik bulguları öne çıkmayan sessiz KGH olgularına da rastlamak mümkündür. Bu nedenle KGH ile benzeşen olgularda anne-baba akrabalığı, kardeş ölüm öyküsü ve yüksek immünooglobulin G (IgG) düzeyleri kontrol edilmelidir. Son yıllarda birçok merkez, kargo ile kan örneği gönderim hizmetleriyle tanı veya sonuçlarını doğrulamak için Erciyes Üniversitesinde bulunan referans laboratuvarlara erişim sağlayabilmektedir. Tekrarlayan enfeksiyon hastalıkları, invaziv mantar enfeksiyonları, fırsatçı patojenler, Bacille de Calmette Guerin (BCG) aşısına bağlı komplikasyonlar, açıklanamayan lenfadenit veya osteomyelit ve kronik enflamasyon varlığında fagositer bozukluklar KGH yönünden kontrol edilmelidir (2). Aile üyelerinden herhangi birinde KGH olgusu durumunda, DHR testi ile diğer kardeşler asemptomatik KGH olgusu yönünden kontrol edilmeli ve KGH şüphesinde BCG aşısı ertelenmelidir. KGH'a yaygın değişken immün yetersizlik (CVID), tuberküloz, hipogammaglobulinemi veya Kabuki sendromu gibi diğer nadir hastalıklar da eşlik edebilir (1, 8-11). Benzer klinik bulgu veren hastalıklar yönünden ayırıcı tanı yapılmalıdır.

Genel olarak, X-KGH hastaları ve bazı OR-KGH (p22phox veya p67phox defekti) olan hastalar DHR testinde %1 gibi çok düşük oksidaz aktivite ve ağır klinik tablo ile seyrebilmektedir (1). KGH çoğunlukla çocukluk döneminde tanımlanır. Bununla beraber, tanı olanaklarının gelişmesi, takip ve farkındalık nedeniyle, geç ve nadir klinik bulgu veren KGH olgularına daha ileri yaşlarda, ikinci veya üçüncü dekatlarda tanı konulabilmektedir (1, 10, 11). Geç tanı alan KGH hastalarında genellikle %5-7 rezidüel oksidaz aktivite ve diğer bir OR-KGH alt tipi olan p47phox eksikliği öne çıkmaktadır (1, 3, 11). Klinik deneyim ve değerlendirme, aile öyküsü ve DHR testi gibi laboratuvar olanakları asemptomatik hastaların belirlenmesine yardımcı olabilmektedir. Bu hastalarda nötrofil rezidüel oksidaz aktivitesi olması klinik tabloyu geciktirebilir. Ancak rezidüel oksidaz aktivite, klinik destek olmadan ciddi enfeksiyonların atlatılması için yeterli değildir (12). Rezidüel oksidaz aktivitesi olan hastalarda alta yatan neden sıklıkla *NCF1* geninin (p47phox) ekzon 2 başlangıç bölgesinde oluşan hotspot mutasyondur. Bu mutasyon şu ana kadar yaklaşık bin hastada tespit edilmiştir. Ek olarak *CYBA* (p22phox) geninde, *NCF2* (p67phox) geninde, *NCF4* (p40phox) ve X-KGH formlarında nadir hipomorfik mutasyon noktasına sahip bazı hastada da rezidüel oksidaz aktivitesi tanımlanmıştır (1, 12). KGH'ın laboratuvar tanısı, özellikle ileri yaşlarda ve nötrofil rezidüel oksidaz aktivitesi olan olgularda ek doğrulama testi gerektirebilir (4).

Tanısal şüphesi olan ve doğrulaması yapılan hastaların antibakteriyel ve antifungal ajanla profilaksiye alınması klinikte ilk aşamada yapılması gerektirir. Uygun tam uyumlu bir allojenik donör olması kemik iliği nakli KGH için altın standart tedavi seçeneğidir. Transplantasyon öncesi nötrofil fonksiyonu DHR testi ile donörde kontrol edilmeli ve normal sınırlarda olduğu gösterilmelidir. Transplantasyon uygulanan hastalarda nötrofil kimerizm durumu DHR testi ile transplantasyon sonrasında izlenebilir. OR-KGH durumunda, nötrofil fonksiyonu normal sınırlarda olan taşıyıcı kardeşlerden ve akrabadan nakil yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Koker MY, Camcıoğlu Y, van Leeuwen K, Kılıç SŞ, Barlan I, Yılmaz M, et al. Clinical, functional, and genetic characterization of chronic granulomatous disease in 89 Turkish patients. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(5):1156-63.e5.
2. Roos D, van Leeuwen K, Hsu AP, Priel DL, Begtrup A, Brandon R, et al. Hematologically important mutations: X-linked chronic granulomatous disease (fourth update). *Blood Cells Mol Dis* 2021;90:102587.
3. Roos D, van Leeuwen K, Hsu AP, Priel DL, Begtrup A, Brandon R, et al. Hematologically important mutations: The autosomal forms of chronic granulomatous disease (third update). *Blood Cells Mol Dis* 2021;92:102596.
4. Hanoglu D, Ozgür TT, Ayvaz D, Köker MY, Sanal O. Chronic granulomatous disease Presenting with hypogammaglobulinemia. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2011;21(4):310-2.
5. Shvetsova E, Sofronova A, Monajemi R, Gagalova K, Draisma HMH, White SJ, et al. Skewed X-inactivation is common in the general female population. *Eur J Hum Genet* 2019;27:455-65.
6. Köker MY, Sanal Ö, De Boer M, Tezcan I, Metin A, Tan C, et al. Skewing of X-chromosome inactivation in three generations of carriers with X-linked chronic granulomatous disease within one family. *Eur J Clin Invest* 2006;36(4):257-64.
7. Köker MY, Özsoy S, Çelikzencir H, Köker N. The Evaluation of DHR histogram pattern in chronic granulomatous disease and MPO deficiency. *Chest* 2021;159(5):2106.
8. Köker MY, Türe Z, Köker N, Metan G. An atypical case with chronic granulomatous disease and Kabuki syndrome. *Erciyes Medical Journal* 2020;42:229-32.
9. Karadağ ŞİK, Kutluğ Ş, Uzun O, Köker MY, Yıldırım A. Chronic granulomatous disease with recurrent tuberculosis at adolescent child. *J of Pediatric Infection* 2022;16(2):E115-E8.
10. Zengin Acemoğlu ŞŞ, Türk İ, Özsoy S, Köker MY, Sat B. Adult case of chronic granulomatous disease mimicking granulomatosis with polyangiitis. *Int J Rheum Dis* 2023;26(4):764-8.
11. Aygun D, Köker MY, Nepesov S, Koker N, van Leeuwen K, de Boer M, et al. Genetic characteristics, infectious, and noninfectious manifestations of 32 patients with chronic granulomatous disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2020;181(7):540-50.
12. Köker N. Investigation of NADPH oxidase activity and pathogenesis of chronic granulomatous disease by new diagnostic methods (Thesis). Kayseri: Erciyes University; 2023.

Genetik Testler

Doç. Dr. Baran ERMAN

1. DİZİLEME YÖNTEMLERİ

Dizileme yöntemlerinin geçmişi 60'lı yıllara dayanmaktadır. 1964 yılında Robert Holley *S. Cerevisiae*'den izole ettiği Alanin tRNA molekülünü dizilemiştir (1). Walter Gilbert ve Allan Maxam ise 1970'lerde geliştirdikleri kimyasal degradasyon yöntemi ile PhiX174 bakteriyofajının tüm genomunu dizilemişlerdir (2). Dizileme tekniklerinde çığır açan yöntem ise Frederick Sanger tarafından geliştirilen zincir sonlandırma tabanlı dizileme yöntemidir ki günümüzde hâlâ kullanılmakta olup, yeni nesil yöntemler için de bir temel teşkil etmektedir (3). Bu teknik DNA sentezinin serbest dideoksinükleotidlerle sonlandırılmasına dayanmaktadır. 1987'de ise ilk kapiller elektroforez dizileme cihazının üretilmesi ile Sanger yöntemi endüstri standardı olarak günümüze kadar kullanılmıştır. Teknolojinin ilerlemesi ile birlikte 2000'li yıllardan itibaren yeni nesil dizileme yöntemleri (NGS) geliştirilmeye başlanmıştır ve günümüzde dizileme teknolojileri 3 nesil olarak sınıflandırılmaktadır.

