

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI**

**OTOİMMÜN LENFOPROLİFERATİF SENDROM VEYA  
BENZERİ BULGULAR İLE BAŞVURAN HASTALARIN  
İN VİTRO APOPTOZ TESTİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Kübra BAYRAM ÖZDAĞ**

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA**  
**2023**



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI**

**OTOİMMÜN LENFOPROLİFERATİF SENDROM VEYA  
BENZERİ BULGULAR İLE BAŞVURAN HASTALARIN  
İN VİTRO APOPTOZ TESTİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Kübra BAYRAM ÖZDAĞ**

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Saliha ESENBOĞA**

**ANKARA  
2023**

## ONAY SAYFASI

**BEYAN**

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Doç. Dr. Saliha ESENBOĞA danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Dr. Kübra BAYRAM ÖZDAĞ

## TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimimin önemli bir adımı olan, tez hazırlama sürecini başarı ile tamamlamanın gururunu yaşıyorum. Bu süreçte her daim destek olan, engin bilgisini esirgemeyen, hastalarına ve öğrencilerine yaklaşımını örnek aldığım, öğrencisi olmaktan dolayı şanslı hissettiğim, bilim insanı saygıdeğer tez danışman hocam Doç.Dr. Saliha ESENBOĞA'ya teşekkürlerimi borç bilirim. Tez sürecinde destekleri olan sayın hocalarım Prof. Dr. Deniz ÇAĞDAŞ AYVAZ'a ve Doç. Dr. Sevil OSKAY HALAÇLI'ya, hastaların genetik analizini yapan Dr. Hacer Neslihan BİLDİK'e;

Tüm hayatım boyunca kararlarım saygı duyan ve desteklerini esirgemeyen canım anneme, babama, dedeme, anneanneme ve kardeşlerime;

Hacettepe Üniversitesi pediatri asistanlığının kazandırdığı dostluklardan, her daim yanımda olan çok sevdiğim Dr. Didem TEKECİ KINIK ve Dr. Ruken Gizem YAVUZ'a;

Her zaman desteğini hissettiğim, güven ve huzurla yanımda olan canım eşim Dr. Cem ÖZDAĞ'a ve

Tez çalışmamıza destek veren Bilimsel Araştırma Proje birimine teşekkür ederim.

Dr. Kübra BAYRAM ÖZDAĞ

## ÖZET

**BAYRAM ÖZDAĞ K. Otoimmün lenfoproliferatif sendrom veya benzeri bulgular ile başvuran hastaların in vitro apoptoz testi ile değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanlık Tezi. Ankara, 2023.** Primer immün yetmezlik hastalıkları (PİY) alt gruplardan biri olan immün disregülasyon ile seyreden immün yetmezlikler; otoimmünite, benign ve/veya malign lenfoproliferasyon, alerjik hastalıklar ve otoinflamasyonun ön planda olduğu bir seyir göstermektedir. Otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS veya Canale-Smith sendromu) Fas-FasL ilişkili apoptozun bozulması sonucu benign ve kronik lenfoproliferasyon (açıklanamayan lenfadenopati, splenomegali), immün aracılı sitopeni ve lenfoma riskinde artış ile karakterize bir immün disregülasyon hastalığıdır. Hastalığın patogeneğinde apoptozda eksiklik/bozukluk önemli bir mekanizmadır. Bu çalışmanın amacı, otoimmün lenfoproliferatif sendrom veya benzeri bulgular ile başvuran hastaları in vitro apoptoz testi ile değerlendirmek ve hastalığa neden olan fonksiyonel mekanizmaları belirlemektir. Çalışma popülasyonu, Şubat 2022-Ocak 2023 arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmunoloji Bilim Dalına başvuran, altı aydan uzun süreli enfeksiyon ve malignite ile açıklanamayan lenfadenopati ve/veya splenomegali, sitopeni, immüendisregülasyon ile ilişkili olduğu düşünülen birden fazla otoimmün hastalığı olan veya vitamin B12 yüksekliği nedeniyle başvuran hastalardan akım sitometride double negatif T hücre (DNT) oranı %2.5'in üzerinde olan çocukluk ve erişkin yaş grubunda toplam 20 hastadan oluşmaktadır. Hastaların yaş grubu 2.5-37 yıl arasında ve %70'i erkektir. Hastaların klinik bulguları değerlendirildiğinde %75'inde otoimmünite, %60'ında lenfoproliferasyon, %35'inde enfeksiyon ve %10'unda alerjik hastalık bulunuyordu. Hastalar ALPS tanı kriterleri açısından değerlendirildiğinde 11 hasta olası ALPS, 9 hasta ALPS benzeri hastalık olarak değerlendirildi. Hastalardan ve sağlıklı kontrol grubundan alınan periferik kan lenfosit hücrelerinde in vitro apoptoz testi değerlendirildi. Hastaların (n=20) ikisinde in vitro apoptoz testi kusurlu bulundu. Bu hastalardan birinde ALPS'ye neden olan *FAS* homozigot mutasyon ve diğerinde de ALPS benzeri hastalık kliniği gösteren *Caspase 8* homozigot mutasyonu saptandı. Genetik inceleme yapılan altı hastada *Caspase 8* eksikliği, otozomal dominant *FAS* homozigot mutasyon, *FASLG* heterozigot, *Caspase 10* eksikliği ve *CTLA-4* eksikliği saptandı. ALPS, ALPS benzeri hastalığa neden olan mutasyon saptanan altı hastanın dördünde in vitro apoptoz testi normal bulundu. İn vitro apoptoz testinin, genetik olarak kesin ALPS tanısı olan hastalarda normal sonuçlanması, bu testin kısıtlılıklarına dikkat çekmekte ve hastalığın kesin tanısı için yeni çalışmalara ve genetik analize ihtiyaç olduğunu ortaya koymaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Otoimmün lenfoproliferatif sendrom, ALPS, in vitro apoptoz.

**Destekleyen Kuruluşlar:** Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri ( Proje numarası 20043).

## ABSTRACT

**BAYRAM ÖZDAĞ, K.: Evaluation Of Patients Applying With Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome Or Similar Symptoms Through In Vitro Apoptosis Test. Hacettepe University, Faculty Of Medicine, Child Health And Diseases, Thesis in Pediatrics. Ankara, 2023.** Diseases of immune dysregulation is a subgroup of primary immunodeficiencies (PID) which may present with autoimmunity, benign and/or malignant lymphoproliferation, allergic diseases and autoinflammation. Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS or Canale-Smith Syndrome) is one of the diseases of immune dysregulation and characterized by chronic lymphoproliferation (lymphadenopathy, splenomegaly), immune cytopenias and increased risk of lymphoma. Defect in apoptosis is an important mechanism in the pathogenesis of the disease. The aim of this study is, to evaluate patients with findings of ALPS with in vitro apoptosis test. The study group consists of 20 patients who applied to Department of Pediatric Immunology between the time period of February 2022 and January 2023. Patients who had multiple autoimmune diseases, splenomegaly and/or lymphadenopathy lasting more than six months that cannot be explained by infection or malignancy, or patients with high vitamin B12 levels or a DNT ratio more than 2.5% were included in the study group. The median age of the patients is 11 years and 70% of them are male. The patients presented with autoimmunity (75%), lymphoproliferation (60%), infection (35%) and allergy (10%). When the patients were reviewed using ALPS diagnostic criteria, eleven were identified as having probable ALPS and nine as having ALPS-like disease. In vitro apoptosis test was evaluated in peripheral blood lymphocyte cells taken from patients and healthy control group. The test was found to be abnormal in two patients, one with homozygous *FAS* gene mutation, one with homozygous *Caspase 8* gene mutation. In vitro apoptosis test was normal in four of the six patients with mutations causing ALPS and ALPS-like disease. The normal results of the in vitro apoptosis test in patients with a genetic diagnosis of ALPS highlight the limits of this test and emphasize the need for additional research and genetic analysis for the disease's definitive diagnosis.

**Keywords:** autoimmune lymphoproliferative syndrome, ALPS, in vitro apoptosis  
**Supporting Institution:** Hacettepe University Scientific Research Projects (Project Number 20043)



**İÇİNDEKİLER**

ONAY SAYFASI	iii
BEYAN	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Primer İmmün Yetmezlik Tanımı, Bulguları ve Sınıflandırması	3
2.2. İmmün Disregülasyonla Giden Primer İmmün Yetmezlikler	4
2.3. Otoimmün Lenfoproliferatif Sendrom (ALPS)	10
2.3.1. İmmünopatolojik Mekanizmalar	11
2.3.2 Genetik	13
2.3.3. Klinik Bulgular	14
2.3.4. Laboratuvar Bulguları ve Tanı Kriterleri	15
2.3.5. Tedavi	18
2.3.6. Prognoz	23
2.4. ALPS Benzeri Hastalıklar	23
2.4.1. EBV İlişkili ALPS Benzeri Hastalıklar	24
2.4.2. Regülatör T Hücre (Treg) Bozuklukları	26
2.4.3. ALPS Benzeri Hastalıklarla İlişkili Diğer Genetik Bozukluklar	27
3. GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1. In Vitro Apoptoz Test Metodu:	31
3.2. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	34
4.1. Demografik Bilgiler	34
4.2. Klinik Bulgular	35

4.3. Laboratuvar Bulguları	37
4.4. Histopatolojik İncelemeler	46
4.5. Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulgularına Göre ALPS Tanı Kriterleri Açısından Değerlendirilmesi	47
4.6. İn Vitro Apoptoz Testi Sonuçları	511
4.7. Genetik Özellikler	544
4.8. Kullanılan Tedaviler	566
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	65
7. KAYNAKLAR	67

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>ABD</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>ADA2</b>	Adenosine Deaminase 2
<b>aHLH</b>	Ailevi hemofagositik lenfhistiositoz
<b>ALK</b>	Anaplastik lenfoma kinaz
<b>ALP</b>	Alkalin fosfataz
<b>ALPS</b>	Otoimmün lenfoproliferatif sendrom
<b>ALT</b>	Alanin transaminaz
<b>ANA</b>	Anti-nükleer antikor
<b>AST</b>	Aspartat transaminaz
<b>Bc</b>	B lenfosit hücre
<b>Bcl-2</b>	<i>B-cell lymphoma 2</i>
<b>C3</b>	Kompleman 3
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Kalsiyum
<b>CD</b>	<i>Cluster of differentiation</i> (Farklılaşma kümesi)
<b>CH50</b>	Komplement hemolitik aktivitenin %50'si
<b>CMV</b>	<i>Sitomegalovirüs</i>
<b>CRP</b>	C-reaktif protein
<b>CTLA4</b>	<i>Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4</i>
<b>dATP</b>	Deoksiadenozin trifosfat
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>DNT</b>	Double negatif T hücre
<b>EBER</b>	<i>Epstein-Barr virüsü</i> ile kodlanmış küçük RNA
<b>EBV</b>	<i>Epstein-Barr virüs</i>
<b>ESR</b>	Eritrosit sedimentasyon hızı
<b>FasL</b>	Fas ligand
<b>GBS</b>	Guillain-Barre Sendromu
<b>GCSF</b>	Granülosit-koloni uyarıcı faktör
<b>GGT</b>	Gama glutamil transferaz
<b>GLILD</b>	Granülomatöz lenfositik interstisyel akciğer hastalığı

<b>GOF</b>	Kazanılmış fonksiyon
<b>HIV</b>	İnsan immün yetmezlik virüsü
<b>HKHN</b>	Hematopoietik kök hücre nakli
<b>HM</b>	Hepatomegali
<b>HSM</b>	Hepatosplenomegali
<b>IEI</b>	İmmüitenin doğuştan kusurları ( <i>inborn errors of immunity</i> )
<b>IFNgama</b>	İnterferon-gama
<b>Ig</b>	İmmunoglobulin
<b>IL-10</b>	İnterlökin-10
<b>IL-18</b>	İnterlökin-18
<b>IMPDH</b>	İnozin monofosfat dehidrogenaz
<b>INSERM</b>	<i>Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale</i>
<b>ITP</b>	İmmün trombositopenik purpura
<b>IUIS</b>	Uluslararası Primer İmmün Yetmezlikler Uzman Komitesi ( <i>The International Union of Immunological Societies</i> )
<b>IVIG</b>	İntravenöz immunoglobulin
<b>İBH</b>	İnflamatuvar barsak hastalığı
<b>İHB</b>	İndirekt hiperbilirübinemi
<b>iNKT</b>	Stabil NKT hücresi ( <i>invariant NKT</i> )
<b>JİA</b>	Jüvenil idiyopatik artrit
<b>JRA</b>	Jüvenil romatoid artrit
<b>KCFT</b>	Karaciğer fonksiyon testi
<b>LAP</b>	Lenfadenopati
<b>LOF</b>	Fonksiyon kaybı
<b>LRBA</b>	<i>Lipopolysaccharide responsive beige-like anchor protein</i>
<b>MHC</b>	Major histokompatibilite kompleksi
<b>MIS-C</b>	Çocukluk çağı multisistem inflamatuvar sendrom
<b>MMF</b>	Mikofenolat mofetil
<b>MPZ</b>	Metilprednizolon
<b>MRSA</b>	<i>Metisiline dirençli Stafilokok aureus</i>

<b>mTOR</b>	<i>Mammalian Target of Rapamycin</i>
<b>NGS</b>	Yeni nesil dizileme ( <i>Next Generation Sequencing</i> )
<b>NIH</b>	Ulusal Sağlık Enstitüleri ( <i>National Institutes of Health</i> )
<b>NK</b>	Natural killer
<b>OD</b>	Otozomal dominant
<b>OİHA</b>	Otoimmün hemolitik anemi
<b>OR</b>	Otozomal resesif kalıtım
<b>PIK3R1</b>	<i>Phosphoinositide-3-Kinase Regulatory Subunit 1</i>
<b>PİDRH</b>	Primer immün disregülasyon hastalıkları
<b>PİY</b>	Primer immün yetmezlik
<b>PKMH</b>	Periferik kan mononükleer hücreler
<b>RTE</b>	<i>Recent thymic emigrant</i>
<b>sFASL</b>	Solubl FASL
<b>SLE</b>	Sistemik lupus eritematozus
<b>SM</b>	Splenomegali
<b>STAT1</b>	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription 1</i>
<b>STK4</b>	<i>Serine/Threonine Kinase 4</i>
<b>Tc</b>	T lenfosit hücre
<b>TCR</b>	T-hücresi antijen reseptörü
<b>Th17</b>	T helper 17
<b>TMP-SMX</b>	Trimethoprim-sulfametaksazol
<b>TNF</b>	Tümör nekroz faktör
<b>TNFAIP3</b>	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Protein 3</i>
<b>TRAIL R1-R2</b>	Tümör nekroz faktör ile ilişkili ligand
<b>Treg</b>	T regülatuar hücre
<b>VZV</b>	<i>Varisella zoster virüs</i>
<b>XL</b>	X geçişli kalıtım

**ŞEKİLLER**

<b>Şekil</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b>	ALPS’de otoimmün sitopeni tedavi algoritması	20
<b>3.1.</b>	Hücre apoptozunun evreleri ve Annexin-V ve 7-AAD ile gösterilmesi	32
<b>3.2.</b>	FASL ve TNF ile uyarımı ile apoptozun erken ve geç evreleri	33
<b>4.1.</b>	Hastalarda mevcut otoimmün hastalıkların dağılımı	36
<b>4.2.</b>	Hastalarda mevcut lenfoproliferatif bulguların dağılımı	36
<b>4.3.</b>	Çalışmaya dahil edilen hastalarda değerlendirilen ALPS kriterlerinin dağılımı	50
<b>4.4.</b>	İn vitro apoptoz sonuçları ALPS’yi destekler bulunan hastalar	52

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
2.1.	IUIS Sınıflandırması	4
2.2.	İmmün disregülasyonla seyreden immün yetmezliklere yol açan genetik bozukluklar, genel klinik ve immünolojik özellikleri	5
2.3.	Ulusal Sağlık Enstitüleri ( <i>National Institutes of Health</i> (NIH)) revize edilmiş 2010 yılı ALPS tanı kriterleri	18
2.4.	ALPS ve ALPS benzeri hastalıkların özellikleri.	29
4.1.	Hastaların demografik ve klinik özellikleri	34
4.2.	Hastaların tam kan sayımı ve immunoglobulin incelemesi	38
4.3.	Olası ALPS ve ALPS-benzeri özelliği olan hastaların immünolojik değerlendirmesi	39
4.4.	Hastaların T hücre alt grupları	43
4.5.	Hastaların B hücre alt grupları	45
4.6.	Hastaların histopatolojik incelemesi	47
4.7.	Çalışmaya dahil edilen hastaların ALPS tanı kriterleri açısından değerlendirilmesi	48
4.8.	Hastalar ile sağlıklı kontrollerde in vitro apoptoz test sonuçlarının karşılaştırılması (apoptoza uğrayan hücre oranlarının medyan değeri)	51
4.9.	İn vitro apoptoz testi ALPS'yi destekler bulunan hastaların ALPS tanı kriterleri ile birlikte yeniden gözden geçirilmesi	53
4.10.	Genetik sonucuna göre ALPS veya ALPS benzeri hastalık olan hastaların tanı kriterleri ile birlikte yeniden gözden geçirilmesi	55
4.11.	ALPS ve ALPS benzeri hastaların tedavi, tedavi yanıtı ve ilaç yan etkileri	57

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Primer immün yetmezlik (PİY) hastalıkları, immün sistemin çeşitli bileşenlerinin sayı ve/veya işlevlerini etkileyen genetik bozukluklar sonucu ortaya çıkan, nadir görüldükleri ileri sürülen ancak dünyada görülme sıklıkları henüz tam olarak bilinmeyen hastalıklardır. Ancak ülkemizde akraba evlilikleri ve doğurganlığın fazla olması nedeniyle PİY hastalıklarının daha sık olduğu düşünülmektedir. Primer immün yetmezlikler yalnızca enfeksiyonlar değil; immün disregülasyona bağlı otoimmün hastalıklar, benign lenfoproliferasyon ve maligniteler, alerjik hastalıklar ve otoinflamatuvar hastalıklar ile kliniklere başvurmaktadır. Primer immün disregülasyon hastalıklarında (PİDRH), diğer primer immün yetmezlikler gruplarından farklı olarak otoimmün bulgular (örneğin; sitopeniler, enteropati) hastalığın ilk semptomu olarak çıkabilmekte ve tipik olarak tedaviye direnç görülebilmektedir [1].

Otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS veya Canale-Smith sendromu) Fas-FasL ilişkili apoptozun bozulması ile benign ve kronik lenfoproliferasyon (açıklanamayan lenfadenopati, splenomegali), immün aracılı sitopeni ve lenfoma riskinde artış ile karakterizedir. Normal koşullarda; immünolojik yanıt antijen elimine edildikten sonra sona erer ve immün homeostaz söz konusudur. Burada apoptoz önemli bir mekanizmadır. Bu mekanizma bozulursa esas olarak sitopeniler olmak üzere nefrit, hepatit, üveit, artrit veya kolit gibi otoimmün belirtilere neden olabilir. Hastalar solid tümörler (örneğin; tiroid, meme ve karaciğer) veya lösemi gibi çeşitli malignitelere yatkındır. Hodgkin dışı lenfoma riski, genel popülasyon ile karşılaştırıldığında ALPS'li hastalarda 50 kata kadar daha sıktır. ALPS'de bozulmuş ekstrinsik apoptotik sinyalizasyon, Fas hücre yüzeyi ölüm reseptörü proteini, Fas ligand proteini ve kaspaz 10'u kodlayan *FAS (TNFRSF6, CD95, AP01)*, *FASLG* ve *CASP10* genlerindeki germline ve somatik mutasyonlardan kaynaklanır. ALPS hastalarının çoğunda germline heterozigot ve somatik olarak edinilmiş *FAS* mutasyonları ve mutasyon saptanamayan durumlar da vardır [2]. *CASP8* gen varyantları kaspaz-8 eksikliğine bağlı Fas kaynaklı lenfosit apoptozunda bozulmaya ek olarak, T-, B- ve NK- hücre aktivasyonunun bozulmasına neden olur. ALPS hastalarında aktivasyonun bozulmasına bağlı olarak hücre ölümü, anormal bir T hücre repertuarının gelişmesine neden olur. Oтореaktif vasıfta çift negatif T-hücresi (DNT)



birikimi olur. DNT'ler normal olarak farklılaşmış T hücrelerine benzer ve genellikle hücre yüzeylerinde CD45RA gibi farklılaşmamış T hücre belirteçlerini eksprese eder. Bununla birlikte, bu hücreler oldukça proliferatiftir ve mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) yolağı ve diğer birkaç büyüme yolağında upregülasyonu indükleyebilir. ALPS'de ortaya çıkan laboratuvar bulguları arasında hipergamaglobulinemi, vitamin B12 yüksekliği, solubl FASL (sFASL), interlökin-10 ve -18 (IL-10 ve IL-18) seviyelerinde artış sayılabilir [2].

Genel olarak memelilerde hücre ölümü, apoptoz ve nekroz olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Apoptoz; genetik olarak kontrol edilen, dokuların gelişimi ve homeostazı sırasında meydana gelen, hasarlı hücrelerin ortadan kaldırılmasından sorumlu, stres koşulları veya DNA (Deoksiribonükleik asit) hasarı ile aktif hale gelen programlı hücre ölümüdür. Oтореaktif lenfositlerin ve bağışıklık tepkilerinden sonra aktive olan lenfositlerin ortadan kaldırılmasında ve böylece immün sisteminin dinlenme durumuna geri döndürülmesinde apoptoz gereklidir [3].

Bu çalışmamızın amacı; Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmunoloji Bilim Dalına otoimmün lenfoproliferatif sendrom veya benzeri bulgular ile başvuran hastaların in vitro apoptoz testi ile değerlendirilmesi ile hastalığa neden olan fonksiyonel mekanizmaların belirlenmesidir. Bu bozuklukların anlaşılması hastalığın seyri ve uygulanacak tedavilerin belirlenmesi için önem taşımaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Primer İmmün Yetmezlik Tanımı, Bulguları ve Sınıflandırması

İmmün sistem; vücudun tamamına yayılmış spesifik hücreler, çeşitli salgısal bileşenler, lenfoid organlar ve moleküllerin birlikte ve uyum içinde çalıştığı, sağlıklı bir yaşam için gerekli, karmaşık bir sistemdir. Bu sisteme ait bileşenlerden bir ve/veya daha fazlasının sayısal ve/veya işlevsel eksiklikleri primer immün yetmezlik (PİY) olarak adlandırılmaktadır. Son yıllarda adlandırma immünitinin doğuştan kusurları (IEI, '*inborn errors of immunity*') olarak değiştirilmiştir. PİY hastalıkları klinik, immünolojik ve genetik açıdan oldukça değişkenlik gösteren bir hastalık grubudur; hastalar enfeksiyonlar, otoimmünite, otoinflamasyon, lenfoproliferasyon, kanser ve alerji ile başvurabilmekte veya takipte bu tür bulgular ile seyredabilmektedir. Ortaya çıkan bulgular ciddi morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır.

Dünyada görülme sıklığı tam olarak bilinmemekle birlikte, akraba evliliği oranının yüksek olduğu ülkelerde daha sık görüldüğü tahmin edilmektedir. Yeni nesil gen dizi analizi tekniklerinin yaygın kullanılması ile birlikte, PİY'e neden olan genetik bozuklukların sayısı da giderek artmaktadır. Son 10 yılda genetik olarak tanımlanmış primer immün yetmezlik sayısı 500'e yaklaşmıştır. Nitekim, 2022 yılında yapılan son Uluslararası Primer İmmün Yetmezlikler Uzman Komitesi (*The International Union of Immunological Societies; IUIS*) Sınıflandırmasında PİY'e neden olan 485 genetik bozukluk, 10 tanısal alt başlıkta yerini almıştır. Bunlardan 56'sı son iki yılda PİY sınıflamasına yeni dahil edilen hastalıklardır. Tanı algoritmaları, on geniş IEI kategorisinin her biri için klinik ve laboratuvar fenotiplerine dayanmaktadır (Tablo 2.1) [4].

**Tablo 2.1.** IUIS Sınıflandırması [4]

1	Hücrel ve hümorale immüniteyi etkileyen (kombine) immün yetmezlikler
2	Sendromik veya ilişkili özellikleri olan kombine immün yetmezlikler
3	Antikor eksikliklerinin ön planda olduğu immün yetmezlikler
4	İmmün disregülasyon ile giden immün yetmezlikler
5	Fagositler hücrelerin sayı ve/veya işlev eksikliği olan immün yetmezlikler
6	Doğal immün sistem eksiklikleri
7	Otoinflamatuar hastalıklar
8	Kompleman eksiklikleri
9	Kemik iliği yetmezlikleri
10	Primer immün yetmezlik fenokopyaları

## 2.2. İmmün Disregülasyonla Giden Primer İmmün Yetmezlikler

Primer immün yetmezliklerin klinik bulguları değerlendirildiğinde; hastaların yaklaşık üçte ikisi enfeksiyonların ön planda olduğu bir seyir gösterirken, üçte birinde immün disregülasyona bağlı ortaya çıkan otoimmünite, benign ve/veya malign lenfoproliferasyon, alerjik hastalıklar ve otoinflamasyonun ön planda olduğu bir seyir görülür [5]. İmmün disregülasyonla seyreden immün yetmezliklere yol açan genetik bozukluklar, bunların genel klinik ve immünolojik özellikleri Tablo 2.2’de belirtilmiştir. İmmün disregülasyonla giden immün yetmezlikler ailesel hemofagositik lenfohistiositoz (aHLH), EBV’ye yatkınlıkla giden hastalıklar, otoimmünite ile seyreden sendromlar ve immüendisregülasyon ve kolit birlikteliği alt başlıklarında gruplandırılmıştır. Otoimmün lenfoproliferatif sendrom da otoimmünite ile seyreden sendromlar alt başlığı altında yer alan bir primer immün disregülasyon bozukluğudur.

**Tablo 2.2.** İmmün disregülasyonla seyreden immün yetmezliklere yol açan genetik bozukluklar, genel klinik ve immünolojik özellikleri ([4] no'lu kaynaktan uyarlanmıştır.)

Hastalık	Genetik bozukluk	Kahtım şekli	Klinik bulguları	Laboratuvar bulguları
<b>Ailevi hemofagositik lenfositosis (aHLH)</b>				
<b>1.Hipo-pigmentasyonla giden aHLH</b>			Parsiyel albinizm	B ve T hücre: normal NK düşük
Griselli Sendromu	<i>RAB27A</i>	OR	Ateş, HSM	Sitopeni
Chediak Higashi Sendromu	<i>LYST</i>	OR	Tekrarlayan enfeksiyonlar, ateş, HSM, kanamaya eğilim, progresif nörolojik disfonksiyon	Nötropeni, sitopeni, T hücre aktivitesinde artış
Hermansky- Pudlak Sendromu tip 2	<i>AP3B1</i>	OR	Tekrarlayan enfeksiyonlar, pulmoner fibrozis, kanamaya eğilim	Nötropeni
Hermansky- Pudlak sendromu tip 10	<i>AP3D1</i>	OR	Okulokutanöz albinizm, tekrarlayan enfeksiyonlar, nöbet, işitme kaybı, nörogelişimsel gerilik	Şiddetli nötropeni
<b>2. Hipo-pigmentasyon olmaksızın aHLH</b>			Ateş, HSM	Sitopeni B hücre: normal T hücre aktivitesinde artış NK: düşük
SLC7A7 eksikliği	<i>SLC7A7</i>	OR	Lizümirik protein intoleransı, kanamaya eğilim, alveoler proteinozis, hiperinflamatuvar makrofaj yanıtı	T hücre ve NK hücre fonksiyonu normal
CDC42 eksikliği (NOCARH Sendromu)	<i>CDC42</i>	OD	Neonatal başlangıçlı ateş, döküntü, HSM, multisistemik inflamasyon, myelofibrozis/proliferasyon, enterokolit, nörogelişimsel gerilik	Pansitopeni, IL-1: yüksek IL18, IFN $\gamma$ , ferritin, sCD25, CRP: düşük NK fonksiyonu azalmış B ve T hücre: düşük/normal
FAAP24 eksikliği	<i>FAAP24</i>	OR	EBV ilişkili lenfoproliferatif hastalık	T hücre aktivitesinde artış NK hücre fonksiyonu normal
RHOH eksikliği	<i>RHOG</i>	OR	Anemi, hipertrigliseridemi	Ferritin yüksekliği T hücre: normal B hücre: hafif azalmış IgM ve IgG yüksekliği

<b>EBV'ye yatkınlıkla giden hastalıklar</b>				
RLTPR (CARMIL2) eksikliği	<i>RLTPR</i>	OR	Tekrarlayan bakteriyel, fungal ve mikobakteriyel enfeksiyonlar, siğil, molluscum ve EBV lenfoproliferasyon ve malignite, atopi.	Ig: Normal/düşük T hücre bağımlı antikor yanıtı zayıf B hücre: normal Memory B hücre: zayıf T hücre: Treg düşük CD4: yüksek
CTPS1 eksikliği	<i>CTPS1</i>	OR	Tekrarlayan/kronik bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, EBV lenfoproliferasyon, B hücreli non-Hodgkin lenfoma	T hücre: Normal/düşük
XMEN hastalığı	<i>MAGT1</i>	XL	EBV enfeksiyonu, lenfoma, viral enfeksiyonlar, solunum ve gastrointestinal enfeksiyonlar Glikozilasyon bozuklukları, bazı hastalarda nörolojik bulgular ile seyredebilir.	Progresif hipogamaglobulinemi CD4:düşük CD3 proliferasyonu zayıf Memory B hücre: Normal/düşük
PRKCD eksikliği	<i>PRKCD</i>	OR	Tekrarlayan enfeksiyonlar, kronik EBV enfeksiyonu, lenfoproliferasyon, SLE benzeri otoimmünite	IgG düşüklüğü, memory B hücre düşük CD5: yüksek
ITK eksikliği	<i>ITK</i>	OR	EBV ilişkili B hücre lenfoproliferasyon, lenfoma, immün-disregülasyon.	IgG düşük veya normal. Progresif CD4 T hücre lenfopenisi
RASGRP1 eksikliği	<i>RASGRP1</i>	OR	Tekrarlayan pnömoni, herpes virüs enfeksiyonu, EBV ilişkili lenfoma	NK hücre fonksiyonunda azalma, IgA: yüksek B ve T hücre: zayıf aktivasyon, proliferasyon, motilite.
CD70 eksikliği	<i>CD70</i>	OR	Hodgkin lenfoma, bazı hastalarda otoimmünite.	Hipogamaglobulinemi, zayıf antikor yanıtı Memory B hücre: düşük T hücre: düşük Treg
CD137 eksikliği	<i>TNFRSF9</i>	OR	EBV lenfoproliferasyon, B hücreli lenfoma,	IgA ve IgG düşüklüğü, zayıf antijen yanıtı, azalmış

			kronik aktif EBV enfeksiyonu	T hücre proliferasyonu
TET2 eksikliği	<i>TET2</i>	OR, LOF	ALPS benzeri bulgular (lenfadenopati, HSM, otoimmünite), tekrarlayan viral enfeksiyonlar, B hücreli lenfoma, büyüme-gelişme geriliği, EBV viremisi	DNA hipermetilasyonu, FAS ilişkili apoptoz defekti, değişken immüno-globulin düzeyleri, DNT yüksekliği. Memory B hücrede düşüklük
SAP eksikliği (XLP1)	<i>SH2DIA</i>	XL	EBV enfeksiyonu ile ilişkili klinik ve immunolojik özellikler: lenfoproliferasyon, aplastik anemi, lenfoma	Hipo-gamaglobulinemi, iNKT yokluğu, NK hücre ve sitotoksik T hücre bozulmuş aktivasyonu, memory B hücrede azalma.
XIAP eksikliği (XLP2)	<i>XIAP</i>	XL	Splenomegali, lenfoproliferasyon, kolit, İBH, hepatit.	Hipo-gamaglobulinemi, iNKT hücrelerde azalma. memory B hücreleri normal veya azalmış
CD27 eksikliği	<i>CD27</i>	OR	EBV enfeksiyonu ile ilişkili özellikler, aplastik anemi.	iNKT azalma, hipogamaglobulin emi
<b>Otoimmünite ile Giden Sendromlar</b>				
<b>1.ALPS</b>				
ALPS-FAS	<i>TNFRSF6</i>	OD/OR	Otoimmün sitopeni, lenfoma riskinde artış	IgA Normal veya yüksek, FasL, IL-10, vitamin B12 yüksekliği.
ALPS-FASLG	<i>TNFSF6</i>	OR	Otoimmün sitopeni, SLE	Soluble FasL artmamıştır.
ALPS-Caspaz10	<i>CASP10</i>	OD		
<b>2. Treg bozuklukları</b>				
IPEX	<i>FOXP3</i>	XL	Otoimmün enteropati, erken başlangıçlı diabet, tiroidit, hemolitik anemi, trombositopeni, egzema	IgE/IgA yüksek. CD4, CD25, FOXP3 fonksiyonları bozulmuş ya da azalmıştır.
LRBA eksikliği	<i>LRBA</i>	OR	Tekrarlayan enfeksiyonlar, inflamatuvar eklem hastalığı, otoimmünite.	IgG/IgA düşük. B hücreleri normal veya azalmıştır. CD4 normal veya düşük. T hücre disregülasyonu vardır.
STAT3 GOF mutasyonu	<i>STAT3</i>	OD	Lenfoproliferasyon, solid organ otoimmünitesi,	STAT3 sinyali gelişmiştir. Lenfoproliferasyon ve otoimmünite

			rekürren enfeksiyonlar.	ile giden Th17 hücre diferansiyasyonu artmıştır.
FERMT1 eksikliği	<i>FERMT1</i>	OR	Cilt bulguları (konjenital blistering, cilt atrofisi, fotosensivite, frajilite)	Bazal membran altındaki kolloid cisimlerde intrasellüler IgG, IgM, IgA ve C3 birikimi olur.
IKAROS GOF	<i>IKZF1</i>	OD, GOF	Multipl otoimmün bulgular (diabet, kolit, tiroidit), alerji, lenfoproliferasyon, Evans Sendromu, tekrarlayan enfeksiyonlar	B hücreleri normal veya hafif azalmıştır.
CTLA4 eksikliği	<i>CTLA4</i>	OD	Otoimmün sitopeni, enteropati, interstisyel akciğer hastalığı, ekstra lenfoid lenfositik infiltrasyon tekrarlayan enfeksiyonlar	T ve B hücreleri azalmıştır.
BACH2 eksikliği	<i>BACH2</i>	OD	Lenfositik kolit, sinopulmoner enfeksiyonlar	Memory B hücre gelişimi bozulmuştur. Progresif T hücre lenfopenisi görülür.
CD25 eksikliği	<i>IL2RA</i>	OR	Lenfoproliferasyon, otoimmünite	CD4 ve CD25 eksikliği
CD122 eksikliği	<i>IL2RB</i>	OR	Lenfoproliferasyon, lenfadenopati, HSM, OİHA, dermatit, enteropati, EBV, CMV enfeksiyonları	
DEF6 eksikliği	<i>DEF6</i>	OR	HSM, enteropati, kardiyomiyopati, rekürren enfeksiyonlar	
<b>3. Treg bozukluğu olmaksızın</b>				
APECED	<i>AIRE</i>	OR/OD	Hipoparatiroidizm, hipotiroidizm, adrenal yetmezlik, diabet, gonadal disfonksiyon ve diğer endokrin anomaliler, kronik mukokütanöz kandidiyazis, dental enamel hipoplazisi, alopesi, enteropati, pernisiyöz anemi	
FADD eksikliği	<i>FADD</i>	OR	Fonksiyonel hiposplenizm, bakteriyel ve viral	

			enfeksiyonlar, rekürren epizodik ensefalopati ve karaciğer disfonksiyonu	
JAK1 GOF	<i>JAK1</i>	OD, GOF	HSM, eozinofilik enterit, tiroid hastalığı, viral enfeksiyonlar, eozinofili.	
Caspase 8 eksikliği	<i>CASP8</i>	OR	Bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, bozulmuş lenfosit aktivasyon	DNT hücresi hafif artmıştır.
PDCD1 eksikliği	<i>PDCD1</i>	OR	Tüberküloz, otoimmünite (hipotiroidizm ve JİA), pulmoner otoimmünite, HSM	IgG/IgA yüksek, anti-insülin otoantikor mevcut. Hafif lenfopeni. DNT yüksek. B hücresi normaldir.
ITCH eksikliği	<i>ITCH</i>	OR	Erken başlangıçlı kronik akciğer hastalığı, tirodit, tip 1 diabet, kronik ishal, enteropati, hepatit, gelişim geriliği, dismorfik yüz bulguları	
Prolidaz eksikliği	<i>PEPD</i>	OR	Kronik cilt ülseri, egzama, enfeksiyon	
SOCS1 eksikliği	<i>SOCS1</i>	OD	Rekürren bakteriyel enfeksiyonlar, şiddetli multisistemik otoimmünite, ITP, OİHA, SLE, glomerülonefrit, HSM, psöriazis, artrit, tirodit, hepatit, COVID19/MIS-C riskinde artış, nötropeni, lenfopeni.	CD4/CD8 düşük, naïve B hücre yüksek, switch memory B hücre düşük.
Tripeptidil-Peptidaz 2 eksikliği	<i>TPP2</i>	OR	Değişken lenfoproliferasyon, şiddetli otoimmün sitopeni, rekürren enfeksiyonlar	T ve B hücreler azalmıştır.
<b>Kolit ve İmmüdisregülasyon Birlikteliği</b>				
IL-10R eksikliği		OR	Folikülit, rekürren respiratuar hastalık, artrit, lenfoma	
RIPK1 eksikliği	<i>RIPK1</i>	OR	Rekürren enfeksiyonlar, progresif poliartrit	
IL-10 eksikliği	<i>IL10</i>	OR	Folikülit, rekürren respiratuar hastalık, artrit	