Üç nesil dizileme yöntemlerinin teknolojileri farklı olup genel özellikleri Şekil 1'de verilmiştir. Özellikle primer immün yetersizlikler (PİY) ya da son terminolojiye göre immün sistemin doğuştan kusurları gibi konjenital hastalıkların tanısı ve araştırmalarında hangi yöntemlerin kullanılabileceği bu bölümün asıl konusu olup aşağıda ayrıntıları ile açıklanmıştır.

2. BİRİNCİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMLERİ

Dizileme yöntemlerinden özellikle Sanger dizileme genel olarak birinci nesil teknolojiler olarak sınıflandırılmaktadır. Sanger yönteminde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifiye edilen nükleik asitlerde ortalama 1000 baza kadar dizileme yapılabilmektedir. Yukarıda da belirtildiği üzere bu yöntem 40 yıldan uzun süredir moleküler biyoloji çalışmalarında standart dizileme yöntemi olarak kullanılmaktadır. Nitekim 2003 yılında tamamlanan insan genom projesinde, DNA dizileri Sanger tabanlı "shotgun" genom dizileme yöntemi ile belirlenmiştir (4).



Şekil 1. Dizileme yöntemleri

Primer immün yetersizliklerde hastalığa neden olan ilk genetik kusurlar, *BTK* ve *IL2RG* gen defektleri, 1993 yılında tanımlanmıştır (5-7). Bunları yine 90'lı yılların ilk yarısında tanımlanan *CD40L*, *WAS*, *AK2*, *RAG1* ve *RAG2* genlerindeki mutasyonlar takip etmiştir (8). Sözü edilen araştırmalarda gen sekansları Sanger dizileme ve pozisyonel klonlama gibi yöntemler kullanılarak elde edilmiştir. Teknolojinin gelişmesi ile birlikte gen klonlama, bağlantı analizleri ve homozigotluk haritalaması gibi yöntemler de Sanger dizileme ile birlikte PİY genlerinin keşfinde kullanılmıştır.

Sanger dizileme yöntemi sınırlı büyüklükte bir nükleik asit dizisinin haritalamasını sağlamaktadır. Bu nedenle yeni nesil dizileme yöntemlerinin keşfinden önce PİY'lere neden olan yeni genlerin tanımlanması için haritalama ve bağlantı analizleri ile belirlenen kromozomal bölgelerdeki aday genler Sanger yöntemi ile dizilenmiştir. Tanımlanan PİY genlerindeki varyantlar ise klinisyen ve araştırmacıların hastaların fenotipik özelliklerine göre belirlediği bir ya da birkaç aday genin dizilenmesi ile belirlenmeye çalışılmıştır. Nitekim Uluslararası İmmünoloji Dernekleri Birliği'nin (IUIS) 2 yılda bir yayınladığı PİY hastalıkları sınıflandırmasına göre yeni nesil dizileme kullanımından önce keşfedilen 200'den fazla PİY geni Sanger dizileme ile tanımlanmıştır (9). Günümüzde Sanger yöntemi sıklıkla NGS ile saptanan varyantların doğrulanması için kullanılmaktadır. Eskisi kadar yaygın olmasa da çok tipik fenotipik özellikleri olan hastalarda bilinen gen varyantları için ya da daha önce gen defekti tanımlanan hastaların aile üyelerinde aynı varyantın olup olmadığının araştırılması için Sanger dizileme kullanılmaktadır.

3. İKİNCİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMLERİ

Günümüzde 2. nesil yöntemler, yeni nesil dizileme yöntemlerini ifade etmektedir. NGS 2000'li yılların başından itibaren geliştirilmeye başlanmış ve ilk olarak 2009'da Ng. ve ark. tarafından 12 insan ekzom dizisi yayımlanmıştır (10). İlk başlarda birkaç farklı ticari firma tarafından üretilen, teknolojisi farklı platformlarda uygulanabilen NGS yöntemleri şu an için büyük oranda tek bir teknolojik yöntem ile çalışılmaktadır. Büyük hacimli paralel dizileme (massive parallel sequencing) ya da büyük hacimli dizileme (highthroughput sequencing) olarak adlandırılan bu yöntemde sentez aracılı dizileme (sequencing by synthesis) teknolojisi kullanılmaktadır. Kısaca, amplifiye edilen hedef nükleik asit bölgeleri DNA sentezi sırasında, Sanger yönteminde olduğu gibi zincir sonlandırma ile tespit edilmektedir. Burada fark DNA ya da RNA'nın enzimatik olarak milyonlarca küçük parçaya ayrılıp, her bir nükleik

asit parçasının ayrı ayrı amplifiye edilip dizilenmesidir ki bu şekilde tüm genoma kadar dizileme yapılabilmektedir. Günümüz teknolojisi ile her bir reaksiyonda 600 baz, paralel olarak dizilenebilmektedir. Teorik olarak 1000 baza kadar yapılan nükleik asit sentezi kısa okumalı dizileme (short read sequencing) olarak adlandırılmaktadır. Üç nesil dizileme teknolojisi arasında en büyük hacimli ve hatasız dizileme bu yöntemle elde edilmektedir (11).

Yeni nesil dizileme yöntemlerinin genetik hastalıkların tanısı için kullanımı genel olarak DNA dizilemesini içermektedir. Fakat son yıllarda genetik tanının yanı sıra hastalıkların doğasının incelendiği geniş çaplı araştırmaların ön plana çıkmasıyla, omik teknolojilerin kullanımı da giderek yaygınlaşmaktadır. Omik teknolojilerin dizileme tabanlı uygulamaları, genomik, transkriptomik, epigenomik ya da transkriptomik, farklı yöntemlerle ve farklı amaçlar için kullanılsa da tüm bu uygulamalarda DNA ve RNA dizisinin belirlenmesi büyük hacimli paralel dizileme ile yapılmaktadır. Özellikle transkriptomik ve epitranskriptomik çalışmalarda RNA dizilemesi hastalık tanısının yanı sıra hastalıkların biyokimyasal mekanizmalarının araştırılması için yol gösterici olmuştur. Bunlarla birlikte yeni nesil yöntemler, miRNA, siRNA, snoRNA, lncRNA gibi protein kodlamayan ve genetik düzenleyici görevleri olan RNA'ların dizilemeleri için de sıklıkla kullanılmaktadır (12).

Genomik çalışmalarda kullanılan yeni nesil yöntemler, dizileme için hedeflenen DNA bölgelerinin büyüklüğüne göre sınıflandırılmaktadırlar. Bu sınıflandırmada yöntemler hedeflenmiş ekzom veya panel dizileme (targeted exome sequencing), tüm ekzom dizileme (whole exome sequencing) ve tüm genom dizileme (whole genome sequencing) olarak adlandırılmaktadır.

3.1. Hedeflenmiş Dizileme

Bu yöntem belirli sayıda hedeflenmiş kodlayan DNA bölgesinin (genin) dizilenmesini ifade etmektedir. Kullanılacak paneller farklı sayıda geni hedefleyen primerler içermektedir. Hedeflenmiş dizileme ile birkaç genden, binlerle ifade edilen sayılarda gene kadar dizileme yapılabilmektedir. PİY'de hedeflenmiş gen panellerinin kullanımı, NGS yöntemlerinin ortaya çıktığı ilk yıllarda en yaygın yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Büyük hacimli yöntemlerin fiyatlandırılması düşünüldüğünde ilk yıllarda oldukça masraflı olan bu yöntemler gen panellerinin kullanımı ile PİY tanı ve araştırma laboratuvarlarında rutin hâlinde kullanılmaya başlanmıştır (13). PİY'ler için en sık kullanılan gen paneli örnekleri ağır kombine immün yetersizlik

paneli, yaygın değişken immün yetersizlik paneli, immün-disregülasyon paneli ve kombine immün yetersizlik paneli olarak verilebilir. Bilinen yaklaşık 500 PİY genini içeren paneller ve PİY ile birlikte diğer genetik hastalık genlerini içeren, klinik ekzom olarak adlandırılan paneller de son zamanlarda sıklıkla kullanılmaktadır. NGS yöntemlerinde hedeflenen bölgelerin DNA kütüphanelerinin doğru ve etkin bir şekilde dizilendiğini gösteren kapsama (coverage) kavramı, en yüksek olarak hedeflenmiş gen panelleri ile elde edilmektedir ve bu, yüksek hacimli dizilemelerde teknik olarak en doğru dizilemenin gen panelleri ile yapılabildiğini göstermektedir (14).

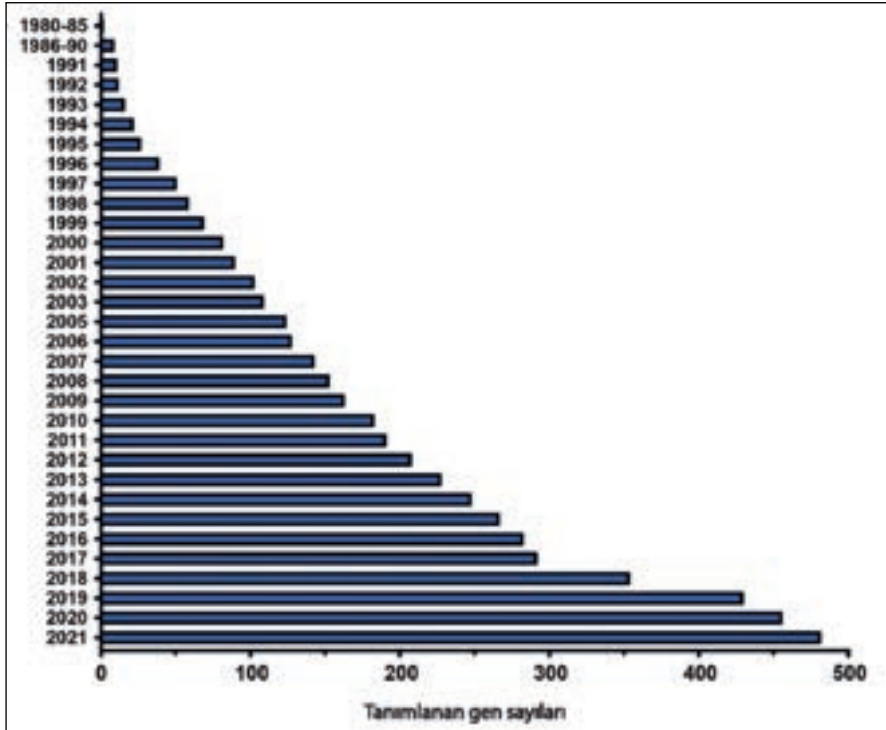
3.2. Tüm Ekzom Dizileme

Ekzom kavramı DNA'nın protein kodlayan bölgelerini ifade etmektedir. Tüm ekzom yöntemi ile protein kodlayan tüm DNA bölgeleri dizilenmektedir. Son yıllarda NGS yöntemlerinin maliyetlerinin düşmesi ile ekzom dizileme PİY laboratuvarlarında en yaygın kullanılan yöntem hâline gelmiştir. Nitekim IUIS sınıflandırmasına göre 2023 itibarıyla PİY'lere neden olduğu gösterilen genlerin sayısı yaklaşık 500 olmuştur (9). Bu genlerin 250'den fazlası NGS, özellikle ekzom dizileme ile tanımlanmıştır. Son zamanlarda yapılan araştırmalar yılda yaklaşık 30 yeni PİY geninin tanımlandığını göstermektedir (Şekil 2) (9).

Tüm ekzom dizileme en yaygın NGS yöntemi olmasına rağmen çeşitli kısıtlamaları mevcuttur. Öncelikle sadece kodlayan bölgelerin dizilenmesi yapıldığı için DNA'da bulunan düzenleyici bölgelerde bulunan varyantlar saptanamamaktadır. Bununla birlikte büyük delesyon ve inserisyonlar, inversiyonlar ve tekrarlayan diziler gibi kompleks yapısal varyasyonların tüm ekzom yöntemi ile saptanması oldukça zordur. Nükleer faktör kappa B kinaz subünit beta inhibitör (*IKBKB*) ve nötrofil sitozolik faktör 1 (*NCF1*) gibi benzer dizilerin bulunduğu psödogen bölgelerine yakın konumda yerleşik genler için haritalama hataları ortaya çıkabilmektedir (8). Bu kısıtlamalardan dolayı akrabalık oranı yüksek PİY hasta kohortlarında bile tüm ekzom dizileme ile genetik tanı oranı %30-%60 arasında değişmektedir (14).

3.3. Tüm Genom Dizileme

Tüm genom yöntemi DNA'da yer alan tüm bazların (yaklaşık 3 milyar) dizilenmesidir. Böylece sadece kodlayan bölgeler değil, regülatör, intronik DNA bölgelerindeki tek nükleotid varyantlar ve kompleks yapısal değişiklikler de genom dizileme ile saptanabilmektedir. Başlangıçta oldukça maliyetli olan tüm genom dizileme, üretici firmaların oldukça büyük dizileme kapasiteli cihazları geliştirmesi ile günümüzde daha düşük maliyetler ile uygulanabilmektedir.



Şekil 2. Primer immün yetersizliğe neden olan yeni gen defektlerinin yıllara göre tanımlanma oranları (9)

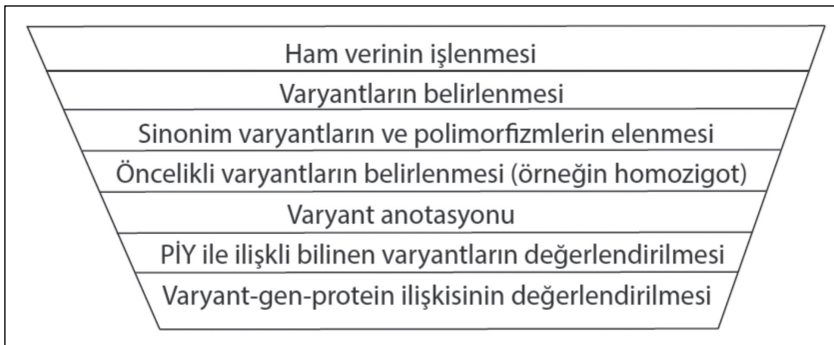
PiY gibi kompleks hastalıkların tanısında yukarıda bahsedilen teknik kısıtlamalar nedeni ile tüm ekzom dizileme yerine tüm genom dizilemenin bu hastalık grubunda daha etkin kullanılabileceği düşünülmektedir. 2020 yılında Thaventhiran ve ark.nın yaptığı çalışmada, 1318 yetişkin PiY hastası genom dizileme ile araştırılmış ve en az 2 yeni aday PiY geni ile, bilinen genlerde birçok yapısal varyant tespit edilmiştir (15). Belkadi ve ark.nın yaptığı çalışmada ise 6 PiY hastasında varyantlar ekzom ve genom dizileme ile araştırılmış, genom dizilemenin hem yapısal varyantların hem de ekzonik varyantların saptanmasında daha etkili olduğu gösterilmiştir (16).