TGFB1 eksikliği	<i>TGFB1</i>	OR	Rekürren viral enfeksiyonlar, mikrosefali ve ensefalopati	T hücre proliferasyonuna anti-CD3 yanıtı azalmıştır.
ELF4 eksikliği	<i>ELF4</i>	XL	Erken başlangıçlı mukozal otoinflamasyon/İBH, ateş ve ülser, hiperinflamatuvar makrofaj	T, B hücre ve Iglar normal. Canlı viral aşı yanıtı düşüktür.
NFAT5 eksikliği	<i>NFAT5</i>	OD	Rekürren sinopulmoner enfeksiyonlar	Memory B hücre ve plazmablastlar azalmıştır.
IL21 eksikliği	<i>IL21</i>	OR	Şiddetli erken başlangıçlı kolit	Hipo-gamaglobulinemi, spesifik antikor yanıtı zayıf, IgE yüksek

Tablo 2.2: aHLH, ailevi hemofagositik lenfohistiositoz; ALPS, otoimmün lenfoproliferatif sendrom; C3, kompleman 3; CD, farklılaşma kümesi (cluster of differentiation); CMV, sitomegalovirüs; CRP, C-reaktif protein; DNA, deoksiribonükleik asit; DNT, double negatif T hücre; EBV, Epstein-Barr virus; FasL, Fas ligand; GOF, kazanılmış fonksiyon; HSM, hepatosplenomegali; IFNgama, interferon-gama; Ig, immunoglobulin; IL-1, interlökin-1; IL-18, interlökin-18; İBH, inflamatuvar barsak hastalığı; iNKT, stabil NKT hücresi (invariant NKT), ITP, immün trombositopenik purpura; JİA, juvenil idiyopatik artrit; LOF, fonksiyon kaybı; MIS-C, çocukluk çağı multisistem inflamatuvar sendrom; NK, natural killer; OD, otozomal dominant kalıtım; OİHA, otoimmün hemolitik anemi; OR, otozomal resesif kalıtım; SLE, sistemik lupus eritematozus; Th17, T helper 17; Treg, T regülatuar hücre; XL, X geçişli kalıtım.

### 2.3. Otoimmün Lenfoproliferatif Sendrom (ALPS)

Otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS veya Canale-Smith sendromu), hücre ölümü reseptör yolunda yer alan proteinlerle ilgili farklı genleri etkileyen, altta yatan genetik kusurlara göre sınıflandırılan ve heterojen klinik bulgular gösteren bir sendromdur.

İlk olarak, 1967 yılında, kronik yaygın lenfadenopati, hepatosplenomegali, hipergamaglobulinemi, trombositopeni ve otoimmün hemolitik anemi gibi otoimmün hastalık belirtileri gösteren çocukluk yaş grubundaki beş hastadaki lenforetiküler

proliferatif bozukluk, Canale-Smith sendromu, olarak adlandırılmıştır [6]. 1992 yılında ise Sneller ve arkadaşları, *lpr* ve *gld* lenfoproliferatif fare modellerine benzer belirtiler gösteren, masif, malign olmayan lenfoid hiperplazi ve otoimmün hastalığı olan iki çocuk hasta tanımlamıştır [7]. Daha sonra 1995 yılında Rieux-Laucat ve arkadaşları [8] ve Fisher ve arkadaşları [9] bu bozukluğun Fas proteinini kodlayan gendeki kalıtsal, çoğunlukla heterozigot mutasyonlarla ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Fas-FasL ilişkili apoptozun bozulması ile benign ve kronik lenfoproliferasyon (açıklanamayan lenfadenopati, splenomegali), immün aracılı sitopeni ve lenfoma riskinde artış görülmektedir [10, 11].

### 2.3.1. İmmünopatolojik Mekanizmalar

Normal koşullarda; antijenin elimine edilmesiyle birlikte immünolojik yanıt sona erer ve immünolojik istirahat söz konusudur. İmmünolojik yanıtın sona erdirilmesinde apoptoz önemli bir mekanizmadır [12, 13]. Hastalık patogenezini anlamak için lenfosit apoptozuna daha yakından bakalım.

#### Apoptoz ve lenfositlerin apoptoz süreci

Apoptoz terimi Kerr ve ark. tarafından [14], hayvan hücresi popülasyonlarının düzenlenmesinde, mitozla tamamlayıcı ancak zıt bir role sahip, kontrollü hücre ölümü mekanizması olarak tanımlanmıştır. Apoptoz veya programlanmış hücre ölümü normalde dokuların gelişimi ve homeostazı sırasında meydana gelir. Yaralı hücrelerin ortadan kaldırılmasından sorumludur ve stres koşulları veya DNA hasarı ile aktif hale gelir. Apoptoz, immün sistemin *self*-tolerans ve homeostaz gibi iki temel özelliği için gerekli bir süreçtir.

Apoptoz, adaptif immün yanıtın ve immün hücrelerin genel homeostazının kontrolünde önemli bir rol oynar. Apoptozun bozulması immün disregülasyon ile sonuçlanır. Lenfosit homeostazı, immün repertuarın ve lenfosit sayısının korunmasına izin veren dinamik bir süreçtir. Primer veya sekonder lenfoid organlarda otoreaktif lenfositler apoptoz ile ortadan kaldırılır böylece santral ve periferik tolerans sağlanmış olur. İmmün yanıtın sonlanması ile immün yanıt sırasında aktive olan lenfositler apoptoza uğrayarak, immün sistemin dinlenme durumuna geri dönmesini sağlar.

Lenfositlerin timusta olgunlaşmaları sırasında, timositler kortikalden medüller bölgeye göç eder ve T-hücresi antijen reseptörlerinin (TCR'ler) ekspresyonunu içeren fenotipik değişikliklere uğrar. İmmatür lenfositler pozitif seçilime uğrar. Pozitif seçim, timositlerin uygun MHC (Major Histokompatibilite Kompleksi) molekülleri ve uygun ko-reseptörle (CD4 veya CD8) bulundurmasını garantiler. Santral tolerans olarak adlandırılan bu süreç, self-reaktif lenfositlerin ortadan kaldırılmasının ve otoimmüniteyi önlemenin birincil yoludur. İmmün homeostazın sürdürülmesi için olgun T hücrelerinin periferik toleransı da sağlanmalıdır. Periferik tolerans için düzenleyici T hücrelerinin (Treg) immünoşüpresif aktivitesi de gereklidir. Son olarak, T hücresi immün yanıtının apoptoz indüksiyonu ile sonlanması, immün homeostazın sürdürülmesinde ana role sahiptir [3].

### **Apoptoz mekanizması**

Apoptoz, iki şekilde indüklenir: İntrensik veya mitokondriyal yol ve ekstrinsik veya ölüm reseptörü yolu.

### **Mitokondriyal (intrinsik) yol**

İntrensik veya mitokondriyal yol, hücre sinyali, zararlı uyarılar, büyüme faktörü eksikliği, DNA hasarı veya kemoterapötik ajanlar tarafından tetiklenir. Proapoptotik (Bim, Bax, Bak, Puma, Noxa, Bad, Bcl-Xs, Bid, Bik) ve anti-apoptotik (Bcl-2, Mcl-1, A1, Bcl-XL, Bcl-W) moleküllerin dengesi ile kontrol edilir. Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) ailesinin sitoplazmik proteinleri indüklendiğinde veya aktive edildiğinde yol başlatılır. Mitokondriyal membran potansiyeli bozulur, sonuç olarak sitokrom C ve mitokondriyal bileşenler sitoplazmaya sızar. Salınan sitokrom C, deoksiadenozin trifosfat (dATP) ile birlikte adaptör protein apoptotik proteaz aktive edici faktör 1'i bağlar; bu bağlanma kaspaz 9'u aktive eder. Aktif kaspaz 9, kaspaz 3 ve 7'yi aktive ederek protein substratlarının bölünmesine ve hücre ölümüne yol açar [3].

### **Ölüm reseptörü (ekstrinsik) yolu**

Ekstrinsik veya ölüm reseptörü yolu, transmembran ölüm reseptörü (tümör nekroz faktörü reseptörü) ile tümör nekroz faktör (TNF) ile ilişkili ligand (TRAIL R1

ve TRAIL R2 gibi) bağlandığında reseptörün trimerizasyona uğramasıyla indüklenir. Reseptörler kaspaz 8'i birleştiren ve bölen sitoplazmik adaptör proteinlerini oligomerize eder ve aktive eder. Kaspaz 8, efektör kaspazları (kaspaz 3, 6 veya 7) bölebilir, bu daha sonra bir proteolitik hücre içi parçalanma kademesini başlatır. Efektör kaspazlar aktive edildiğinde, proteolize, DNA bozulmasına ve apoptoza yol açan bir dizi olay başlatılır. Son olarak, kemoatraktanların salınması ve fosfatidilserin reseptörlerinin açığa çıkması, ölü hücrelerin fagositler tarafından düzenli bir şekilde fagosite edilmesini sağlar [3].

Otoimmün lenfoproliferatif sendromda ekstrinsik apoptotik sinyalizasyonun bozulması, Fas hücre yüzeyi ölüm reseptörü proteini, Fas ligand proteini ve kaspaz 10'u kodlayan *FAS* (*TNFRSF6*, *CD95*, *AP01*), *FASLG* ve *CASP10* genlerindeki germline ve somatik mutasyonlardan kaynaklanır. Hastaların büyük kısmında heterozigot germline ve somatik *FAS* mutasyonları saptanmıştır.

Otoimmün lenfoproliferatif sendrom hastalarında hücre ölümü aktivasyonunun bozulmasına bağlı olarak anormal bir T hücre repertuarı gelişir.

Otoimmün lenfoproliferatif sendromun en önemli klinik bulgularından biri olan T hücre lenfoproliferasyonu, Fas kaynaklı apoptozdaki bozuklukla açıklanamaz. İnsan T hücresi öncülleri TCR'leri yoluyla yeniden uyarıldıklarında Fas'ın neden olduğu apoptoza duyarlıdır, ancak yeniden uyarmanın yokluğunda, Fas ligasyonu bunun yerine IL-2'ye bağlı (IL, interlökin) T hücresi büyümesinin inhibisyonu ile sonuçlanır ve bu durum ALPS hastalarında gözlenen kontrolsüz lenfoproliferasyonu kısmen açıklar. Bu etki, hücre döngüsü düzenleyici p21'in Fas kaynaklı ifadesine bağlıdır. Ek olarak, apoptotik olmayan Fas sinyali, Bcl-2 ailesinin proapoptotik üyesi Bim'in T hücresi aktivasyonu üzerine ekspresyonunu düzenler ve bunların apoptoza duyarlılığındaki artışa katkıda bulunur; bu, bağışıklık tepkisindeki Fas düzenlemesinin karmaşıklığını gösterir [3].

### 2.3.2 Genetik

ALPS'nin en yaygın görülen genetik nedenleri; apoptotik Fas-FasL bileşenlerindeki (*FAS*, *FASL*, *FADD*, *CASP10* ve *CASP8*) mutasyonlar ile *FAS* genindeki germline ve somatik (sırasıyla ALPS-FAS ve ALPS-sFAS) mutasyonlardır, sırasıyla %60 ve %15 oranında görülürler [9, 15, 16]. Yukarıda

belirtilen genlerde tanımlanmış mutasyonu olmayan ALPS hastalarında (vakaların %20 -30'u), ALPS-U (bilinmiyor) olarak sınıflandırılır [2].

*CASP8* gen varyantları kaspaz 8 eksikliğine bağlı Fas kaynaklı lenfosit apoptozunda bozulmaya ek olarak, T, B ve natural killer (NK) hücrelerin aktivasyonunun da bozulmasına neden olur [2].

### 2.3.3. Klinik Bulgular

Otoimmün lenfoproliferatif sendrom hastalarında klinik bulgular; lenfoproliferatif bulgular, otoimmün hastalıklar ve maligniteler şeklinde değişkenlik gösterebilmektedir. Semptomlar ortalama 2.5 yaş civarında ortaya çıkmaktadır [17, 18]. Geç başlangıçlı (18 yaş sonrası) klinik gösteren ALPS vakaları da bildirilmiştir [18-20]. İlk başvuru şikayeti olarak en sık lenfadenopati (%45) ve splenomegali (%28) dahil olmak üzere lenfoproliferatif bozukluklar, ardından otoimmün hemolitik anemi (OIHA) %9 oranında görülmektedir [21].

Otoimmün lenfoproliferatif sendrom tanısı için lenfadenopati ve splenomegali altı aydan uzun süre sebat etmeli ve malignite veya enfeksiyon nedenleri ile ilişkili olmamalıdır. En sık karşılaşılan klinik bulgu lenfoproliferasyondur; sıklıkla servikal, aksiller ve inguinal zincirlerde ve bazen preauriküler, submental, epitrokleal, mediastinal ve retroperitoneal lenf nodlarında büyüme gözlenebilir [19]. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki (ABD) Ulusal Alerji ve Bulaşıcı Hastalıklar Enstitüsü'nden [13] ve Paris'teki INSERM (*Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale*) [20] kohortlarında tanımlanmış olan 167 hastada, lenfadenopati ve splenomegali görülme sıklığı sırasıyla >%90 ve %95 olarak raporlanmıştır. Lenfadenopati ve splenomegali erken yaşlarda görülebilmektedir. İncelenen 780 vakanın olduğu bir derlemede [21], ALPS hastalarında genç yaşta (medyan 3 yaş) lenfoproliferasyon geliştiği gösterilmiştir. Splenomegali olan hastaların %85'inde dalak boyutu orta veya masif düzeyde artmıştır. Hastalarda hafif-orta düzeyde hepatomegali de görülebilmektedir. Lenfadenopati, hepatomegali ve splenomegali yaş ilerledikçe iyileşme gösterebilmektedir [13, 18, 19].

Otoimmün lenfoproliferatif sendromda görülen ikinci en sık klinik bulgu otoimmünitedir. En sık görülen otoimmün hastalıkların başında otoimmün sitopeniler yer alır [19]. Hem ALPS hem de ALPS benzeri bulguları olan PİY'lerde, en sık

görülen otoimmün hastalık OİHA (%46.2), daha sonra sırayla immün trombositopeni (ITP) (%45), Evans sendromu (%33.1) ve otoimmün nötropenidir (%23.8) [21]. Otoimmün tiroidit ise ALPS benzeri bulguları olan vakalarda, ALPS tanısı alanlara göre anlamlı olarak ( $p < 0.001$ ) daha yaygın görülmüştür [21]. Nadir bildirilen diğer otoimmün hastalıklar arasında glomerülonefrit, Guillain-Barre Sendromu (GBS), insülin bağımlı diabetes mellitus, sistemik lupus eritematozus (SLE), juvenil romatoid artrit (JRA) ve çölyak hastalığı yer alır [7, 21]. Nadiren otoimmün hepatit, gastrit, artrit ve üveit de görülebilir. Ürtikeryal döküntüler ve immün aracılı pulmoner fibroz yaygın olarak bildirilmektedir [16]. ALPS hastalarında ilk ve ikinci otoimmün bulguların görülme medyan yaşı sırasıyla 3.2 (1-7.2) ve 9 (4-11) yıldır. ALPS benzeri sendromlu hastalarda ise, ilk otoimmünite bulguları ortalama 3 (1.4-5.5) yaş, ikinci otoimmün belirtiler ortalama 7 (3-8.7) yaşında görülmüştür [21].

Otoimmün lenfoproliferatif sendrom hastalarında sekonder malignite riski yüksektir. En yaygın olarak *FAS* mutasyonu olan ALPS hastalarında görülür. *FAS* mutasyonu için taşıyıcı olan ancak fenotip olarak etkilenmemiş aile üyelerinde de kanser riski artmıştır. Hodgkin lenfoma riski 51 kat, Hodgkin-dışı lenfoma riski 14 kat artmıştır [19].

Solunum yolu komplikasyonları, ALPS benzeri hastalarda ALPS hastalarına kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Bu solunum yolu komplikasyonları arasında pnömoni, otitis media, sinüzit ve bronşektazi bulunur.

Tüm hastalarda en sık saptanan enfeksiyona neden olan ajanlar virüslerdir. Virüslerden özellikle *Epstein - Barr virüsü (EBV)*, *Sitomegalovirüs (CMV)* ve *Varisella zoster virüsü (VZV)* sorun oluşturmaktadır. Bakteriyel etkenlerden *Streptococcus pneumoniae*; fungal etkenlerden *Candida* ile enfeksiyonlar görülmüştür [21].

### 2.3.4. Laboratuvar Bulguları ve Tanı Kriterleri

#### Laboratuvar bulguları

Otoreaktif bir  $CD3+TCR\alpha\beta+ CD4-CD8-$  çift negatif T-hücresi (*DNT*) popülasyonunun birikimi, ALPS'li hastalarda tipik olarak gözlenen, ana bir unsur olarak ilk kez 1992'de rapor edilmiştir[22]. ALPS'li hastalarda apoptoz mekanizması

kusuru sonucu DNT popülasyonunda artış olur. Akım sitometri kullanılarak DNT sayısı ölçülebilmektedir. Bu hücre popülasyonu sağlıklı bireylerde, parakortikal bölge ve periferik kandaki tüm T hücre alt kümelerinin yaklaşık %1'ini oluşturur. DNT'ler normal olarak farklılaşmış T hücrelerine benzer ve genellikle hücre yüzeylerinde CD45RA gibi farklılaşmamış T hücre belirteçlerini eksprese ederler [12]. Bununla birlikte, bu hücreler oldukça proliferatiftir ve mTOR yolağı ve diğer birkaç büyüme yolağında upregülasyonu indükleyebilir [23]. ALPS hasta grubunda, ALPS benzeri hastalık grubuna göre DNT anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.001$ ) [21]. Yüksek DNT, malignite ve otoimmünite riskinde artış ile de ilişkili bulunmuştur [24].

Serum IgG, IL-10 ve/veya vitamin B12 düzeylerinde yükseklik olması, plazmada sFASL seviyesinde artış olması ALPS tanısını destekleyen diğer laboratuvar bulgularıdır. Yaşa uygun referans aralıklara göre değerlendirildiğinde serum IgG ve IgA düzeyleri, ALPS hastalarında ALPS benzeri hastalara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Buna karşın serum IgM düzeyi ALPS benzeri hastalarda daha yüksektir [21].

Hem ALPS hem de ALPS benzeri vakaların ortalama %70'inden fazlasında, IL-10 serum düzeyi  $>20$  pg/ml üzerinde bulunmuştur [21]. Vitamin B12 yüksekliğinin moleküler mekanizması bilinmemekle beraber; ALPS ve ALPS benzeri vakaların sırasıyla %78'inde ve %28'sinde vitamin B12 yüksekliği ( $>1500$  ng/L) bulunmuştur ( $p=0.001$ ) [21].

Lenfosit sayıları vakaların yaklaşık olarak yarısında normal seviyede görülürken, lenfopeni veya lenfositoz da görülebilmektedir. Lenfosit alt grupları çoğunlukla normaldir ancak lenfosit alt gruplarında çeşitli değişiklikler (CD4+ düşüklüğü, CD8+ düşüklüğü, CD19+ lenfopeni) görülebilir [21].

Apoptoz bozukluğunun *in vitro* apoptoz testi ile saptanması, ALPS tanısını desteklemektedir.

Kesin tanı için ise genetik analiz gerekmektedir. Ekstrinsik apoptotik yolu etkileyen genler (*FAS*, *FASLG*, *CASP10*), yeni nesil dizileme (*Next Generation Sequencing*, *NGS*) ile analiz edilebilmektedir.

Molnar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada DNT yüksekliği ve *in vitro* apoptoz fonksiyonel testinin bozuk olması kombinasyonu ALPS tanısı kesin olan hastaların %79.3'ünde mevcutken; ALPS olmayan hastaların %93.7'sinde

saptanmamıştır. Yani DNT yüksekliği ve in vitro apoptosis testinde anormallik olması kriterlerinin birleşiminin tanısal duyarlılığı %79.3 ve özgüllüğü %93.7 olarak bulunmuştur [2].

DNT ve sFASL kombinasyonu, ALPS tanısı kesin olan hastaların %41.9'unda mevcutken; ALPS olmayan hastaların %87.2'sinde negatif bulunmuştur. DNT yüksekliği ve sFASL artışı kriterlerinin birleşiminin duyarlılığı %41.9 ve özgüllüğü %87.2 saptanmıştır.

İn vitro apoptoz testinde bozukluk ve sFASL artışı ölçümü kombinasyonu, ALPS tanısı kesin olan hastaların %36.7'sinde mevcutken; ALPS olmayan hastaların %96.4'ünde negatif olup, bu kombinasyonun duyarlılığı %36.7 ve özgüllüğü %96.4 saptanmıştır.

Üç kombinasyonun tümü, kesin ve olası olmayan ALPS grupları arasında anlamlı bir fark göstermiştir. (DNT ve in vitro apoptoz fonksiyonel testi için  $p < 0.0001$ ; DNT ve sFASL için  $p = 0.004$ ; in vitro apoptoz fonksiyonel testi ve sFASL için  $p = 0.00012$ ) [13].

### **ALPS tanı kriterleri**

ALPS için 1999 yılında Ulusal Sağlık Enstitüleri (*National Institutes of Health* (NIH)) araştırmacıları tarafından kriterler oluşturulmuştur (Tablo 2.3). NIH'de düzenlenen 2009 yılında uluslararası bir çalıştay ile ALPS'nin tanı ve sınıflandırma kriterleri revize edilmiş ve 2010 yılında revize edilmiş kriterler yayınlanmıştır. 2009 ve 2010 yılı tanı kriterleri karşılaştırıldığında, 2010 yılı kriterleri arasında lenfosit apoptoz testi yer almamaktadır. Bunun nedeni de farklı merkezlerde değişken sonuçlar vermesi olarak açıklanmıştır [16].



**Tablo 2.3.** Ulusal Sağlık Enstitüleri (*National Institutes of Health* (NIH)) revize edilmiş 2010 yılı ALPS tanı kriterleri

<b>Kesin kriterler</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Altı aydan uzun süren, malign ve enfeksiyöz olmayan lenfadenopati ve/veya splenomegali</li> <li>2. Artmış DNT hücre sayısı (DNT hücrelerinin toplam lenfositlerin % 1.5 ve üzerini veya CD3+ lenfositlerin %2.5 ve üzerini oluşturması)</li> </ol>	
<b>Destekleyici kriterler</b>	<b>Birincil destekleyici kriterler</b>	<b>İkincil destekleyici kriterler</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lenfosit apoptozunun bozuk oluşu</li> <li>• <i>FAS</i>, <i>FASL</i> ya da <i>CASP10</i> mutasyonu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Plazma Fas-ligand, IL-10, vitamin B12 ya da IL-18 düzeylerinin yüksek oluşu</li> <li>• Tipik immün-histolojik bulgular</li> <li>• Otoimmün sitopeni ve serum IgG düzeyinin yüksek oluşu</li> <li>• Aile hikayesi (malign olmayan lenfoproliferasyon)</li> </ul>

ALPS kesin tanısı için; kesin kriterlerden ikisi ile birlikte birincil destekleyici kriterlerden en az biri pozitif olmalıdır. Olası ALPS tanısı için; kesin kriterlerden ikisi ile birlikte ikincil destekleyici kriterlerden biri pozitif olmalıdır. İlişkili genlerde mutasyonun gösterilmesi ile de kesin tanı mümkündür [17].

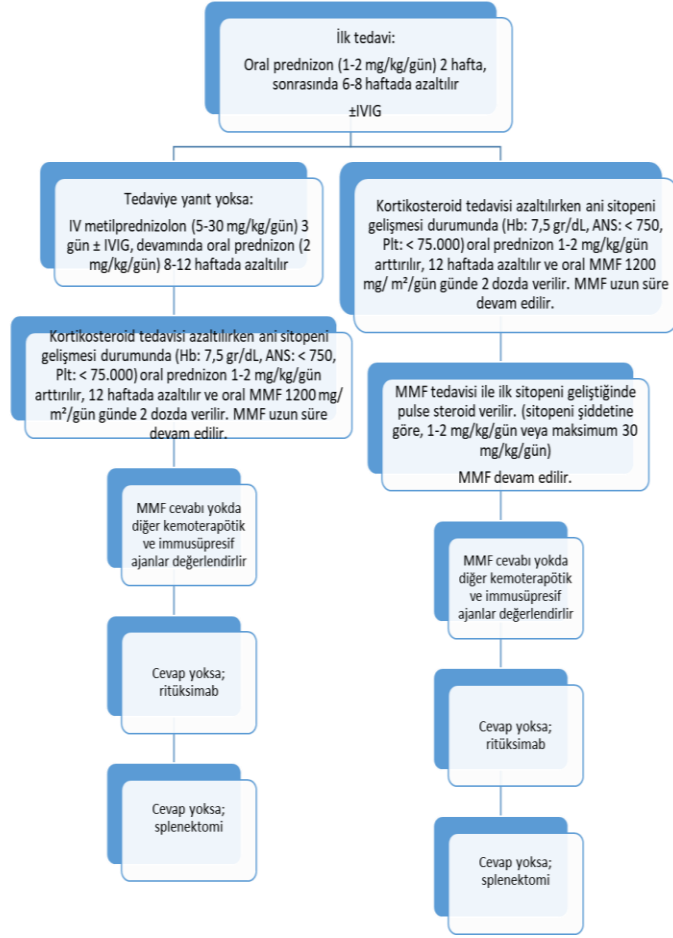
### 2.3.5. Tedavi

ALPS tanısı alan veya ALPS olduğundan şüphelenilen bir kişide tedaviye başlamadan önce lenfoproliferasyon, otoimmünite ve enfeksiyonlar değerlendirilmelidir. Hastaya tedavi başlama gerekliliği, gerekiyorsa hangi ajan veya ajanlarla tedavi edilmesi gerektiği bu değerlendirme sonrasında belirlenir.

Lenfoproliferasyon varlığında, özellikle yaygın lenfadenopatisi olan, B semptomları (ateş, kilo kaybı, gece terlemeleri) olan hastalarda lenfoma tanısı dışlanmalıdır. Otoimmün belirtileri olmadan lenfoproliferasyonu olan çoğu hasta için immünosupresif tedaviden ziyade yakın takip yapılması önerilmektedir. Lenfoproliferasyonun tedavisinde, özellikle de hava yolu obstrüksiyonu, masif

splenomegali gibi ciddi lenfoproliferatif komplikasyonlar varsa ve/veya otoimmün belirtiler varlığında kortikosteroidler ve immünosüpresif ilaçlar başlanır[25]. Sirolimus ilk tedaviden sonra remisyonun sürdürülmesi ile lenfoproliferasyonun tedavisinde tercih edilen ajandır[26, 27]. Splenomegalisi olan hastalarda dalağa hasarlayıcı darbe almaya sebep olabilecek temas sporlarından kaçınmak gibi koruyucu önlemler alınması önerilir [28]. Splenektomi, kalıcı bir iyileşme sağlamaması ve sepsis riskinde belirgin bir artışa neden olması nedeniyle mümkün olduğunca yapılmamalıdır [13].

Otoimmün sitopeni (otoimmün hemolitik anemi, immün aracılı trombositopeni, otoimmün nötropeni) görülen ALPS hastalarında ise immünosüpresif ve immünomodülatör ajanların başlanması gerekmektedir [27]. Otoimmün sitopenilerin tedavisinde, akut, şiddetli anemi veya trombositopeni varlığında, oral veya intravenöz yüksek doz glukokortikoidler etkili olabilir. Kronik dönemde glukokortikoidler kullanılabilirle birlikte uzun süreli kullanımda yan etkiler görülebilmektedir. Bunun yanısıra başlangıçta tedavi yanıtının yetersiz olması ve/veya glukokortikoidlerin azaltılması veya kesilmesi sırasında nüks ortaya çıkması nedeniyle hastalık glukokortikoid monoterapisi ile yeterince tedavi edilememekte ve otoimmüniteyi kontrol etmek için ek immünosüpresif ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Ani başlayan anemi veya trombositopeni tedavisinde, steroid ile beraber yüksek doz intravenöz immunoglobulin (IVIG) kullanılması fayda sağlayabilir. Yan etki riskinin ve toksisitesinin az olması nedeniyle mikofenolat mofetil (MMF) 2005 yılında kullanılmaya başlanmıştır ve otoimmün sitopenilerde etkili olduğu gösterilmiştir [29]. Steroid ve MMF tedavisine dirençli otoimmün sitopenisi olan ALPS vakalarında sirolimusun etkili olduğu gösterilmiştir [26]. Kalıcı hemoliz veya dirençli trombositopeni varlığında rituksimab başlanabilir. Ancak rituksimabın toksisiteleri nedeniyle, diğer immünosüpresif ilaç seçenekleri tükenene kadar ALPS hastalarında rituksimabın kullanılması önerilmemektedir [30, 31].



**Şekil 2.1.** ALPS’de otoimmün sitopeni tedavi algoritması, [32] nolu kaynaktan düzenlenmiştir.

İmmüsupresif tedaviye ihtiyaç duyduğu düşünülen özellikle genç hastalarda, immün sistemi değerlendiren temel testler yapılmalıdır. Tam kan sayımı, kantitatif immüoglobulin düzeyleri, protein ve polisakkarit aşılara karşı antikor titreleri, lenfosit alt grupları ve CH50 (komplement hemolitik aktivitenin %50’si) bakılmalıdır. Tedaviye uzun süre devam edilmesi düşünülüyorsa T hücre fonksiyon çalışmaları da yapılmalıdır. Bazı immüsupresif tedavilere başlamadan önce, tüberküloz ve insan immün yetmezlik virüsü (HIV) dahil olmak üzere belirli enfeksiyonların taraması yapılmalıdır.

Seçilebilecek immüsupresif ajanlar arasında glukokortikoidler, mikofenolat mofetil, sirolimus, takrolimus veya siklosporin yer alır.

### **Glukokortikoidler**

Kortikosteroidler immunsupresif etki ile ALPS hastalarında sitopenilerin tedavisi için kullanılmaktadır. Refrakter sitopenilerde intravenöz metilprednizolon (5-10 mg/kg) ile yüksek doz tedavi ve ardından genellikle 8-12 haftada doz azaltılabilen düşük doz oral prednizon (1-2 mg/kg) ile idame tedavisi önerilmektedir. Steoid tedavisi verilen hastaların izleminde Cushingoid görünüm, hipertansiyon, katarakt, hiperglisemi, osteopeni ve avasküler kalça nekrozu gibi kısa ve uzun vadeli morbiditelere neden olabilir [32].

### **Mikofenolat mofetil**

İnozin monofosfat dehidrogenaz (IMPDH) enzimi inhibe ederek çoğalan T ve B lenfositlerinin inhibisyonuna neden olan mikofenolat mofetil; etkili, uygun ve iyi tolere edilebilmesi nedeniyle tercih edilmektedir. Diğer tedavi seçeneklerine göre yan etki daha az görülmektedir [29]. ALPS ile ilişkili sitopenili çocuklarda uzun süreli idame immünomodülatör tedavisi için MMF tercih edilmektedir. Tedavinin dozu ve süresi, tedavinin hedeflerini gerçekleştiren minimum bir doz kullanılarak hastaya göre bireyselleştirilmelidir. Baş ağrısı, epigastrik ağrı ve nadir olarak lenfomaya neden olması yan etkileridir [29].

### **Siklosporin**

Siklosporin, 1970’te *Tolpocladium inflatum* adlı mantardan izole edilen bir polipeptiddir, bazik bir protein olan siklofiline bağlanarak kompleks oluştururlar. Bu kompleks  $Ca^{2+}$  (kalsiyum) ve kalmodiline bağlı bir fosfataz olan kalsinörine bağlanır ve aktive T hücrelerinin nükleer faktörünün sitozolik formunun defosforile olmasını sağlayarak IL-2 geninin transkripsiyonunu engellemektedir [33]. Kalsinörin inhibitörü; adenopati, splenomegali ve biyobelirteçlerde (örn. çözümlü IL-2 reseptörü alfa [sIL-2Ralfa], çözümlü Fas ligandı, IL-10, IL-18 ve B12 vitamini) azalma sağlamaktadır. Siklosporin immün yetmezlik olmadan OİHA’da ve Evans sendromunda tam veya kısmi remisyon sağlamaktadır [34]. Siklosporin ile tedavi süresi en az üç ay uygulanmalı, tedaviye yanıt durumunda ise en az bir yıl tam dozda tedavi devam edilmelidir ve tedavi kesilmesi planlanırken doz çok yavaş azaltılmalıdır.

Diğer ilaçlarla etkileşime girmesi ve yan etkileri ve enfeksiyonlar dahil ilişkili komplikasyonları olması nedeniyle kan düzeyinin yakın izlenmesi gerekmektedir. Ek olarak, kalsinörin inhibitörlerinin (örn. takrolimus, siklosporin) uzun süreli kullanımı böbrek toksisitesine neden olmaktadır [34].

### **Rapamisin (Sirolimus)**

Rapamisin, memeli hedefini (mTOR) inhibe eden bir ilaç sınıfına ait, tolere edilebilir bir yan etki profiline sahip, immünosupresif ve antineoplastik bir ajandır. mTOR inhibitörleri, T ve B lenfositlerinde apoptozu indükler [12]. ALPS'li farelerde yapılan çalışmada DNT'leri, lenfadenopatiyi, splenomegaliyi ve otoantikörleri azaltmada etkili bir ajan olduğu gösterilmiştir [35].