Yeni nesil dizileme yöntemlerinde elde edilen verinin biyoinformatik analizleri ve değerlendirilmesi en önemli basamaktır. Elde edilen varyantların yorumlanabilmesi için ham verinin işlenmesi gerekmektedir. Genel olarak ham verinin işlenmesi elde edilen verinin referans bir genomu hizalanması (haritalama), PCR hatalarının ve duplikasyonların eliminasyonu ve varyantların belirlenmesi şeklindedir (13). Son yıllarda bu işleyişin tüm basamakları üretici firmaların ya da araştırma gruplarının geliştirdiği biyoinformatik yazılımlar tarafından kolaylıkla yapılabilmektedir. Dizileme sonucu saptanan varyantların değerlendirilmesi ise yine aynı yazılımların varyant anotasyon özellikleri ve genetik veri tabanlarındaki bilginin (verinin) kullanılması ile yapılabilmektedir. Varyant verilerinin en etkin şekilde yorumlanabilmesi için, değerlendirmenin temel bilimci araştırmacılar, klinisyenler ve biyoinformatikçiler tarafından bir takım hâlinde yapılması gerekmektedir. PiY hastalıklarında değerlendirme, saptanan çok sayıda varyantın farklı stratejiler ile filtrelenmeleri ve filtrelenen varyantların yorumlanması şeklinde yapılmaktadır (Şekil 3).

Primer immün yetersizliklerin genetik tanısı için hangi dizileme yönteminin kullanılacağı hastaların fenotipik özellikleri, laboratuvar bulguları, akrabalık ve aile hikâyesi gibi faktörler göz önünde bulundurularak ya da planlanan araştırmanın içeriğine göre belirlenmelidir. Örneğin klinik ve laboratuvar bulguları ile ağır kombine immün yetersizlik

tanısı almış hastalar için 20-30 geni hedefleyen bir immün yetersizlik paneli kullanılabilir. Aynı şekilde yaygın değişken immün yetersizlik ya da primer immün disregülasyon bozukluğu tanısı alan hastalar için de farklı paneller tasarlanıp kullanılabilir. Fakat son yıllarda tüm ekzom dizileme maliyeti hedeflenmiş dizileme panelleri ile neredeyse aynı seviyelere düşmüştür ve genel olarak ekzom dizileme PiY araştırmalarında standart hâline gelmiştir. Fakat PiY hastalıklarının doğası düşünüldüğünde fenotipik heterojenite kavramı ön plana çıkmaktadır. Yani aynı gendeki farklı varyantlar protein fonksiyonunu farklı şekilde etkilemekte ve hastalık fenotipi farklı özellikler ile ortaya çıkmaktadır. Bu hastalık grubunun bir diğer özelliği ise farklı genlerdeki varyantların benzer klinik fenotiplere yol açmasıdır. Bu heterojenik özellikler ekzom ve genom dizilemenin bu hastalık grubunda daha etkin olduğunu ortaya çıkarmıştır. Uygun yöntemin belirlenmesi için hastaların fenotipik ve ailevi özelliklerinin bir arada değerlendirilmesi gerekmektedir. Burada 3 farklı hasta grubundan bahsedilebilir. Birinci grup akrabalık bulunan, tipik, tanımlanmış immün yetersizlik bulguları gösteren ve büyük ihtimalle homozigot PiY gen varyantları bulunan hastalık grubudur. Bu grup hastaların tanısı için bilinen tüm PiY genlerini içeren paneller ya da ekzom dizileme ilk tercihler olmalıdır. İkinci grup hastalar akrabalık bulunmayan, ayırıcı ya da nadir bir immün yetersizlik fenotipi bulunan hastalardır. Bu hastalar birlikte değerlendirilerek benzer fenotipik özellikleri olan hastalarda ortak genler araştırılmalıdır. Üçüncü grup ise akrabalık ve aile hikâyesi bulunmayan, tipik fenotipik özellikleri bulunmayan hastalardır. Bu hastalar potansiyel olarak “*de novo*” geçişli heterozigot hastalık yapısı varyantlara sahip olabilmektedir ve genetik tanı koyulması en zor hasta grubudur (17). Bu grupta regülatör DNA bölgelerinde bulunan varyantlar da göz önünde bulundurulmalıdır ve genom dizileme ilk seçenek olarak düşünülebilir.

Yukarıda da belirtildiği gibi PiY gibi çok farklı immüno- lojik mekanizmalarla ve klinik özelliklerle ortaya çıkan hastalıklarda hangi dizilemenin kullanılacağı karmaşık ve



Şekil 3. Yeni nesil dizileme ile elde edilen varyantların biyoinformatik filtreleme stratejisi

önemli bir süreçtir. Genom dizileme bir hastada var olan tüm varyantların saptanabileceği bir uygulama olduğundan son yıllarda araştırmacılar bu dizileme yönteminin tüm PİY'ler için kullanılabileceğini önermektedir. Fakat hem maliyet hem de çok büyük bir verinin biyoinformatik olarak değerlendirilmesi gerekliliği bu yöntemin önemli zorluklarıdır. Günümüzde yaklaşık 500 PİY geni tanımlanmıştır fakat yapılan in silico analizler 3000'den fazla genin PİY'lere neden olabileceğini göstermektedir (18). Bu rakam baz alındığında potansiyel PİY genlerinin henüz yalnızca %15-20'sinin tanımlandığı düşünülebilir. Bu nedenle hastalarda sadece bilinen genlere bakarak tanı koymak yerine yeni bir immün yetersizlik tanısının konulabileceği daima göz önünde bulundurulmalıdır. Tabii bu durumda sadece dizileme yöntemleri ile genetik tanının konulması beklenmemektedir. Özellikle son yıllarda tanımlanan genlerin sadece immün sistem hücre ve dokularında değil, diğer sistemlerde de bozukluğa yol açabildiği gösterilmiştir. Bu da yeni tanımlanacak PİY gen araştırmalarında dizileme ile birlikte birçok fonksiyonel testin ve biyoinformatik analizinin birlikte yapılmasını gerektirmektedir. Diğer bir deyişle omik yöntemlerin bir arada kullanılması, yani multi-omik araştırmaların zorunluluğu ortaya çıkmıştır.

4. ÜÇÜNCÜ NESİL DİZİLEME YÖNTEMLERİ

Üçüncü nesil dizileme yöntemlerinin teknolojisi 2. nesil yöntemlerden farklıdır. Burada iki farklı teknik ön plana çıkmaktadır. Birincisi gerçek zamanlı tek molekül dizilemesi (SMRT, single molecule real time sequencing), ikincisi ise Nanopor dizileme yöntemidir. Bu dizileme yöntemleri tek molekül dizilemesi olarak da adlandırılmaktadır (single molecular sequencing). Daha uzun okumalı dizilemelerin yapılabildiği bu yöntemler son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır fakat PİY hastalıkları alanında kullanımı yaygın değildir. Bu teknikler uzun okumalı dizilemelere olanak sağlasa da ikinci nesil dizilemeler kadar etkin kullanım ve büyük hacimli çıktılar sağlamamaktadır (11).

Sonuç olarak dizileme yöntemleri günümüzde diğer yeni nesil teknikler ve omik yöntemlerle birlikte PİY araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Elde edilen verilerden anlaşılacağı gibi PİY tanıları ve yeni genlerin keşfi NGS yöntemleri sayesinde oldukça hız kazanmıştır.