### **Ritüksimab**

Ritüksimab, insan B hücrelerinde eksprese edilen CD20 molekülüne karşı bir monoklonal antikordur. Lenfoid malignitelerin, lenfoproliferatif hastalıkların ve romatolojik bozuklukların tedavisinde kullanılmaktadır. Ritüksimab infüzyonu ile ilişkili ani allerjik reaksiyonlar oldukça yaygındır ve sonraki infüzyonlarla sıklığı azalır [36]. Otoimmün sitopeni tedavisinde steroid, IVIG ve MMF tedavilerine yanıt vermeyen vakalarda ritüksimab tercih edilebilir. Çoğu hastada yüzey CD20'sini ifade etmeyen plazma hücreleri tarafından antijene özgü IgG üretildiğinden, mevcut antikörlerin düzeylerini önemli ölçüde azaltmaz [30]. Ancak bazı hastalarda hipogamaglobulinemi gelişebilir ve ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. Ritüksimab tedavisi ile beraber IVIG verilmesi gerekmektedir [31, 37]

### **Bortezomib**

Bortezomib, 26S proteazomunun bir inhibitörüdür. Bortezomibin dirençli otoimmün sitopenili çocuklarda değerli bir terapötik ajan olduğu gösterilmiştir [38].

### **Hematopoetik kök hücre nakli**

Hematopoietik kök hücre nakli (HKHN), ALPS için tek küratif tedavidir [39, 40]. Ancak tedavi sonrası riskleri iyi değerlendirilerek yapılmalıdır. Nakil ile tedavi

başarısı sağlanan hastalar olmakla beraber nakil reddi ve sepsis gelişen hastalar da bildirilmiştir [21].

### **Splenektomi**

Tedavilere dirençli otoimmün sitopenisi olan vakalarda splenektomi yapılabilir ancak ciddi enfeksiyon ve sepsis riskinden dolayı splenektominin son çare olarak düşünülmesi önerilmektedir [18, 41].

### **2.3.6. Prognoz**

Otoimmün lenfoproliferatif sendrom ve ALPS benzeri hastalarda, otoimmünite olan hastalarda, olmayanlara göre başlangıç ve tanı yaşı daha ileri bulunmuştur. Bu nedenle, otoimmünitesi olmayan ancak alt solunum yolu enfeksiyonları gibi diğer komplikasyonlarla seyreden hastalarda fenotip daha ağırdır. ALPS'li hastalarda en sık ölüm nedeni enfeksiyöz akciğer tutulumu olmuştur. Otoimmün hastalığı olan hastaların, daha hafif fenotip veya immünsüpresif ilaçlarla zamanında tedavi nedeniyle genel sağkalımı daha iyi görünmektedir [21]. Lenfoproliferasyon bulguları olan hastaların ilerleyen yaşlarda, bulgularının progrese olduğu da gösterilmiştir.

Splenektomi sonrası sitopeninin nüksetme olasılığının dört yılda yaklaşık %30 ve 20 yılda %70'i aştığı gözlenmiştir. Splenektomiden sonra anemide önemli bir azalma görülürken ( $p < 0.0001$ ), nötropeni veya trombositopeninin tekrarladığı görülmüştür [13]. Splenektomi sonrası sepsis nedeniyle mortalite bildirilmiştir.

Bir diğer önemli mortalite nedeni lenfomadır [13].

### **2.4. ALPS Benzeri Hastalıklar**

Otoimmün lenfoproliferatif sendrom benzeri bozukluklar, klinik olarak, ALPS ile benzer şekilde; splenomegali, lenfadenopati, otoimmünite görülürken, ALPS'den farklı olarak kronik viral, fungal ve bakteriyel enfeksiyonlar ile seyreden hastalıklar olarak tanımlanmıştır [42, 43].

*CTLA4* (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4) haployetmezliği ve *LRBA* (lipopolysaccharide responsive beige-like anchor protein) eksikliği, ALPS benzeri hastaların yaklaşık olarak yarısını kapsamaktadır [42].

Palmisani ve arkadaşları otoimmün lenfoproliferatif sendrom benzeri vakalar olarak tanımladığı vakaların hepsinde lenfoproliferasyon (lenfadenopati ve splenomegali veya hepatomegali veya üçü birlikte) ve otoimmün hemolitik anemi, immün trombositopenik purpura (ITP), otoimmün nötropeni veya çoklu sitopeni olan immün aracılı sitopeni olduğunu bildirmiştir [43].

Otoimmün lenfoproliferatif sendromdan farklı olarak organa özgü otoimmünite; *PIK3R1* (*Phosphoinositide-3-Kinase Regulatory Subunit 1*) veya *STAT1* GOF (*Signal Transducer and Activator of Transcription 1*) mutasyonu olan hastalarda otoimmün tiroidit [44, 45], *STK4* (*Serine/Threonine Kinase 4*) mutasyonu olan hastalarda otoimmün poliartrit [46], *XIAP*, *STAT3* GOF, *CTLA4*, *LRBA* ve *IL2RB* mutasyonu olan hastalarda otoimmün enteropati [47-52] ve *STAT1* GOF veya *LRBA* mutasyonu olan hastalarda otoimmün hepatit [45, 53] görülebilmektedir.

DNT hücrelerinde yükseklik ALPS benzeri hastalarda da görülebilir. Hafıza B hücrelerinin azalması ve transizyonel B hücrelerinin artması ALPS benzeri bozuklukların çoğunda ortak bir bulgudur. CD4/CD8 oranında azalma, naif T hücrelerinde azalma ve bellek ve efektör bellek T-hücresi popülasyonlarında artış ALPS benzeri hastalıklarda görülmektedir [42].

ALPS benzeri hastalıklardan *CARD11*, *PIK3CD* ve *PIK3R1* gen mutasyonları antikor eksikliği; *ITK* ve *STK4* gen mutasyonları kombine immün yetmezlik; *STAT1* ve *IL12RB1* gen mutasyonları etkene spesifik immün yetmezlik; *ADA2* (*Adenosine Deaminase 2*) ve *TNFAIP3* (*Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Protein 3*) gen mutasyonları otoinflamasyona neden olurlar. Diğerleri immüendisregülasyon ile giden immün yetmezlik fenotipine neden olurlar [42]. Aşağıda EBV ilişkili ALPS benzeri hastalıklardan bahsedilmiştir [42].

#### 2.4.1. EBV İlişkili ALPS Benzeri Hastalıklar

**PRKCD:** Otozomal dominant (LOF) kalıtılır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, SLE, antifosfolipid sendrom, vaskülit, cilt lezyonları ve diyare ile seyretmektedir. DNT normal, IgG düşük, normal veya yüksek olabilir, IgA normal, IgM normal veya yüksektir. T hücre alt grubu normal, B hücre lenfositoz, NK hücreleri düşük ya da normaldir. Tedavide hidroksiklorokin, trimethoprim-sulfametaksazol (TMP-SMX), IVIG, steroid, rapamisin, rituksimab ve MMF verilebilir.

**MAGTI:** X'e bağlı kalıtılır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, Hodgkin lenfoma ve non-Hodgkin lenfoma, nörolojik bulgular ile seyreder. DNT, vitamin B12, sFASL, IL-10 normal; IgG, IgA, IgM düşük ya da normal olabilir. CD4 lenfopeni görülür, CD4/CD8 oranı düşüktür. B lenfopeni, NK hücre düşüklüğü vardır. Tedavide IVIG, ritüksimab, oral magnezyum ve gansiklovir verilir.

**XIAP:** X'e bağlı kalıtılır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, otoimmün enteropati, aHLH, inflamatuvar barsak hastalığı (İBH), cilt lezyonları, jüvenil idiyopatik artrit (JİA), granülamatöz lenfositik interstisyel akciğer hastalığı (GLILD) görölmektedir. IgG, IgA, IgM düşük ya da normal olabilir. CD4/CD8 oranı düşük, memory T hücresi yüksek, B lenfopeni mevcuttur. NK hücresi düşük veya normaldir. Tedavide steroid, immunsupresif ilaçlar, adalimumab/inflksimab verilebilir ve hematopoetik kök hücre nakli yapılabilir.

**SH2DIA:** X'e bağlı kalıtılır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, non-Hodgkin lenfoma, aHLH, nörolojik değişiklikler, cilt lezyonları, diyare ile seyreder. IgG ve IgA düşük, IgM normal veya yüksektir. CD4/CD8 oranı düşüktür. NK hücresi düşüktür. Tedavide steroid, immunsupresif ilaçlar verilebilir veya hematopoetik kök hücre nakli yapılabilir.

**RASGRP1:** Otozomal resesif kalıtılır, lenfoproliferasyon, sitopeni, Hodgkin lenfoma, cilt lezyonları ve diyare ile seyreder. DNT normaldir. IgG düzeyi değişkendir. IgA ve IgM normal veya yüksektir. CD4 lenfopeni görülür, CD4/CD8 oranı düşüktür. NK hücre sayısı normaldir. Tedavide steroid ve IVIG verilir. HKHN yapılabilir.

**TNFRSF9:** Otozomal resesif kalıtılır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, Hodgkin lenfoma, HLH görülür. IgG ve IgA düşük ve IgM normaldir. Regülatör T hücre sayısı düşüktür. NK hücre sayısı düşüktür. Tedavide IVIG, ritüksimab verilir veya HKHN yapılabilir.

**PIK3CD:** Otozomal dominant (GOF) kalıtılır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, SLE, Hodgkin lenfoma, cilt lezyonları, diyare, aHLH ile seyreder. DNT normal veya yüksektir. IgG ve IgA düşük veya normaldir. IgM yüksektir. CD4 lenfopeni görülür. NK hücresi normaldir. Tedavide steroid, mTOR inhibitörü, IVIG ve leniolisib verilebilir. HKHN yapılabilir.



**PIK3R1:** Otozomal dominant (GOF) kalıttır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, vaskülit, non-Hodgkin lenfoma, Hodgkin lenfoma, cilt lezyonları, diyare görülebilir. IgG ve IgA düşüktür. IgM normal veya yüksektir. CD4/CD8 oranı düşüktür. NK hücresi normaldir. Tedavide steroid, mTOR inhibitörü, IVIG ve leniolisib verilebilir. HKHN yapılabilir.

**ITK:** Otozomal resesif kalıttır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, vitiligo, Hodgkin lenfoma, cilt lezyonları, intertisyel akciğer hastalığı, işitme kaybı ve aHLH ile seyreder. DNT, vitamin B12 yüksektir. IgG ve IgA düşük veya normaldir. IgM değişkendir. CD4 lenfopeni, CD8 düşüklüğü vardır. NK hücresi normaldir. Tedavide steroid, ritüksimab, foskarnet veya gansiklovir verilir.

**STK4:** Otozomal resesif kalıttır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, poliartrit, NHL, Hodgkin lenfoma, cilt lezyonları, işitme kaybı, nefropati, kardiyomyopati görülür. DNT yüksektir. IgG ve IgM değişkendir. IgA normal veya yüksektir. CD3 lenfopeni vardır. NK hücresi düşüktür. Tedavide steroid, IVIG ve ritüksimab verilir. HKHN yapılabilir.

#### 2.4.2. Regülatör T Hücre (Treg) Bozuklukları

**STAT3:** Otozomal dominant (GOF) kalıttır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, Hodgkin lenfoma, interstisyel akciğer hastalığı, inflamatuvar barsak hastalığı, cilt lezyonları, karaciğer hastalığı ve artrit görülebilir. DNT ve vitamin B12 normal veya yüksektir. sFASL yüksektir. IgG düşük veya normaldir. IgA ve IgM değişkendir. CD3 lenfopenisi vardır. Naïve CD4+ hücreler düşüktür. Hafıza CD4+ hücreler yüksektir. TH17 hücreler düşüktür. Treg hücreler normal veya düşüktür. Naïve B hücreler yüksektir. NK hücreler düşüktür. Tedavide steroid, IVIG, ritüksimab, tosilizumab ve ruksolitinib seçilebilir. HKHN yapılabilir.

**CTLA4:** Otozomal dominant kalıttır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, Hodgkin lenfoma, NHL, mide kanseri, inflamatuvar barsak hastalığı, cilt lezyonları, lenfoid organlar haricinde lenfositik infiltrasyon, GLILD, nörolojik değişiklik, artrit görülebilir. DNT normal veya yüksektir. Vitamin B12 normal ve sFASL normaldir. IgG, IgA ve IgM düşük veya normaldir. CD3 lenfopenisi vardır. Naïve CD4+ hücreler düşüktür. Treg hücreler normal veya düşüktür. NK hücreleri düşük veya normaldir.

Tedavide IVIG, MMF, abatacept, sirolimus ve ritüksimab seçilebilir. HKHN yapılabilir.

**LRBA:** Otozomal resesif kalıttır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, Hodgkin lenfoma, NHL, inflamatuvar barsak hastalığı, cilt lezyonları, lenfoid organlar haricinde lenfositik infiltrasyon, GLILD, nörolojik değişiklikler ve artrit görülebilir. DNT ve sFASL normal veya yüksektir. Vitamin B12 ve IL-10 normaldir. IgG, IgA ve IgM düşük veya normaldir. CD3 lenfopenisi vardır. Naïve CD4+ hücreler düşüktür. Treg hücreler normal veya düşüktür. NK hücresi düşük veya normaldir. Tedavide steroid, IVIG, abatacept, sirolimus ve ritüksimab seçilebilir. HKHN yapılabilir.

**CD25:** Otozomal resesif kalıttır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, cilt lezyonları, diyare ve poliendokrinopati görülebilir. DNT normal veya yüksektir. IgG ve IgM normaldir. IgA normal veya yüksektir. CD3/CD4 oranı azalmıştır. Treg hücreler normaldir. NK hücresi düşüktür. Naïve T hücreler düşük, hafıza T ve naïve B hücreler yüksektir. Tedavide steroid, IVIG, immunsupresif ilaçlar ve ritüksimab seçilebilir. HKHN yapılabilir.

**CD122:** Otozomal resesif kalıttır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, vaskülit, cilt lezyonları, diyare ve hepatit görülebilir. IgG, IgA ve IgM yüksektir. CD8+ hücreler normal veya düşüktür. Treg hücreler düşüktür. NK hücresi yüksektir. Tedavide ritüksimab ve sirolimus seçilebilir. HKHN yapılabilir.

**DEF6:** Otozomal resesif kalıttır. Lenfoproliferasyon, EBV ilişkili lenfoproliferasyon, sitopeni, İBH, kardiyomyopati ve artrit görülebilir. IgG, IgA ve IgM normaldir. CD3/CD4 oranı azalmıştır. Naïve CD4+ hücreler düşüktür. Treg hücreler normal, düşük veya yüksektir. NK hücresi normaldir. Tedavide abatacept verilir.

### 2.4.3. ALPS Benzeri Hastalıklarla İlişkili Diğer Genetik Bozukluklar

**TET2:** Otozomal resesif kalıttır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, NHL, Hodgkin lenfoma, karaciğer disfonksiyonu görülür. DNT yüksektir. sFASL ılımlı yüksektir. IL-10 yüksektir. IgG yüksek, IgA ve IgM düşüktür. NK hücresi normaldir. Tedavide steroid, IVIG ve ritüksimab seçilebilir. HKHN yapılabilir.

**TPP2:** Otozomal resesif kalıttır. Lenfoproliferasyon, sitopeni ve cilt lezyonları görülür. DNT, vitamin B12, sFASL normaldir. IgG ve IgM yüksek, IgA normaldir.

Naïve CD4+ hücreler düşüktür. Tedavide steroid, IVIG, MMF, ritüksimab ve sirolimus seçilebilir. HKHN yapılabilir.

**STAT1:** Otozomal dominant (GOF) kalıtlıdır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, SLE, hepatit, cilt lezyonları, diyare, akciğer hastalığı görülür. IgG ve IgA normal veya yüksek, IgM düşük veya normaldir. IL17 artmıştır. Tedavide steroid, ruksolitinib, sulbaktam ve itrakonazol verilir. HKHN yapılabilir.

**IL12RB1:** Otozomal resesif kalıtlıdır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, tekrarlayan leishmania, adenit, cilt lezyonları ve vaskülit görülebilir. DNT normal veya yüksektir. Vitamin B12 yüksektir. sFASL düşüktür. IL-10 yüksektir. IgG yüksek, IgA ve IgM normal veya yüksektir. Tedavide steroid, liposomal amfoterisin B ve miltefosin verilir.

**ADA2:** Otozomal resesif kalıtlıdır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, cilt lezyonları, nörolojik değişiklikler, stomatit, artrit ve vaskülit görülebilir. DNT normal veya yüksektir. Vitamin B12 ılımlı yüksektir. IL-10 yüksektir. IgG ve IgA normal, IgM düşük veya normaldir. Naïve CD4+ T hücreler yüksektir. Hafıza CD4+ hücreler düşüktür. Naïve B hücresi yüksek veya normaldir. ADA2 enzim aktivitesi düşüktür. Tedavide steroid, IVIG, MMF, sirolimus ve etanersept seçilebilir. HKHN yapılabilir.

**TNFAIP3:** Otozomal dominant (LOF) kalıtlıdır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, cilt lezyonları, diyare, karaciğer disfonksiyonu, ülser ve artrit görülebilir. DNT normal veya yüksektir. Vitamin B12 normaldir. sFASL, IL-10 yüksektir. IgG ve IgM normal veya yüksek, IgA düşük veya yüksektir. Naïve T hücreleri düşük, hafıza T hücresi yüksektir. T helper 1 düşüktür. NK normal veya düşüktür. TNFAIP3 ekspresyonu düşüktür. Tedavide steroid, IVIG ve anakinra verilir.

**NRAS/KRAS (RALD):** Somatik mutasyon ile kalıtlıdır. Lenfoproliferasyon, sitopeni, B hücreli lenfoma, artralji, perikardit, İBH, cilt lezyonları görülür. DNT normal veya yüksektir. sFASL, IL-10, IgG, IgM ve IgA normal veya yüksektir. Monositoz olur. Tedavide steroid, IVIG, sirolimus, rapamisin veya hidroksiklorokin verilebilir.

**CARD11:** Otozomal dominant (GOF) kalıtlıdır, lenfoproliferasyon, sitopeni, B hücreli lenfoma, cilt lezyonları ve HLH görülebilir. DNT normal ve yüksektir. IgG normal veya yüksek, IgA düşük veya normal ve IgM normaldir. Tedavide steroid, sirolimus, IVIG veya ritüksimab verilebilir. HKHN yapılabilir.