KAYNAKLAR

- Holley RW, Apgar J, Everett GA, Madison JT, Marquisee M, Merrill SH, et al. Structure of a ribonucleic acid. *Science* 1965;147(3664):1462-5.
- Maxam AM, Gilbert W. A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74(2):560-4.
- Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol* 1975;94(3):441-8.
- Collins FS, Lander ES, Rogers J, Waterston RH, Conso IHGS. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004;431(7011):931-45.
- Noguchi M, Yi HF, Rosenblatt HM, Filipovich AH, Adelstein S, Modi WS, et al. Interleukin-2 receptor gamma chain mutation results in X-Linked severe combined immunodeficiency in humans. *Cell* 1993;73(1):147-57.
- Tsukada S, Saffran DC, Rawlings DJ, Parolini O, Allen RC, Klisak I, et al. Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia. *Cell* 1993;72:279-90.
- Vetrie D, Vorechovsky I, Sideras P, Holland J, Davies A, Flinter F, et al. The Gene involved in X-linked agammaglobulinemia is a member of the Src family of protein-tyrosine kinases. *Nature* 1993;361(6409):266-33.
- Picard C, Fischer A. Contribution of high-throughput DNA sequencing to the study of primary immunodeficiencies. *Eur J Immunol* 2014;44(10):2854-61.
- Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022;42(7):1473-507.
- Ng SB, Turner EH, Robertson PD, Flygare SD, Bigham AW, Lee C, et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature* 2009;461(7261):272-U153.
- Pervez MT, Hasnain MJU, Abbas SH, Moustafa MF, Aslam N, Shah SSM. A comprehensive review of performance of next-generation sequencing platforms. *Biomed Res Int* 2022;2022:3457806.
- Satam H, Joshi K, Mangrolia U, Waghoo S, Zaidi G, Rawool S, et al. Next-generation sequencing technology: Current trends and advancements. *Biology (Basel)* 2023;12(7):997.
- Seleman M, Hoyos-Bachiloglu R, Geha RS, Chou J. Uses of next-generation sequencing technologies for the diagnosis of primary immunodeficiencies. *Front Immunol* 2017 Jul 24;8:847.
- Vorstevelde EE, Hoischen A, van der Made CI. Next-generation sequencing in the field of primary immunodeficiencies: Current yield, challenges, and future perspectives. *Clin Rev Allergy Immunol* 2021;61(2):212-25.
- Thaventhiran JED, Allen HL, Burren OS, Rae W, Greene D, Staples E, et al. Whole-genome sequencing of a sporadic primary immunodeficiency cohort. *Nature* 2020;584(7819):E2-E.
- Belkadi A, Bolze A, Itan Y, Cobat A, Vincent QB, Antipenko A, et al. Whole-genome sequencing is more powerful than whole-exome sequencing for detecting exome variants. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(17):5473-8.
- Conley ME, Casanova JL. Discovery of single-gene inborn errors of immunity by next generation sequencing. *Curr Opin Immunol* 2014;30:17-23.
- Itan Y, Casanova JL. Novel primary immunodeficiency candidate genes predicted by the human gene connectome. *Front Immunol* 2015;1(6):142.

Gelecekte Kullanılabilecek Testler: Proteomikler

Prof. Dr. İ. Çağatay KARAASLAN

Primer immün yetersizlikler (PİY), bağışıklık sistemini etkileyen ve işlevsel çalışmasına engel olan genetik bozukluklar olup toplumdaki frekanslarının düşük olması nedeniyle nadir hastalıklar olarak sınıflandırılırlar. PİY'li bireyler bağışıklık sistemlerinin zayıf olması ve düzgün çalışmaması nedeniyle bakteri, virüs, mantar ve protozoaların yol açtığı enfeksiyonlara karşı savunmasız kalırlar. Bu enfeksiyonlar zamanında ve yeterince yönetilmezlerse sonuçları ölümcül olabilir. PİY'li bireyler ayrıca kanser, allerji ve otoimmün hastalıklara karşı yatkınlık gösterirler (1).

PİY tanısı, hastalığın ciddiyetine bağlı olarak bebeklik, çocukluk veya yetişkinlik gibi herhangi bir yaşta konulabilmektedir. PİY'lerin geniş klinik yelpazesi, bazı formların yıllarca teşhis edilememesi ile sonuçlanabilir. Semptomlar, hastalığın türüne göre değişmesine karşın potansiyel bağışıklık yetersizliğini işaret eden ortak belirtiler vardır. Bu belirtiler; enfeksiyona karşı artan duyarlılık, persistan hastalık durumu, deri, kalp ve iskelet problemleri şeklinde olabilir (1, 2).

1. PROTEOMİK ÇALIŞMALAR

Proteinler hücrede fizyolojik metabolik yolların ana bileşenleri olup hücresel fonksiyonların yürütülmesinde hayati öneme sahiptirler (3). Bir organizma, bir doku ve hücre tarafından ifade edilen proteinlerin tümü o organizma, doku ya da hücrenin *proteomu* olarak adlandırılırken; *proteomik* ise organizmanın ya da belirli doku, hücre ya da biyolojik sıvıdaki proteinlerini çalışan disiplin olarak adlandırılmaktadır (4). Proteomik çalışmalar, proteinlerin tanımlanması ve ölçülmesinin yanı sıra kompozisyonları, yapıları, işlevleri, diğer protein ve moleküllerle etkileşimleri, ifade profilleri ve modifikasyonlarının belirlenmesini

sağlamaktadır (5). Proteomik çalışmalar sağlık ve tıp alanında, özellikle hastalıkların patogenezi ve prognozunu anlamada, hastalıkları teşhis etmede ve biyolojik ilaçların keşfine zemin hazırlamada yaygın olarak kullanılmaktadır (6, 7). Proteomik çalışmaların kullanım alanları içerisinde terapötik ya da ilaç araştırmaları için hedef proteinleri tanımlama ve hastalıkların etiyojilerini ortaya koymak amacıyla biyo-belirteç tayini önemli bir yer tutmaktadır (8).

1.1. Proteomik Çalışmalarında Kullanılan Teknikler

Proteomik çalışmalarında kullanılan yöntemleri düşük ve yüksek işlem hacimli yöntemler olarak iki ana başlık altında toplamak mümkündür (Şekil 1).

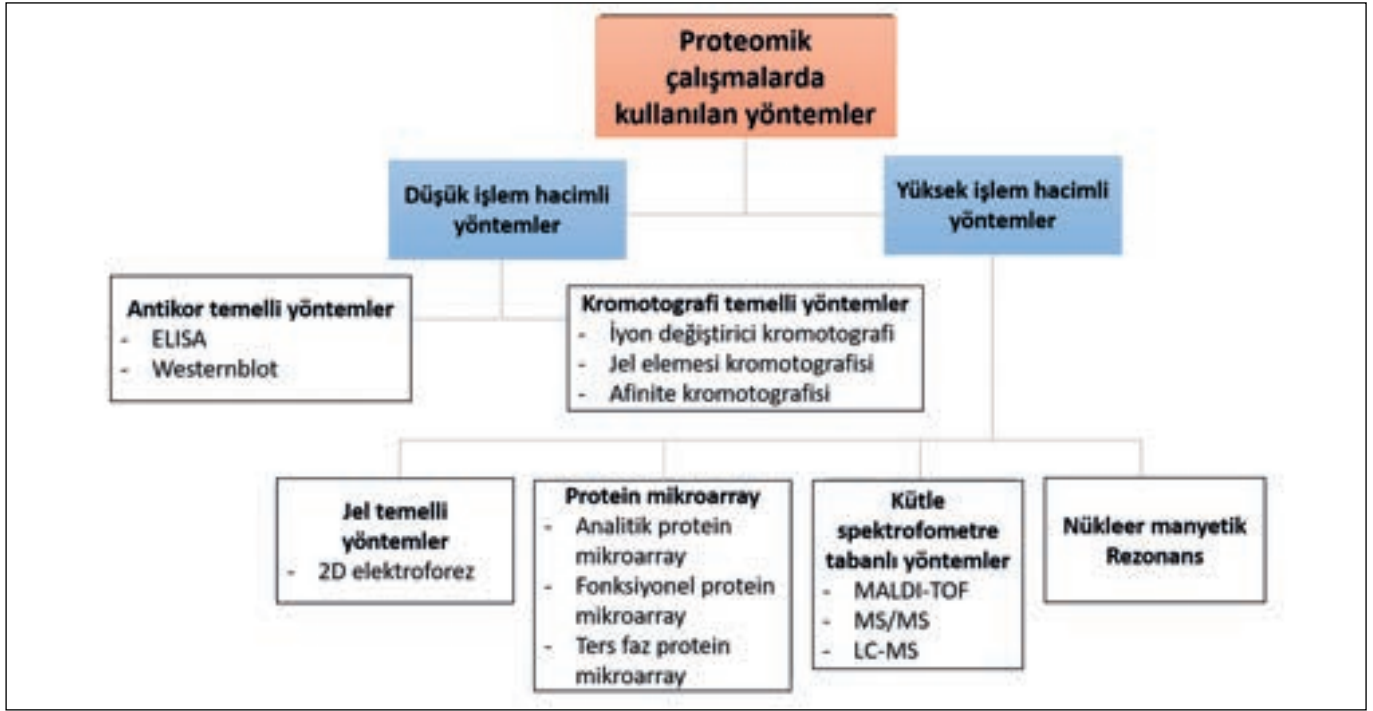
1.1.1. Düşük İşlem Hacimli Yöntemler

• Antikor temelli yöntemler

Düşük işlem hacmine sahip antikor temelli yöntemler içerisinde iki geleneksel yöntem ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) ve westernblot yer almaktadır. Bu iki yöntem proteinleri tanımlamak ve ifade düzeylerini ölçmek için hedef protein ya da bu proteinin epitoplarına bağlanabilen antikorları kullanır.

• ELISA

Oldukça hassas immünolojik bir testtir ve yaygın olarak protein çalışmalarında kullanılır. Yöntemin temelinde katı yüzey üzerine bağlanmış antijen ya da antikorlar ile bunları görüntülenmesinde kullanılan enzim-konjuge antikorlardan oluşur. Biyolojik örnekteki antikor ve antijen konsantrasyonu ile orantılı olarak enzim aktivitesi sonucunda ortaya çıkan değişiklik ölçülür.



Şekil 1. Proteomik çalışmalarında kullanılan yöntemler

ELISA: Enzim işaretli immünosorbent asay, **MALDI-TOF:** Matris yardımcı lazer desopsiyon/iyonlaştırılmalı-uçuş zamanlı kütle spektrometrisi, **MS/MS:** Tandem kütle spektrometrisi, **LC-MS:** Sıvı kromatografisi- kütle spektrometrisi

• Westernblot

Proteinlerin poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) kullanılarak ayrılması, nitroselüloz membrana transferi, birincil ve ikincil antikorlar (enzim-konjuge antikorlar) tarafından tespit edilmesini içeren antikor temelli güçlü bir tekniktir (9).

• Kromatografi Temelli Yöntemler

Kromatografik yöntemler, proteinleri hücre lizatları gibi karmaşık biyolojik karışımlardan ayırmak ve saflaştırmak için kullanılır.

- İyon Değıştirici Kromatografi

Bu yöntemde proteinler yüzeyindeki yüklü gruplar temelinde saflaştırılır. Proteinler, sahip oldukları anyonik ve katyonik amino asit dizileri açısından birbirlerinden farklılık gösterirler. Fizyolojik pH'ta bir proteinin içerdiği net yük, içerdiği anyonik ve katyonik amino asitler arasındaki denge ile değerlendirilir. Bu kromatografi yönteminde proteinler öncelikle yük yapısına (anyonik ve katyonik) ve daha sonra karşılaştırmalı yük kuvvetine göre ayrılır (10).

- Jel Eleme Kromatografisi

Yaygın olarak jel filtrasyonu olarak da bilinen jel elemesi kromatografisi, proteinleri geçirgenlik temelinde farklı gözenek boyutuna sahip gözenekli bir taşıyıcı matris kullanılarak boyutlarına göre ayıran bir tür sıvı kromatografisidir. Bunun için protein çözeltisi agaroz ya da sefadex gibi gözenekli malzeme ile doldurulmuş kolan içerisine aktarılır ve ardından bir tamponla elüye edilir. Büyük boyutlu proteinler gözenekli dolgu materyalinin gözeneklerine takılıp kalmadan hızlıca elüye edilerek koldan küçük moleküllere göre daha önce çıkar (11).

- Afinite Kromatografisi

Afinite kromatografisi, peptidleri ve proteinleri ligand bağlanma afinitelerine göre ayırarak protein degradasyonu, translasyon sonrası modifikasyonları ve protein-protein etkileşimini tanımlamaya olanak sağlayan bir kromatografik yöntemdir. Afinite kolonlarında kullanılan matris proteinleri ya da protein gruplarını özgün olarak tanıyan ligandları içerir (12).

1.1.2. Yüksek İşlem Hacimli Yöntemler

• Jel Temelli Yöntemler

Tek boyutlu (1D) PAGE sistemleri denatüre edici olan ve olmayan jel elektroforezi olarak iki temel kısımda incelenebilir. Denatüre poliakrilamid içerisinde sodyum dodesil sülfat (SDS) varlığı proteinlerin denatürasyonunu sağlayarak proteinlerin alt birimlerine ayrılıp incelenebilmesine olanak tanır. Jel üzerinde kütle büyüklüklerine göre ayrılan proteinler/protein alt birimleri daha sonra amino asit dizilerinin ve translayon sonrası protein modifikasyonlarının belirlenmesi gibi daha ileri karakterizasyon için jelden izole edilerek kütle spektrofotometrisi (MS) gibi ileri tekniklerle analiz edilebilir. 1D jel elektroforez yöntemi sınırlı ayırma gücü nedeniyle, özellikle hücre lizatları gibi çok sayıda proteinin yer aldığı örnekler için yetersiz ayırma gücüne sahiptir. Kompleks ve karmaşık yapının analizi için iki boyutlu (2D) jel elektroforez yöntemi tercih edilebilir (13).

2D-PAGE yöntemi, proteinleri yük ve kütleyle göre ayıran yüksek çözünürlüklü bir tekniktir. Proteinler ilk olarak yüklerine göre ayrılırken, ikinci olarak ise kütle büyüklükleri arasındaki farka göre ayrılır. Jel üzerinde yürüme sonucunda, her biri tek bir proteine karşılık gelen küçük noktalarla sahip iki boyutlu bir jel haritası elde edilir. 2D jel elektroforezi iki örnek arasında farklı özgün protein/proteinleri karşılaştırmak için kullanılmakla birlikte translayon sonrası modifikasyonların, mutant proteinlerin karakterizasyonunun ve metabolik yolların değerlendirilmesinde de başarıyla kullanılır.

Kompleks örneklerin içindeki protein içeriğini araştırmada 2D jel elektroforezi etkin olmakla birlikte; sonuçların tekrarlanabilirliği, düşük miktarda ve hidrofobik karakterdeki proteinlerin tespiti, çok düşük ya da çok yüksek pH değerlerine sahip proteinlerin tanımlanmasında 2D jel elektroforezin hassasiyeti sınırlıdır (9, 13).

• Protein Mikroarray

İmmünanalitik mikroarray teknolojisi kavramı 1980'lerin sonlarında ortaya çıkmıştır. Bu dönemde yaygın olarak kullanılan radyoizotopik etiketleme yöntemi yerini floresans immünolojik analizlere bırakmıştır (14).

Protein mikroarrayler aynı anda binlerce proteini ayrı ayrı tanımlanması, incelenmesi ve karakterizasyonuna olanak sağlayan yüksek verimlilikte çalışan önemli araçlardır.

Günümüzde protein array çalışmaları, proteom çapında moleküler etkileşimlerin incelenmesi, translayon sonrası modifikasyonların analizi, yeni ilaç hedeflerinin tanımlanması ve patojen-konakçı etkileşimlerinin incelenmesi gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak bu teknolojinin kanser ve otoimmün hastalıklar gibi birçok kronik hastalık için yeni biyobelirteç belirlenmesi amacıyla da kullanıldığı bilinmektedir (15).

Protein mikroarraylerini üç ana sınıfa ayırmak mümkündür.

- Analitik Protein Mikroarray (Antikor Mikroarray)

Bu teknikte, bir antikor veya aptamer kütüphanesi bir cam slayt üzerine immobilize edilir ve hedeflenen protein ya doğrudan etiketleme yoluyla ya da sandviç analiz formatında bir raportör antikorla tespit edilir. Biyolojik örneklerdeki proteinlerin bağlanma afiniteleri, sentez düzeyleri ve protein profillerinin belirlenmesinde kullanılır (9, 16).