**Tablo 2.4.** ALPS ve ALPS benzeri hastalıkların özellikleri. [3] numaralı kaynaktan uyarlanmıştır.

	ALPS	Ortak Bulgular	ALPS-benzeri
<b>Klinik bulgular</b>	Rekürren sitopeni	Lenfadenopati Splenomegali Otoimmünite	Kronik viral, fungal ve bakteriyel enfeksiyonlar
<b>Laboratuvar bulguları</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DNT yüksek</li> <li>• sFASL, vitamin B12, IL10 yüksek</li> <li>• IgG ve IgA yüksek, IgM düşük</li> </ul>	Memory B hücre lenfopenisi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DNT normal veya hafif yüksek</li> <li>• sFASL, vitB12, IL-10 normal veya hafif yüksek</li> <li>• IgG, IgA düşük, IgM yüksek</li> <li>• Antikor yanıtları düşük</li> </ul>
<b>Histolojik bulgular</b>	Lenf nodlarında parakortikal alanda DNT ekspansiyonu görülür		Lenfoid organlar dışında lenfositik infiltrasyon; gut, akciğer veya beyin. (Özellikle <i>LRBA</i> ve <i>CTLA4</i> defektlerinde)
<b>Genetik</b>	<i>FAS, FASLG, FADD, Caspase10, Caspase8</i>		<p>Doğuştan hatalı immün fenotip: <i>NRAS, KRAS</i></p> <p>EBV ilişkili: <i>PRKCD, MAGT1</i></p> <p>Regulator T hücre defekti: <i>STAT3 GOF, CTLA4, LRBA</i></p> <p>Kombine immünyetmezlik: <i>ITK, STK4</i></p> <p>Etkene spesifik immün yetmezlik: <i>STAT1 GOF, IL12LRB1</i></p> <p>Otoinflamasyon: <i>ADA2</i></p> <p>Diğer: <i>TET2</i></p>

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma ile Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmunoloji Bilim Dalına otoimmün lenfoproliferatif sendrom düşündürülen bulgular ile başvuran hastaların klinik, laboratuvar ve patolojik bulgularını incelemeyi ve hastaları ALPS tanısal kriterlerden biri olan in vitro apoptoz ile değerlendirmeyi amaçladık. Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Çalışmalar Etik Kurulu'ndan GO 22/37 proje numarası ile 01/03/2022 tarihinde onay alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubundan yazılı onam alınmıştır. Çalışmamıza Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 20043 proje numarası ile destek verilmiştir.

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmunoloji Bilim Dalında, Şubat 2022 ile Ocak 2023 tarihleri arasında altı aydan uzun süreli enfeksiyon ve malignite ile açıklanamayan lenfadenopati ve/veya splenomegali, sitopeni, immüdisregülasyon ile ilişkili olduğu düşünülen birden fazla otoimmün hastalığı olan veya vitamin B12 yüksekliği nedeniyle başvuran hastalardan akım sitometride double negatif T hücre oranı %2.5'in üzerinde olan çocukluk ve erişkin yaş grubunda ALPS [3] ve ALPS benzeri hastalık [42, 43] tanımına uyan toplam 20 hasta dahil edildi. Hastaların bilgileri hasta dosyalarından ve hastane elektronik bilgi kayıt sisteminden kaydedildi.

Hastaların demografik özellikleri (yaş, şikayet yaşı, tanı yaşı, cinsiyeti, akrabalık olup olmadığı), klinik özellikleri (şikayeti, lenfoproliferasyon, otoimmünite, enfeksiyon, malignite ve alerji bulguları), laboratuvar bulguları (hemoglobin, lökosit, lenfosit, nötrofil, eozinofil, trombosit sayıları, akut faz yanıtları (ESR, CRP), böbrek fonksiyon testleri (kreatinin, kan üre azotu), karaciğer fonksiyon testleri (ALT, AST, GGT, ALP), immünglobulinler (IgG, IgM, IgA, total IgE), lenfosit alt grupları, antikor yanıtları (anti A/B, anti HBs), serum *DNT*, serum vitamin B12, B hücre ve T hücre alt grupları, patoloji sonucu olan hastaların histopatolojik bulguları, genetik sonuçları ve tedavileri değerlendirildi.

Hastaların immünglobulin düzeyleri, lenfosit sayısı ve T ve B hücre alt grupları değerlendirilirken yaşa göre normal değerler temel alındı [54-57]. Mutlak nötrofil sayısının  $1500/\text{mm}^3$ 'ten düşük olması nötropeni, mutlak trombosit sayısının

150000/mm<sup>3</sup>'ten düşük olması trombositopeni, mutlak eozinofil sayısının 500/mm<sup>3</sup>'ün üzerinde olması ise eozinofili olarak tanımlandı.

Malign veya enfeksiyon nedenli olmayan, altı aydan uzun süreli mevcut olan lenfoproliferasyon (splenomegali, hepatomegali ve/veya kronik benign lenfadenopati), otoimmün sitopenilerin de eşlik edebildiği FAS aracılı apoptozun bozulduğu durumlar ve ALPS tanı kriterlerini karşılayan hastalar otoimmün lenfoproliferatif sendrom olarak tanımlanmıştır. Lenfoproliferasyon ve otoimmün sitopeni bulguları olan, genetik olarak tanımlanamayan hastaların çoğunluğu ALPS tanı kriterlerini karşılamayabilir. Tanı kriterlerini karşılamayan ancak otoimmün lenfoproliferatif hastalığı olan hastalar ALPS fenotipi veya ALPS benzeri hastalık olarak tanımlanmıştır [21].

Hasta grubu ve 20 sağlıklı kontrol in vitro apoptoz testi ile değerlendirildi.

### 3.1. In Vitro Apoptoz Test Metodu:

1. Kontrol bireylerinden ve hastalardan periferik kan mononükleer (PKMH) hücrelerinin izolasyonu için:

- a) 5 cc heparinize periferik kan örneği alındı.
- b) 15 ml deney tüpü içine 2.5 ml Histopak–Ficoll eklendi.
- c) Tüp 45 derece eğimli tutularak kan Histopak-Ficoll üzerine yayıldı.
- d) Oda ısısında 2000 rpm x 30 dakika santrifüj edildi ve santrifüjün yumuşak geçişle durdurulması ayarlandı.

e) Histopak-Ficoll üzerinde toplanan mononükleer hücreler pipet yardımıyla toplanarak boş deney tüpüne alındı. Toplama işlemi sırasında Histopak-Ficoll almamaya dikkat edildi.

f) Toplanan hücreler üzerine 3 cc RPMI-1640 eklenip oda ısısında 2000 rpm x 30 dakika santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırılıp, %10 Fetal Bovine Serum, %1 L-Glutamin ve %1 Penisilin/Streptomisin içeren RPMI-1640 kültür medyasında homojenize edildi.

g) Homojenize edilen hücreler 5 kat sulandırılarak *counter*'de saydırıldı.

2. Kontrol bireyleri ve hastaların PKMH'lerinde apoptoz indüksiyonu için:

- a) 5x 10<sup>5</sup> hücre/ml olacak şekilde falkon tüplerine PKMH hücreleri eklendi.

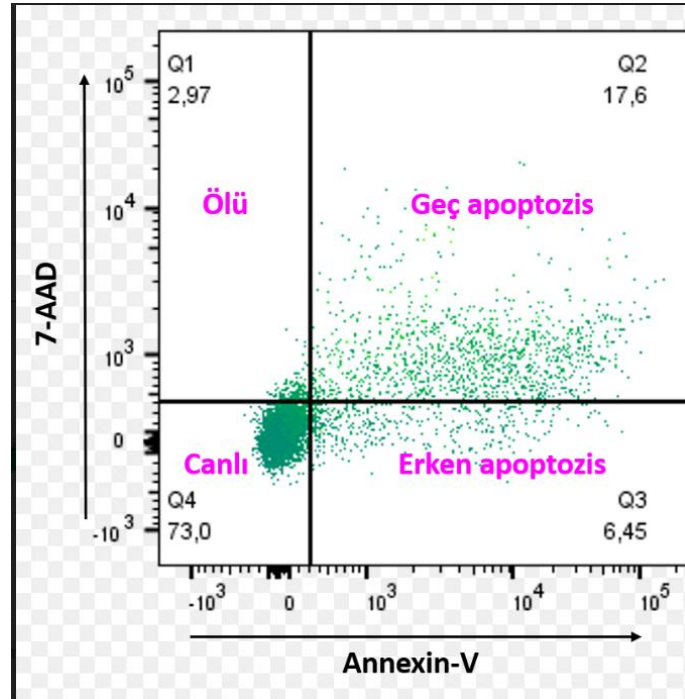
b) Ayrı ayrı tüplerde olacak şekilde, birinci tüp uyarılmamış, ikinci tüp 1 µg/ml TNF ile uyarım yapılan hücreler ve üçüncü tüp de 1 µg/ml FASL ile uyarım yapılan hücreler 48 saat 37°C, %5 CO2 içeren etüvde inkübe edildi.

c) 48 saat sonra hücreler etüvden alınarak 2 ml *phosphate buffered saline* (PBS) ile yıkandı.

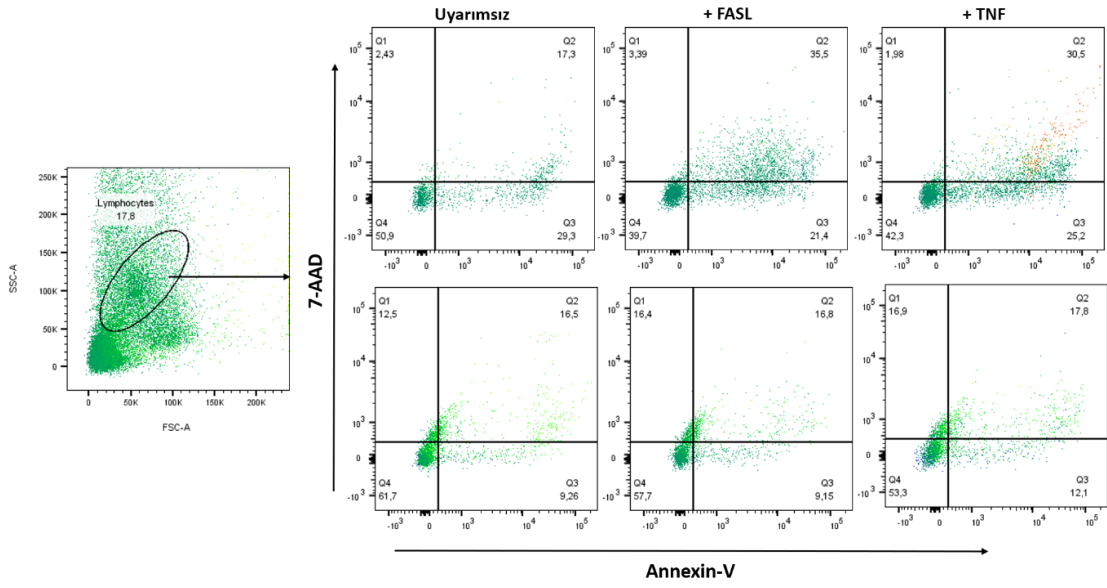
d) Yıkama sonrası hücreler 5 µl Annexin V ve 5 µl 7AAD boyası ile işaretlenip oda ısısında karanlık koşullarda 15 dakika inkübe edildi.

e) İnkübasyon sonrası hücelere 300 µl PBS eklenerek akım sitometri cihazında okuma yapıldı.

Hücre membranının iç yüzeyinde bulunan fosfotidilserin, uyarı ile hücre iç yüzeyden dış yüzeye doğru yer değiştirir. Annexin-V, fosfotidilserin ile konjugasyon oluşturur. Hücre membranının korunduğu bu dönem **erken evre** olarak adlandırılır. Apoptoz süreci ilerledikçe hücre membran bütünlüğü bozulur ve DNA'ya bağlanan 7AAD boyası hücre nükleusuna ulaşabilir. Nükleer membranın parçalandığı bu döneme de **geç evre** adı verilir (Şekil 3.1). Şekil 3.2'de gösterildiği gibi hücre FASL ve TNF ile uyarıldığında erken evrede Annexin-V ile boyanma olduğu, geç evrede ise Annexin-V ve 7-AAD ile boyanmanın olduğu gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Hücre apoptozunun evreleri ve Annexin-V ve 7-AAD ile gösterilmesi



**Şekil 3.2.** FASL ve TNF ile uyarımı ile apoptozun erken ve geç evreleri

### 3.2. İstatistiksel Analiz

İstatistik analizlerde SPSS 23.0 programının kullanıldı. Tanımlayıcı bilgiler sayı ve yüzde şeklinde verildi. Sayısal değişkenler normal dağılıyorsa ortalama ve standart sapma; normal dağılmıyorsa ortanca ve çeyrekler arası olarak ifade edildi. Normal dağılan verilerde 2'li grup karşılaştırmalarında bağımsız değişken t testi, 3'lü grup karşılaştırmalarında ise one-way Anova testi kullanıldı. Gerekli durumlarda post Hoc analizler yapıldı. Değişkenler normal dağılmıyorsa 2'li grup kıyaslamalarında Mann Whitney U testi, 3'lü grup karşılaştırmalarında ise Kruskal Wallis testi ve Bonferroni düzeltmesi kullanıldı. p 0.05 değeri anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Bilgiler

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmunoloji Bilim Dalında, Şubat 2022 ile Ocak 2023 tarihleri arasında altı aydan uzun süreli enfeksiyon ve malignite ile açıklanamayan lenfadenopati ve/veya splenomegali, sitopeni, immüdisregülasyon ile ilişkili olduğu düşünülen birden fazla otoimmün hastalığı olan veya vitamin B12 yüksekliği nedeniyle başvuran hastalardan akım sitometride double negatif T hücre oranı %2,5'in üzerinde olan çocukluk ve erişkin yaş grubunda toplam 20 hasta dahil edildi. Yaş ve cinsiyet uyumlu 20 sağlıklı kontrol seçildi.

Çalışmaya dahil edilen 20 hastanın %70'i (n= 14) erkekti. Hasta grubunda ortalama yaş 11 yıl, en küçük hasta 2.5 yaşında, en büyük hasta 37 yaşında idi. Ortanca şikayet başlama yaşı 5.5 yıl (2 günlük ve 29 yaş). Ortanca tanı yaşı 8.25 yıl (1-36 yıl) idi.

Hastaların %25'inin anne-babası arasında akrabalık öyküsü mevcuttu (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1.** Hastaların demografik ve klinik özellikleri

Hasta sayısı (n)	20
Yaş, ortalama (çeyreklerarası) (min-max)	11 yıl (IQR: 6.25-14 yıl) (2.5 yıl – 37 yıl)
Semptom yaşı, ortalama (çeyreklerarası) (min-max)	5.5 yıl (IQR: 2.12-8.75 yıl) (0 – 29 yıl)
Tanı yaşı, ortalama (çeyreklerarası) (min-max)	8.25 yıl (IQR:3.62-13.5 yıl) (1 yıl – 36 yıl)
Cinsiyet (erkek) % (n)	%70 (14)
Akrabalık öyküsü % (n)	%25 (5)
Başvuru bulguları % (n)	
Otoimmünite	%75 (15)
Lenfoproliferasyon	%60 (12)
Enfeksiyon	%35 (7)
Alerjik hastalık	%10 (2)
Malignite	-

## 4.2. Klinik Bulgular

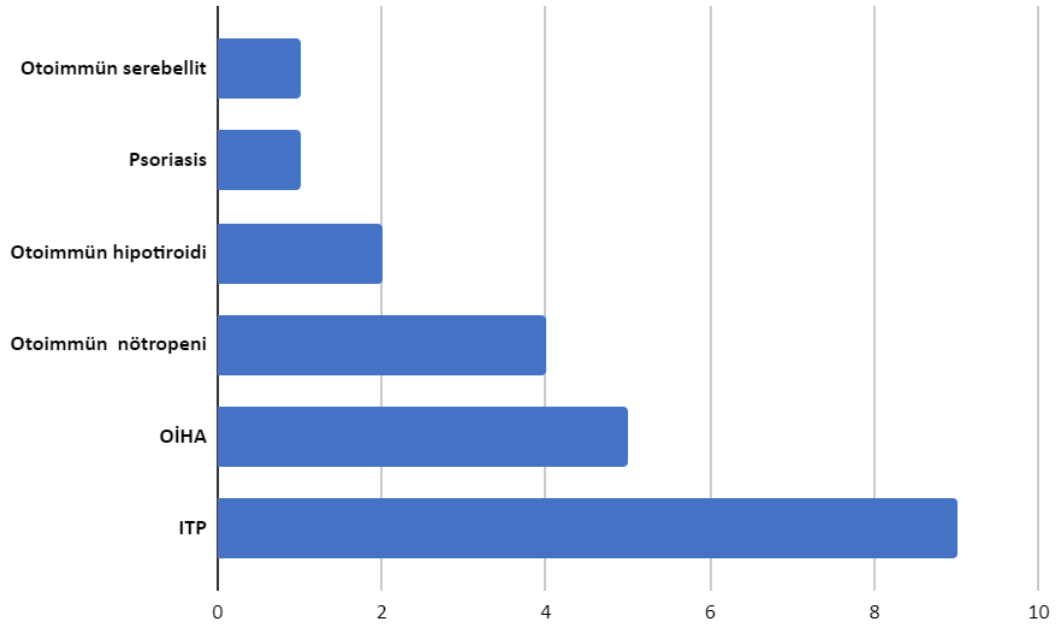
Kliniğe başvuru nedeni olarak hastaların %75'inde otoimmünite bulguları, %60'ında lenfoproliferasyon, %35'inde enfeksiyon, %10'unda allerjik hastalık bulunuyordu. Çalışmaya dahil edilen 20 hastanın hiçbirinde malignite izlenmedi (Tablo 4.1). Hastaların 13'ünde (%65) iki veya daha fazla bulgu biraradaydı. En fazla birlikte görülen bulgular trombositopeni ve hepatosplenomegali idi.