- Fonksiyonel Protein Mikroarray (Rekombinant Protein Array)

Fonksiyonel tüm bir protein ya da protein domainleri kullanılarak oluşturulan mikroarray tipidir. Bu mikroarray sınıfı proteinlerle DNA, peptidler, lipitler, ilaçlar diğer proteinler, küçük moleküller gibi farklı moleküllerin etkileşimlerinin araştırılmasına olanak tanıdığı gibi enzim substrat ilişkilerini araştırmada da kullanılır (9, 16).

- Ters Faz Protein Mikroarray (TFA)

Birçok farklı lizat örneği (farklı doku ve hücre lizatları) nitroselüloz slayt üzerine yerleştirilebilir. Bu lizat örneklerinde hedef proteinleri tanımlamak için birçok farklı prob test edilebilir. Ölçüm için kullanılan antikorlar uygun floresan, kemilüminesans ve kolorimetrik yöntemlerden biri ile tespit edilir. Protein miktarının belirlenmesi için referans peptidleri kullanılır. Bu mikroarrayler, belirli bir hastalıkla ilişkilendirilmiş olan işlevsiz ya da işlevi değişmiş protein/proteinleri belirlemek için kullanılır (9, 16).

• Kütle Spektrometresi Tabanlı Yöntemler

Kütle spektrometrisi (Mass spectrometry-MS), proteinlerin, peptidlerin, karbonhidratların, oligonükleotitlerin ve metabolitlerin moleküler ağırlıklarını ve kimyasal yapılarını belirleyebilen, yüksek verimlilikte çalışan bir analitik tayin yöntemidir. MS yöntemi molekülleri kütle-yük oranına (m/z) göre ayırma temeline dayanmaktadır. Analiz işlemi

üç ana basamakta gerçekleştirilmektedir. İlk basamak sıvı veya katı fazdaki biyomoleküllerin gaz fazındaki iyonlara dönüştürülmesidir. İkinci basamakta ise manyetik veya elektrik alanların etkisinde bir kütle analizörü içerisinde m/z (kütle/yük) değerlerine göre bu iyonların ayrımı gerçekleştirilmektedir. Üçüncü ve son basamakta ise ayrılmış iyonların sinyallerinin ölçülmesi ve her bir iyonun m/z değerlerinin belirlenmesidir.

Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonunu (MALDI) ve elektrosprey iyonizasyonunu (ESI) yaygın olarak kullanılan iyonizasyon yöntemleridir (17, 18).

- Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/iyonlaştırılmalı-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF)

MALDI-TOF kütle spektrofotometresinde, MALDI cihazı iyonlaştırma kaynağı olarak görev yaparken TOF (time-of-flight) ise kütle analizörü olarak işlev görür. MALDI teknolojisi, proteomik, lipidomik, metabolomik ve glikomik gibi farklı omik alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Hücre ve doku homejenatları gibi karışık ve karmaşık protein karışımlarını analiz edebilen bir teknik olan MALDI-TOF kütle spektrometresi, özellikle protein molekül ağırlığının belirlenmesinde, protein dizilerinin tanımlanmasında, protein yapılarının tanınmasında ve protein içeriğinin ölçülmesinde faydalıdır (19-21).

- Tandem Kütle Spektrometresi (MS/MS)

Tandem kütle spektrometresi yaygın olarak MS/MS olarak adlandırılır ve bu spektrometrik yöntem iki adımda örneklerin analizini gerçekleştirir. Bu, arka arkaya yerleştirilmiş birden fazla kütle analizörüne sahip tek bir kütle spektrometresini içerir. MS/MS'in ilk adımında, önceden belirlenmiş bir dizi iyon, iyon kaynağında elde edilen diğer iyonlardan ayrılır ve inert bir gaz atomları ya da molekülleri yardımıyla parçalanır. Daha sonra ikinci aşamada bu parçalar diğer bir kütle analizörü ile tekrar ayrıştırılır ve kütle/yük oranları tayin edilir (13).

- Sıvı Kromatografi - Kütle Spektrometresi (LC-MS)

LC-MS, sıvı kromatografinin ayırma yeteneklerini kütle spektrometresinin eşsiz nitel ve nicel analiz yetenekleriyle birleştiren analitik bir tekniktir (22). Bu teknik, farklı biyomoleküllerin yüksek verimlilikte nitel ve nicel analizlerine olanak sağlayarak sistem biyolojisi araştırmalarında ve biyo-belirteç çalışmalarında önemli ilerlemelere olanak sağlamıştır (23). İlk olarak incelenecek örnek içerisindeki moleküller öncelikle kolon içerisindeki hareketli ve sabit

fazlarla etkileşime girerek ayrıştırılmaktadır. Bu etkileşimler, yük ve boyut gibi analitin özellikleri ile ilişkilidir. LC aşamasını takiben örnekler MS ile moleküllerin ağırlığı ve iyonik yükleri temelinde analiz edilmektedir. İkinci aşama sonrasında örnek içerisinde hangi analitin/analitlerin bulunduğu ve her bir analitin miktarı belirlenebilmektedir (24).

LC-MS, biyofarmasötik ilaç geliştirme, ilaç metabolizması, toksikoloji çalışmaları, biyolojik sıvılarda ilaç kantifikasyonu, farmakokinetik çalışmalar, biyoyararlanım çalışmaları, doping kontrolü, biyojenik aminlerin kantifikasyonu ve terapötik ilaç izleme gibi çeşitli uygulama alanlarında proteinlerin kantitatif analizi için biyoanalitik bir yöntem olarak sıklıkla hizmet vermektedir (13).

• Nükleer Manyetik Rezonans (NMR)

NMR spektrometresinin temelini atomların çekirdeklerinin manyetik özellikleri oluşturur. Çekirdeklerinde anormal (unusual) proton ya da nötron içeren atomların dönüşü miknatıs gibi davranmalarına yol açar. Sonuç olarak, hidrojenler (H^1) veya çekirdeğinde alışılmadık protonlar veya nötronlar (H^2 , C^{13} , N^{15} , P^{31} ve F^{19}) bulunan bazı sabit izotoplar miknatıs gibi davranır. Bu tür parçacıklar, dışarıdan uygulanan bir manyetik alanda belirli frekanslardaki radyo sinyallerine maruz kaldıklarında, dönüşleriyle aynı hızda radyo sinyallerini toplar; bu tekniğe "rezonans" denir. Atomun durumundaki bu değişiklik, atomun kimyasal özelliklerini tanımlamak için kullanılan "kimyasal kayma" olarak bilinmektedir. Radyo sinyallerinin alınmasının ardından atomlar enerjilenir, ancak daha sonra alınan miktara eşdeğer radyasyon üretirler. Salınan radyasyonun miktarı ve bunun salınması için gereken süre hem izlenebilir hem de atomun yapısı hakkında bilgi edinmek için kullanılabilir (25). NMR, proteinlerin moleküler yapısı, katlanması ve davranışının araştırılmasında yaygın kullanılan bir araçtır. Protein yapısı, yapıya dayalı ilaç tasarımı, homoloji modelleme ve fonksiyonel genomik gibi çeşitli araştırma alanlarında kullanılan temel tekniklerden biridir (26).