Çalışmaya dahil edilen 20 hastanın 15'inde otoimmün bulgular mevcuttu. Bu bulgulardan en sık görülenler otoimmün trombositopeni (n=9), daha sonra sırayla otoimmün hemolitik anemi (n=5), otoimmün nötropeni (n=4), otoimmün hipotiroidi (n=2), psöriazis (n=1) ve otoimmün serebellittir (n=1) (Şekil 4.1). Hastalardan dokuzunda (9/20, %45) 2 veya daha fazla otoimmün bulgu biraradaydı. Hastalardan ikisinde (2/20, %10) 3 veya daha fazla otoimmün bulgu mevcuttu.

Çalışmaya dahil edilen 20 hastanın 12'sinde lenfoproliferasyon bulguları mevcuttu. Hastaların %50'sinde splenomegali (n=10), %40'ında hepatomegali (n=8), %35'inde lenfadenopati (n=7) görüldü. Yedi hastada (%35) hepatomegali ve splenomegali, altı hastada (%30) splenomegali ve lenfadenopati; dört hastada (%20) hepatomegali ve lenfadenopati biraradaydı (Şekil 4.2).

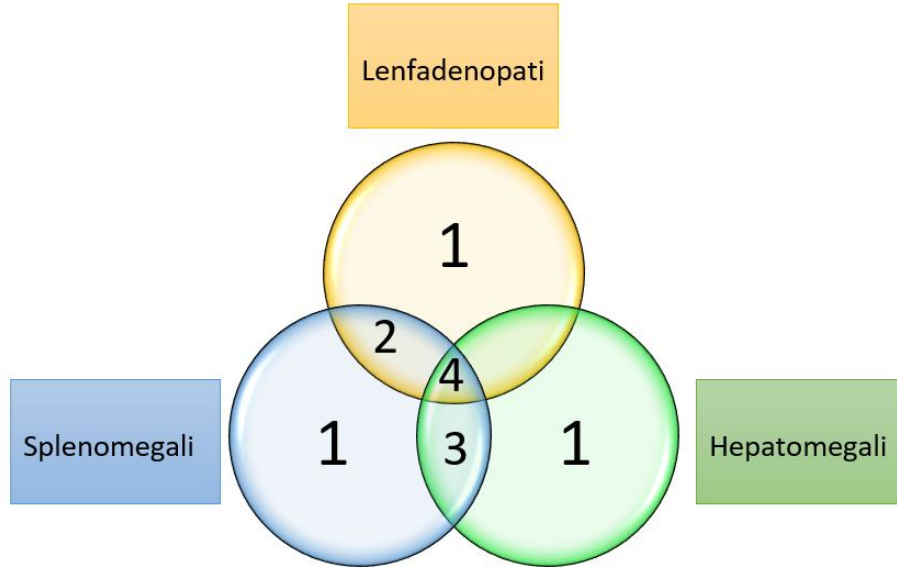
Çalışmaya dahil edilen 20 hastanın 10'unda enfeksiyon öyküsü mevcuttu. En sık görülen enfeksiyon tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar (bronşit, pnömoni, sinüzit) (n=6); daha sonra sırayla tekrarlayan otit (n=2), varisella enfeksiyonu (n=2), ishal (n=2), zona enfeksiyonu (n=1) ve onikomikoz (n=1) görüldü. Enfeksiyon etkeni olarak saptanan mikroorganizmalar arasında *CMV* ve *EBV*, balgam kültüründe *metisiline dirençli Stafilokok aureus (MRSA)* ve *candida albicans* mevcuttu.

Çalışmaya dahil edilen 20 hastadan 3'ünde allerjik semptomlar görüldü. Allerjik hastalıklar arasında astım (n=1), atopik dermatit (n=1), ve mevsimsel allerjik rinit ve kedi tüyü ve polen alerjisi (n=1) mevcuttu.



**Şekil 4.1.** Hastalarda mevcut otoimmün hastalıkların dağılımı

OİHA: Otoimmün hemolitik anemi, ITP: İmmün trombositopenik purpura.



**Şekil 4.2.** Hastalarda mevcut lenfoproliferatif bulguların dağılımı

### 4.3. Laboratuvar Bulguları

Takip edilen hastaların tam kan sayımı incelemesindeki ortalama hemoglobin değeri 12.1 g/dL (3.2-17.8 g/dL) olarak tespit edildi. Solukluk ve halsizlik şikayeti olup fizik muayenesinde hepatomegali, splenomegali ve lenfadenopati olan 5 numaralı hastada pansitopeni izlendi. Yirmi hastanın lökosit değeri ortancası 8.085/mm<sup>3</sup> (800-16.700) olarak bulundu. Bakılan lenfosit değeri ortancası 3.050/mm<sup>3</sup> (170-11.120) idi. Dört hastada lenfopeni, iki hastada lenfositoz vardı. Nötrofil değeri ortancası 3.350/mm<sup>3</sup> (500-12.100) idi. Beş hastada nötropeni mevcuttu. Ortanca eozinofil değerinin 100/mm<sup>3</sup> (0-500) ve ortalama trombosit değeri ise 130.000/mm<sup>3</sup> (9.000-702.000) olarak bulundu ve 10 hastada trombositopeni mevcuttu.

Hastalarda akut faz yanıtını değerlendirmek üzere CRP ve ESR değerlendirildi; hastaların hiçbirinde anlamlı yükseklik saptanmadı. Tüm hastaların karaciğer fonksiyon testleri ve böbrek fonksiyon testleri normal aralıktaydı.

Hastaların tamamının IgG, IgM ve IgA değerlerine ve 17 hastanın IgE değerine ulaşıldı ve yaşa uygun referans aralığına göre değerlendirildi (Tablo 4.2). Hastaların ortalama IgG değeri 926.5 mg/dl (366-2.710) olarak tespit edildi. IgG değeri hastaların 6'sında (%30) düşük, 13'ünde (%65) normaldi. Otoimmün lenfoproliferatif sendrom tanı kriterlerinin ikincil destekleyici kriterleri arasında yer alan IgG yüksekliği yalnızca bir hastada (%5) görüldü. Hastaların ortalama IgM değeri 110.2 mg/dl (9.77-480) olarak bulundu. IgM değerinin hastaların 7'sinde (%35) düşük, 12'sinde (%60) normal, birinde (%5) ise yüksek olduğu tespit edildi. Ortalama IgA değeri 61 mg/dl (<6.7-405) olarak bulundu. IgA değerinin hastaların 9'unda (%45) düşük, 10'unda (%50) normal, birinde (%5) ise yüksek olduğu görüldü.

On yedi hastanın serum IgE düzeyi değerlendirilmişti. Ortalama IgE değeri 28.4 IU/ml (0-1.300) olarak tespit edildi. Hastaların 6'sında (%35.2) 5 IU/ml'nin altında idi. Sadece bir hastanın serum IgE değerinin 150 IU/ml'nin üzerinde (199 IU/ml) olduğu görüldü.

**Tablo 4.2.** Hastaların tam kan sayımı ve immunoglobulin incelemesi

	Ortanca değer	IQR	Minimum değer	Maksimum değer
Hemoglobin (gr/dL)	12.1	3.72	3.2	17.8
Lökosit /mm <sup>3</sup>	8.085	4.815	800	16.700
Lenfosit / mm <sup>3</sup>	3.050	2.445	170	11.120
Nötrofil / mm <sup>3</sup>	3.350	2.910	500	12.100
Eosinofil / mm <sup>3</sup>	100	235	0	500
Trombosit / mm <sup>3</sup>	130.000	259.250	9.000	702.000
IgG mg/dL	926.5	486.5	366	2.710
IgM mg/dL	110.2	103.9	9.7	480
IgA mg/dL	61	131	6.7	405
IgE mg/dL	28.4	77.4	0	1.300

Hastaların tamamının lenfosit alt grup değerlendirmesine ulaşıldı. Hastaların lenfosit alt grup hücre sayıları değerlendirilirken o gün içinde bakılan tam kan sayımındaki mutlak lenfosit sayıları kullanıldı. Hastaların lenfosit alt grup yüzdeleri Tablo 4.3'te verilmiştir. En sık görülen lenfosit alt grup değişiklikleri CD19+ düşüklüğü (%35), CD8+ yüksekliği (%30) ve CD4+ (%30) düşüklüğü olarak bulunmuştur. Ortanca CD3+ lenfosit yüzdesi 79 (50-88) olarak tespit edildi. Yaşa göre CD3+ lenfosit yüzdesinin hastaların 2'sinde (%10) düşük, 11'inde (%55) normal, 7'sinde (%35) yüksek olduğu görüldü. Ortanca CD3+ hücre sayısının 2329/mm<sup>3</sup> (129/mm<sup>3</sup>-5490/mm<sup>3</sup>) olduğu görüldü. Ortanca CD4+ lenfosit yüzdesi 37 (12-59) olarak tespit edildi. Yaşa göre CD4+ lenfosit yüzdesinin hastaların 6'sında (%30) düşük, 12'sinde (%60) normal, 2'sinde (%10) yüksek olduğu görüldü. Ortanca CD4+ hücre sayısının 982 /mm<sup>3</sup> (66/mm<sup>3</sup>-3184/mm<sup>3</sup>) olduğu görüldü. Ortanca CD8+ lenfosit yüzdesi 31.5 (18-58) olarak tespit edildi. Yaşa göre CD8+ lenfosit yüzdesinin hastaların 6'sında (%30) yüksek, 14'ünde (%70) normal olduğu görüldü. Hastaların hiçbirinde CD8+ düşüklüğü görülmedi. Ortanca CD8+ hücre sayısının 905/mm<sup>3</sup> (56/mm<sup>3</sup>-3780/mm<sup>3</sup>) olduğu görüldü. Ortanca CD19+ lenfosit yüzdesi 14 (5-30) olarak tespit edildi. Yaşa göre CD19+ lenfosit yüzdesinin hastaların 7'sinde (%35) düşük, 11'inde (%55) normal, 2'sinde (%10) yüksek olduğu görüldü. Ortanca CD19+ hücre sayısının 312/mm<sup>3</sup> (34/mm<sup>3</sup>-3294/mm<sup>3</sup>) olduğu görüldü.

**Tablo 4.3.** Olası ALPS ve ALPS-benzeri özelliği olan hastaların immünolojik değerlendirmesi

Hasta No	Hemoglobin	Lökosit	MNS	MLS	Trombosit	IgG	IgM	IgA	Total IgE	CD3	CD4	CD8	CD16+56	CD19
1	<b>9.90</b>	10600	4500	5100	<b>10000</b>	852 (640-2010)	110 (52-297)	46.3 (44-244)	11.4	<b>79</b>	35	<b>34</b>	6	14
2	15.50	8900	4800	3000	<b>9000</b>	<b>734</b> <b>(913-1884)</b>	<b>68.90</b> <b>(88-322)</b>	<b>52.9</b> <b>(139-378)</b>	62	77	42	32	9	14
3	13.20	<b>16700</b>	12100	3300	330000	<b>587</b> (604-1941)	186 (71-235)	87.8 (26-296)	89.1	79	<b>12</b>	<b>54</b>	13	<b>8</b>
4	11.70	8300	3000	4200	241000	<b>2710</b> <b>(745-1804)</b>	<b>29.60</b> <b>(78-261)</b>	255 (57-282)	2.44	<b>83</b>	<b>23</b>	28	6	<b>9</b>
5	<b>3.20</b>	<b>800</b>	<b>580</b>	<b>170</b>	<b>49000</b>	1240 (913-1884)	153 (88-322)	6.67 <b>(139-378)</b>	4.29	76	39	33	<b>2</b>	20
6	<b>10.30</b>	6900	3300	2900	365000	1370 (745-1804)	<b>480</b> <b>(78-261)</b>	171 (57-282)	4.84	81	35	<b>41</b>	6	<b>11</b>
7	13.90	7900	3400	3500	414000	1050 (745-1804)	88.90 (78-261)	<b>42.3</b> <b>(57-282)</b>	28.4	72	41	23	13	<b>8</b>
8	11.70	<b>13910</b>	1610	<b>11120</b>	702000	1050 (604-1941)	123 (71-235)	118 (26-296)	78.1	<b>50</b>	29	18	-	30
9	14.60	4440	<b>1350</b>	1800	<b>10000</b>	1120 (907-1958)	<b>38.70</b> <b>(83-292)</b>	138 (96-465)	-	81	47	31	<b>2</b>	14
10	<b>9.20</b>	9300	4100	4700	159000	<b>366</b> <b>(605-1430)</b>	<b>32</b> <b>(66-228)</b>	<b>19</b> <b>(30-107)</b>	-	64	40	22	14	20
11	12.80	6200	2700	3100	<b>51000</b>	973 (745-1804)	146 (78-261)	60.2 (57-282)	70.8	<b>51</b>	34	23	17	<b>29</b>
12	12.30	6600	3400	2300	<b>50000</b>	797 (764-2134)	192 (69-387)	146 (70-303)	49.1	<b>83</b>	41	37	5	<b>11</b>
13	15.20	8270	5330	1720	<b>43000</b>	<b>511</b> <b>(876-2197)</b>	<b>43.20</b> <b>(75-448)</b>	<b>61.8</b> <b>(100-447)</b>	-	79	<b>26</b>	<b>40</b>	5	14
14	13.20	9000	4000	3700	309000	<b>583</b> <b>(745-1804)</b>	<b>9.77</b> <b>(78-261)</b>	<b>11.4</b> <b>(57-282)</b>	1.14	<b>88</b>	<b>27</b>	<b>58</b>	6	<b>5</b>
15	<b>9.90</b>	<b>2000</b>	<b>500</b>	<b>1200</b>	<b>36000</b>	<b>720</b> <b>(764-2134)</b>	81 (69-387)	<b>50</b> <b>(70-303)</b>	19.50	<b>84</b>	<b>59</b>	20	<b>3</b>	13
16	<b>7.80</b>	4400	2600	<b>1300</b>	261000	1460 (835-2094)	140 (47-484)	269 (67-433)	108	68	45	20	4	<b>26</b>

**Tablo 4.3. (Devam)** Olası ALPS ve ALPS-benzeri özelliği olan hastaların immünolojik değerlendirmesi

Hasta No	Hemoglobin	Lökosit	MNS	MLS	Trombosit	IgG	IgM	IgA	Total IgE	CD3	CD4	CD8	CD16+56	CD19
17	12.60	8800	4400	3400	162000	880 (842-1943)	119 (54-392)	<b>25.2</b> <b>(62-390)</b>	84.8	<b>88</b>	50	35	<b>2</b>	9
18	11.90	<b>2700</b>	<b>500</b>	1600	217000	1630 (745-1804)	<b>59.70</b> <b>(78-261)</b>	<b>405</b> <b>(57-282)</b>	199	65	<b>23</b>	29	11	21
19	17.80	<b>11800</b>	3800	<b>7000</b>	<b>13000</b>	1120 (913-1884)	240 (88-322)	201 (139-378)	3.35	77	<b>21</b>	<b>54</b>	4	15
20	<b>10.90</b>	<b>1600</b>	<b>700</b>	<b>600</b>	<b>101000</b>	785 (764-2134)	110.5 (69-387)	<b>30.8</b> <b>(70-303)</b>	3.71	<b>86</b>	<b>51</b>	29	<b>3</b>	<b>10</b>

Hastaların antikor cevabı izohemaglutininlerinin ölçümü ve anti-Hbs ile değerlendirildi. Hastaların 10'unun anti-A ve anti-B titrasyonu bilinmekte idi. Bir hasta titrasyonunun 1/16'nın altında olduğu görüldü, 17 numaralı bu hastanın sık enfeksiyon ve dirençli mikroorganizmalar ile enfeksiyon öyküsünün olduğu bilinmektedir. Diğer hastaların izohemaglutinin titreleri normal bulundu. Çalışmaya dahil edilen hastaların 17'sinin anti-Hbs titresinin ölçülmüş olduğu görüldü. Bu hastalardan 10'nun (%58.8) titresi 10 mIU/mL'nin üzerindeydi. Yedi hastada anti-Hbs negatif bulundu.

Serum double negatif T hücre ( $CD3^+ TCR\alpha\beta^+ CD4^- CD8^-$ )  $CD3^+$  lenfositlerin %2.5'in üzeri olan hastalar çalışmaya dahil edildi. En yüksek DNT (%61), ITP tanısı ile izlenen 1 numaralı hastada görüldü. Tüm hastalarda ortalama DNT yüzdesi %11.9, ortanca değeri %7 (%2.5-%61) olarak izlendi.

Takip edilen hastaların tümünde, tedavi almaksızın serum vitamin B12 düzeyleri ölçüldü. Otoimmün lenfoproliferatif sendrom NIH 2010 revize tanı kriterlerine göre ikincil destekleyici kriterlerden olan serum vitamin B12 düzeyi yüksekliği 4 hastada (%20) izlendi. Bir hasta insidental saptanan vitamin B12 yükseklikliği nedeniyle izleme alınmıştır.

Hastaların %50'sinin (n=10) T hücre ve B hücre alt grupları analiz edildi. T hücre alt gruplarından en sık görülen değişiklikler sırasıyla efektör memory Th yüksekliği (%80), santral memory Tc düşüklüğü (%70), naïve Th düşüklüğü (%60), efektör memory Tc düşüklüğü (%60) ve TEMRA Th yüksekliği (%50) olarak sonuçlanmıştır. T hücre alt grup analizinde naïve Th hücre yüzdesinin hastaların 6'sında (%60) düşük, 4'ünde (%40) normal olduğu görüldü. Hastaların hiçbirinde naïve Th hücrelerde yükseklik saptanmadı. *Santral memory* Th yüzdesi hastaların 1'inde (%10) düşük, 7'sinde (%70) normal, 2'sinde (%20) ise yüksekti. *Efektör memory* Th hücre yüzdesinin hastaların 8'inde (%80) yüksek, 2'sinde (%20) normal olduğu tespit edildi. Hastaların hiçbirinde *efektör memory* Th hücre yüzdesi düşük değildi. TEMRA Th hücre yüzdesinin hastaların 1'inde (%10) düşük, 4'ünde (%40) normal, 5'inde (%50) ise yüksek olduğu görüldü. *Recent timik emigrant* (RTE) T hücreler hastaların 3'ünde (%30) düşük, 7'inde (%70) normaldi. Yaşa göre naïve T hücre yüzdesi değerlendirildiğinde 2'sinin (%20) düşük, 5'inin (%50) normal, 3'ünün (%30) yüksek olduğu görüldü. *Santral memory* T hücre yüzdesi değerlendirildiğinde



7'sinin (%70) düşük, 2'sinin (%20) normal, 1'inin (%10) yüksek olduğu görüldü. *Efektör memory* T hücre yüzdesi değerlendirildiğinde 6'sının (%60) düşük, 3'ünün (%30) normal, 1'inin (%10) yüksek olduğu görüldü. TEMRA T hücre yüzdesi hastaların 3'ünde (%30) düşük, 6'sında (%60) normal, 1'inde (%10) ise yüksek olduğu görüldü. Hastaların T hücre alt grup sayısal değerleri Tablo 4.4'de verilmiştir.