2. PROTEOMİK TEKNİKLER: PRİMER İMMÜN YETERSİZLİK KLİNİK UYGULAMALARI

PIY hastalıklarının moleküler ve hücrel mekanizmalarının aydınlatılması ya da hastalıklarla ilişkili protein belirteçlerinin belirlenmesine yönelik proteomik çalışmaları son yıllarda hız kazanmıştır. CVID hastalarında plazma protein profili ile hastalığın klinik özellikleri ve lenfosit spot

anormallikleri arasındaki ilişki araştırılan bir çalışmada 29 CVID'li hastada 145 plazma proteini Olink (Proximity Extension Assay teknolojisi) yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda CVID'li hastalarda sağlıklılara göre plazma protein profili anlamlı olarak farklı bulunmuştur. IFN- γ ve IFN- γ ile düzenlenen 24 proteinin düzeyleri CVID ile ilişkili immün düzensizlik ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (27). Proteomiks yöntemlerin kullanıldığı farklı bir çalışmada iki bağımsız kohortta CVID'de immün düzensizliğin altında yatan sitokin ve kemokin sinyal yollarının yanı sıra hastaların sınıflandırılmasında serum proteom profilleri araştırılmıştır. Her iki kohortta IL-10, IL-12RB1 ve CD83 protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde CVID'de arttığı gösterilmiştir (28).

PİY hastalıklarının erken dönem teşhisi son derece önemlidir. Doğru teşhis ve tedavi sonrası hastalar nispeten normal yaşamlarını sürdürebilmektedirler. Bu nedenle erken teşhis; potansiyel olarak yaşamı tehdit eden enfeksiyonların ve kronik sekellerin kontrol edilmesi ve önlenmesinde son derece önemlidir. Erken teşhis için klinik tanı koymadaki zorlukların yanı sıra basit ve ekonomik popülasyon tarama yöntemlerinin sınırlılığı en önemli kısıtlayıcı faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde immüno-SRM ile birleştirilmiş peptid immünoafinite zenginleştirme yöntemiyle LC-MS/MS analizi kullanılarak klinik ve geniş popülasyon taramalarının gerçekleştirilmesi mümkündür. Bu yaklaşımın temelinde hastalıkla ilişkili proteini tanımlayacak peptit/peptidler, bu peptide özgün antikor/antikorlar ve isotop işaretli internal standart peptid kullanımı yer almaktadır. Bu yöntem kanda düşük pikomolar konsantrasyonlarda bulunan proteinlerin yüksek tekrarlanabilirlikle miktarının belirlenmesine olanak tanımaktadır (29, 30). Günümüzde immüno-SRM analizi filtre kağıdına emdirilmiş kuru kan örneklerinde BTK, WASP, WAS, XLA, AKİY gibi PİY hastalıklarının tanısında başarılı bir şekilde kullanılabileceği literatürde gösterilmiştir (31).

KAYNAKLAR

- Meyts I, Bousfiha A, Duff C, Singh S, Lau YL, et al. Primary immunodeficiencies: A decade of progress and a promising future. *Front Immunol* 2020;11:625753.
- Yu JE. New primary immunodeficiencies 2023 update. *Curr Opin Pediatr* 2024;36(1):112-23.
- Anderson NL, Anderson NG. Proteome and proteomics: New technologies, new concepts, and new words. *Electrophoresis* 1998;19(11):1853-61.
- Chandramouli K, Qian PY. Proteomics: Challenges, techniques and possibilities to overcome biological sample complexity. *Hum Genomics Proteomics* 2009;2009:239204.
- Xiong J. *Essential bioinformatics*. New York: Cambridge University Press; 2006. xi;339.
- Roehrl MH, Roehrl VB, Wang JY. Proteome-based pathology: the next frontier in precision medicine. *Expert Rev Precis Med Drug Dev* 2021;6(1):1-4.
- Zubair M, Wang J, Yu Y, Faisal M, Qi M, et al. Proteomics approaches: A review regarding an importance of proteome analyses in understanding the pathogens and diseases. *Front Vet Sci* 2022;9:1079359.
- Cash P. Proteomics in medical microbiology. *Electrophoresis* 2000;21(6):1187-201.
- Aslam B, Basit M, Nisar MA, Khurshid M, Rasool MH. Proteomics: Technologies and their applications. *J Chromatogr Sci* 2017;55(2):182-96.
- Jungbauer A, Hahn R. Ion-exchange chromatography. *Methods Enzymol* 2009;463:349-71.
- Sorci M, Gu M, Heldt CL, Grafeld E, Belfort G. A multi-dimensional approach for fractionating proteins using charged membranes. *Biotechnol Bioeng* 2013;110(6):1704-13.
- Lee WC, Lee KH. Applications of affinity chromatography in proteomics. *Anal Biochem* 2004;324(1):1-10.
- Gobena S, Admassu B, Kinde MZ, Gessese AT. Proteomics and its current application in biomedical area: Concise review. *Scientific World Journal* 2024;2024:4454744.
- Sauer U. Analytical Protein Microarrays: Advancements Towards Clinical Applications. *Sensors (Basel)* 2017;17(2):256.
- Syu GD, Dunn J, Zhu H. Developments and applications of functional protein microarrays. *Mol Cell Proteomics* 2020;19(6):916-27.
- Wu CJ. Protein microarray for disease analysis: methods and protocols. New York, NY: Humana Press; 2011. xiii;373.
- Yates JR. A century of mass spectrometry: from atoms to proteomes. *Nature Methods* 2011;8(8):633-7.
- Ong SE, Mann M. Mass spectrometry-based proteomics turns quantitative. *Nat Chem Biol* 2005;1(5):252-62.
- Schiller J, Suss R, Fuchs B, Muller M, Zschornig O, Arnold K. MALDI-TOF MS in lipidomics. *Front Biosci* 2007;12:2568-79.
- Wang H, Zhao Z, Guo Y. Chemical and biochemical applications of MALDI TOF-MS based on analyzing the small organic compounds. *Top Curr Chem* 2013;331:165-92.
- Drake RR, West CA, Mehta AS, Angel PM. MALDI Mass spectrometry imaging of N-linked glycans in tissues. *Adv Exp Med Biol* 2018;1104:59-76.
- Henry M, Meleady P. Clinical Proteomics: Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) Purification Systems. *Methods Mol Biol* 2017;1485:375-88.
- Tsai TH, Wang M, Ransom HW. Preprocessing and analysis of LC-MS-based proteomic data. *Methods Mol Biol* 2016;1362:63-76.

24. Rappold BA. Review of the Use of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in clinical laboratories: Part II-operations. *Ann Lab Med* 2022;42(5):531-57.
25. Spacil Z, Novakova L, Solich P. Analysis of phenolic compounds by high performance liquid chromatography and ultra performance liquid chromatography. *Talanta* 2008;76(1):189-99.
26. Wiese S, Reidegeld KA, Meyer HE, Warscheid B. Protein labeling by iTRAQ: A new tool for quantitative mass spectrometry in proteome research. *Proteomics* 2007;7(3):340-50.
27. Hultberg J, Ernerudh J, Larsson M, Nilsson-Augustinsson A, Nystrom S. Plasma protein profiling reflects T(H)1-driven immune dysregulation in common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2020;146(2):417-28.
28. Berbers RM, Drylewicz J, Ellerbroek PM, van Montfrans JM, Dalm V, et al. Targeted proteomics reveals inflammatory pathways that classify immune dysregulation in common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2021;41(2):362-73.
29. Chambers AG, Percy AJ, Yang J, Camenzind AG, Borchers CH. Multiplexed quantitation of endogenous proteins in dried blood spots by multiple reaction monitoring-mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics* 2013;12(3):781-91.
30. Kerfoot SA, Jung S, Golob K, Torgerson TR, Hahn SH. Tryptic peptide screening for primary immunodeficiency disease by LC/MS-MS. *Proteomics Clin Appl* 2012;6(7-8):394-402.
31. Collins CJ, Yi F, Dayuha R, Whiteaker JR, Ochs HD, Freeman A, et al. Multiplexed proteomic analysis for diagnosis and screening of five primary immunodeficiency disorders from dried blood spots. *Front Immunol* 2020;11:464.



Türkiye Ulusal Allerji ve Klinik İmmünoloji Derneği

Mustafa Kemal Mahallesi, 2124 Sokak, Yaşam İş Merkezi No:16/3

Söğütözü, Çankaya, Ankara

Tel: (312) 219 66 31 Faks: (312) 219 66 57

E-posta: sekreter@aid.org.tr

www.aid.org.tr



ISBN 978-625-6726-06-2