**Tablo 4.4.** Hastaların T hücre alt grupları

	CD4 +	Naive CD4 +	Santral memory CD4 +	Efektör memory CD4 +	TEMRA CD4 +	RTE	CD8 +	Naive CD8 +	Santral memory CD8 +	Efektör memoryC D8 +	TEMRA CD8 +
<b>Hasta 2</b>	1260	66.7	14.7	<b>16.4</b>	2.1	60 (31-81)	960	<b>22.4</b>	4.5	<b>44.1</b>	28.8
<b>Hasta 4</b>	966	69.6	16	9.4	<b>4.8</b>	53 (41-81)	1176	64.4	1.5	12	22
<b>Hasta 5</b>	66	<b>30.4</b>	16.3	<b>49.1</b>	<b>4.2</b>	20 (7-100)	56	<b>84.7</b>	<b>0.6</b>	<b>6</b>	<b>8.7</b>
<b>Hasta 10</b>	1880	<b>29.7</b>	<b>38.1</b>	<b>26.8</b>	<b>5.2</b>	45 (40-100)	1034	29.2	<b>0.2</b>	<b>1</b>	<b>69.4</b>
<b>Hasta 11</b>	1054	70.1	13.7	13.8	2.2	73 (31-81)	713	<b>10.2</b>	<b>39.2</b>	27.3	23.2
<b>Hasta 14</b>	999	57.7	16.9	<b>20.6</b>	<b>4.7</b>	<b>39</b> (41-81)	2146	39.4	<b>0.4</b>	11.9	48.1
<b>Hasta 15</b>	708	<b>33</b>	12.1	<b>48.5</b>	<b>3.5</b>	50 (41-81)	240	<b>86.5</b>	<b>0.9</b>	<b>0.9</b>	11
<b>Hasta 16</b>	585	<b>55.8</b>	23.6	<b>17.9</b>	2.5	64 (31-81)	260	71.6	<b>0.5</b>	<b>0.7</b>	26.3
<b>Hasta 17</b>	1700	<b>12.5</b>	<b>2.9</b>	<b>84.4</b>	<b>0.3</b>	<b>11</b> (31-81)	1190	<b>92.9</b>	<b>0.1</b>	<b>0.8</b>	<b>6.2</b>
<b>Hasta 19</b>	1470	<b>9.5</b>	<b>47.6</b>	<b>40.9</b>	2	<b>6</b> (7-100)	3780	74.8	<b>0.1</b>	<b>1.6</b>	<b>5.6</b>

B hücre alt drupları değerlendirildiğinde en sık *memory B* ve *switched memory B* hücre yüzdelerinde düşük (9/10, %90) olduğu görüldü. Sonra sırasıyla *naïve B* hücre yüksekliği (%70), *marjinal zon B* hücre düşüklüğü (%60), *aktive B* hücre düşüklüğü (%50) ve *plazmoblast* düşüklüğü (%50) görülmüştür. *Marjinal zone like B* hücre yüzdeleri hastaların 6'sında (%60) düşük, 4 (%40) hastada normal saptandı. *Naïve B* hücre yüzdesinin 3 hastada (%30) normal, 7 hastada (%70) yüksek olduğu görüldü. *Aktive B* hücre yüzdesinin hastaların 5'inde (%50) düşük, 3 hastada (%30) normal, 2 hastada (%20) yüksek saptandı. *Plasmablast* hücre yüzdesi hastaların 5'inde (%50) düşük, 4'ünde (%40) normal, 1'inde (%10) yüksek saptandı. *Transitional* hücre yüzdesi hastaların 4'ünde (%40) düşük, 4'ünde (%40) normal ve 2'sinde (%20) yüksek saptandı. Hastaların B hücre alt grupları sayısal değerleri Tablo 4.5'te verilmiştir.

**Tablo 4.5.** Hastaların B hücre alt grupları

Hasta no	CD 19 +	Memory B	Switch memory B	Marjinal zon B	Naive B	Aktive B	Plazmablast B	Transitional B
<b>Hasta 2</b>	420	<b>14.3</b> (17.5-46.5)	10.8 (8.3-27.8)	<b>3.5</b> (7.0-23.8)	<b>83.3</b> (48.4-79.7)	1.8 (1.6-10)	1.2 (0.4-2.4)	<b>0.41</b> (0.9-5.7)
<b>Hasta 4</b>	378	<b>7.4</b> (18.6-46.7)	<b>2.9</b> (10.9-30.4)	<b>4.5</b> (5.2-20.4)	<b>91.3</b> (47.3-77.0)	<b>1</b> (2.3-10)	1.8 (0.6-5.3)	<b>4.2</b> (4.6-8.3)
<b>Hasta 5</b>	34	27.8 (17.5-46.5)	<b>5</b> (8.3-27.8)	22.8 (7.0-23.8)	67.3 (48.4-79.7)	<b>19.5</b> (1.6-10)	<b>0</b> (0.4-2.4)	2.6 (0.9-5.7)
<b>Hasta 10</b>	940	<b>6.4</b> (9.5-26.5)	<b>3.3</b> (3.9-13.6)	3.1 (4.1-13.9)	82.1 (68.1-89.3)	3.7 (1-5.7)	0.5 (0.5-3)	<b>0.4</b> (3.3-16.5)
<b>Hasta 11</b>	899	<b>6.7</b> (13.3-47.9)	<b>3.4</b> (8.7-25.6)	<b>3.3</b> (4.6-18.2)	<b>85.4</b> (51.3-82.5)	<b>1.5</b> (2.7-8.7)	<b>0</b> (0.6-6.5)	<b>0.7</b> (1.4-13.0)
<b>Hasta 14</b>	185	<b>0</b> (18.6-46.7)	<b>0</b> (10.9-30.4)	<b>0</b> (5.2-20.4)	<b>95.4</b> (47.3-77.0)	4.5 (2.3-10)	<b>7.9</b> (0.4-2.4)	<b>10.2</b> (4.6-8.3)
<b>Hasta 15</b>	156	<b>7.4</b> (18.6-46.7)	<b>2</b> (10.9-30.4)	5.4 (5.2-20.4)	<b>91.1</b> (47.3-77.0)	<b>0</b> (2.3-10)	<b>0.2</b> (0.4-2.4)	<b>10.2</b> (4.6-8.3)
<b>Hasta 16</b>	338	<b>2.1</b> (13.3-47.9)	<b>0.8</b> (8.7-25.6)	<b>1.3</b> (4.6-18.2)	<b>97</b> (51.3-82.5)	<b>0.2</b> (2.7-8.7)	<b>0.2</b> (0.6-6.5)	3.4 (1.4-13.0)
<b>Hasta 17</b>	306	<b>0.8</b> (13.3-47.9)	<b>0.4</b> (8.7-25.6)	<b>0.4</b> (4.6-18.2)	<b>98.3</b> (51.3-82.5)	<b>0.7</b> (2.7-8.7)	3 (0.6-6.5)	9 (1.4-13.0)
<b>Hasta 19</b>	1050	<b>11.7</b> (17.5-46.5)	<b>3.7</b> (8.3-27.8)	8 (7.0-23.8)	79.1 (48.4-79.7)	<b>40</b> (1.6-10)	0.9 (0.4-2.4)	1.2 (0.9-5.7)

#### 4.4. Histopatolojik İncelemeler

Lenfadenopati ile seyreden yedi hastadan altısı eksizyonel lenf nodu biyopsisi ile değerlendirildi (Tablo 4.6). Histopatolojik incelemeler sonucunda hastalarda belirli bir tanı konulmamasına da, foliküler hiperplazi ve atipik lenfoid proliferasyon nedeniyle immün disregülasyon açısından araştırılması yönünde sonuçlanmıştır.

Dört numaralı hastanın 3.5 yaşında iken servikal lenf nodundan alınan biyopsisinde kortekste sekonder ve primer lenfoid foliküller, interfoliküler alanda polipolik plazma hücre mevcudiyetine bağlı genişleme, dağınık immünoblastlar, postkapiller damarlarda histiyosit proliferasyonu ve lenfositlerde Epstein-Barr virüsü ile kodlanmış RNA (EBER) pozitifliği olarak raporlanmıştır.

Beş numaralı hastanın servikal lenf nodundan alınan lenf nodu biyopsisinde immunoblastik proliferasyon, CD20, CD3 ve CD30 pozitif, Ki-67 proliferasyon indeksi germinal merkezde yüksek ve T hücre proliferasyonunu destekleyen atipik lenfoid proliferasyon olarak raporlanmıştır.

Altı numaralı hastanın sağ dirsek anteriorda bulunan lenf nodundan alınan eksizyonel biyopsi örneğinde CD20 ve CD3 ile T ve B alanları korunmuş, germinal merkezlerde Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek, Bcl-2 ile germinal merkezler negatif, IgD ile mantle zonlar, CD10 ile germinal merkezler ve CD23 ile foliküler dendritik ağ boyanmış olup bulgular atipik lenfoid proliferasyonu göstermektedir.

Yedi numaralı hastanın intraabdominal lenf nodundan alınan lenf nodu biyopsisinde, nodüler patternde lenfoid proliferasyon, CD20 ve CD3 pozitif, Ki67 proliferasyonu yüksek, anaplastik lenfoma kinaz (ALK) ve EBER boyama negatif olarak raporlanmıştır.

On yedi numaralı hastanın toraks ve abdomende multipl lenfadenopati olması nedeniyle alınan lenf nodu biyopsisinde yaygın olarak primer foliküller görülürken sekonder foliküller daha az sayıda, germinal merkezler regresif görünümde, CD3 ve CD20 pozitif, Bcl-2 rezidü germinal merkezde negatif, CD23 ve Ki67 proliferasyonu düşük, az miktarda dağınık EBER pozitif hücreler (latent enfeksiyon) görülmekle birlikte B ve T hücre proliferasyonunu destekleyecek sonuç elde edilememiştir.

On dokuz numaralı hastanın aksiller ve inguinal lenf nodu biyopsilerinde foliküllerde hiperplazi, CD3, CD20 ve Bcl-2 pozitif, Ki-67 proliferasyon indeksi

germinal merkezde yüksek bulunmuştur ve T ve B klonalitesini destekleyecek bulgu saptanmamıştır.

**Tablo 4.6.** Hastaların histopatolojik incelemesi

Hasta No	Biyopsi bölgesi	Sonuç	EBER
4	Servikal lenf nodu	Lenfoid foliküler hiperplazi	Pozitif
5	Servikal lenf nodu	Atipik lenfoid proliferasyon	-
6	Brakiyal lenf nodu	Atipik lenfoid proliferasyon	-
7	İntraabdominal lenf nodu	Nodüler paternde lenfoid proliferasyon	Negatif
17	Torasik lenf nodu	Proliferasyon görülmemiştir	Pozitif
19	Aksiller lenf nodu	Proliferasyon görülmemiştir	-

#### **4.5. Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulgularına Göre ALPS Tanı Kriterleri Açısından Değerlendirilmesi**

Hastalar otoimmün lenfoproliferatif sendrom, olası otoimmün lenfoproliferatif sendrom ve ALPS benzeri hastalık açısından değerlendirilmiştir (Tablo 4.7). Değerlendirme kriterleri lenfoproliferasyon, sitopeni, otoimmün bulgular, DNT, vitamin B12, IgG ve histopatolojik bulgulardır. Çalışmaya dahil edilen 20 hastanın DNT düzeyi bilinmekteydi ve hepsinde DNT düzeyi %2.5'un üzerindedi. Otoimmün sitopeni hastaların %70'inde, lenfoproliferasyon %60'ında, vitamin B12 yüksekliği ve tipik histopatolojik bulgular %20'sinde, IgG yüksekliği bir hastada mevcuttu (Şekil 4.3).

**Tablo 4.7.** Çalışmaya dahil edilen hastaların ALPS tanı kriterleri açısından değerlendirilmesi

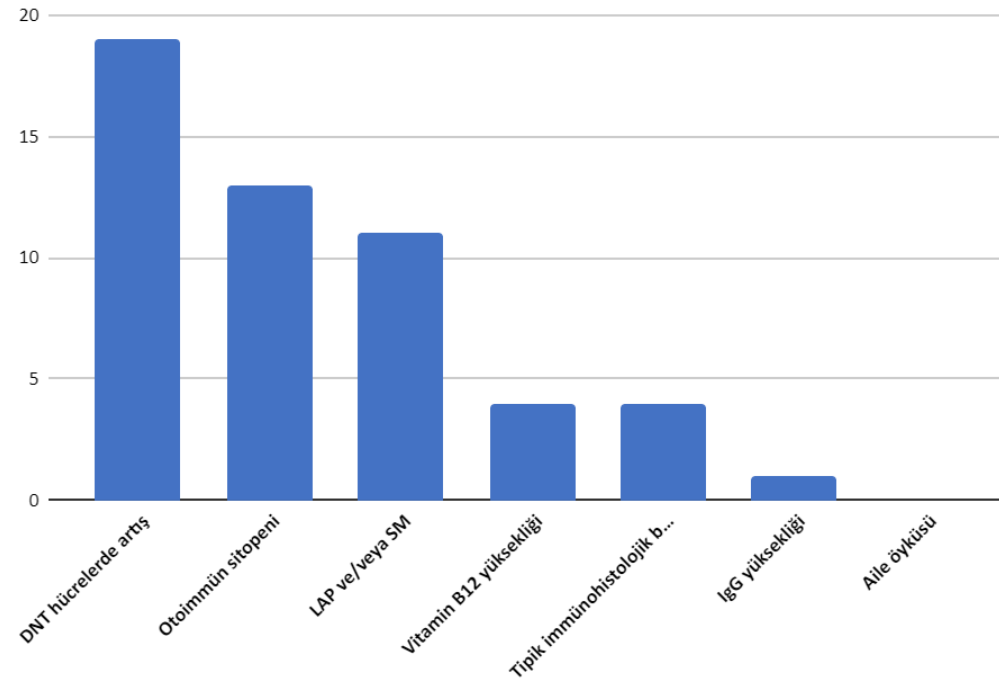
Hasta no	Cinsiyet	Yaş	Akrabalık	Başvuru şikayeti	Lenfo-proliferasyon	Sitopeni	Diğer Otoimmünite	DNT	Vitamin B12	IgG	Histo-patoloji	Tanı ALPS/ Olası ALPS/ ALPS benzeri
1	Erkek	5y1ay	-	Peteşi	-	ITP	-	%61	423	852	-	ALPS-benzeri
2	Erkek	18y	-	İnsidental trombositopeni	-	ITP	Otoimmün tiroidit, Liken niditus	%6	262	734	-	ALPS-benzeri
3	Erkek	9y3ay	-	Solukluk, serebellit	-	OİHA	Otoimmün serebellit	%3	972	587	-	ALPS-benzeri
4	Erkek	7yaş2 ay	-	Lenfadenopati	LAP, HM SM	-	-	%32	1525	2710	Foliküler hiperplazi	Olası ALPS
5	Erkek	28y	-	Halsizlik	LAP, HM SM	Lökopeni, trombositopeni	Psoriasis	%15	370	1240	Atipik lenfoid proliferasyon	Olası ALPS
6	Kadın	7	+	Lenfadenopati, ateş	LAP, SM	-	-	%6	308	1370	Atipik lenfoid proliferasyon	Olası ALPS
7	Erkek	4y11ay	-	Sık idrara çıkma	LAP	-	-	%4	356	1050	Lenfoid proliferasyon	Olası ALPS
8	Erkek	3yaş	+	Mekonyum tıkaçı	-	Otoimmün nütropeni	-	%2.5	444	1050	-	ALPS-benzeri
9	Erkek	14yaş6ay	-	Yorgunluk, çarpıntı, ekimoz	HM, SM	ITP	-	%11	414	1120	-	Olası ALPS
10	Erkek	4yaş2ay	-	Peteşi	HM, SM	OİHA, ITP	-	%3	1119	366	-	Olası ALPS
11	Kadın	13 yaş5ay	-	Ekimoz	HM	ITP	ANA pozitifliği	%4	247	973	-	ALPS benzeri
12	Kadın	11yaş5ay	-	Peteşi, ekimoz	-	ITP	-	%8	256	797	-	ALPS benzeri
13	Erkek	16yaş7ay	-	Karın ağrısı, ekimoz	-	OİHA, ITP	-	%8	144	511	-	ALPS benzeri
14	Erkek	12yaş3ay	-	Tekrarlayan enfeksiyon	-	-	-	%13	163	583	-	ALPS benzeri

**Tablo 4.7. (Devam)** Çalışmaya dahil edilen hastaların ALPS tanı kriterleri açısından değerlendirilmesi

Hasta no	Cinsiyet	Yaş	Akrabalık	Başvuru şikayeti	Lenfo-proliferasyon	Sitopeni	Diğer Otoimmünite	DNT	Vitamin B12	IgG	Histo-patoloji	Tanı ALPS/ Olası ALPS/ ALPS benzeri
15	Erkek	10yaş6ay	+	Burun kanaması	SM	ITP, Otoimmün nötropeni	-	%11	516	720	-	Olası ALPS
16	Kadın	14yaş10ay	+	Solukluk	HM, SM	Anemi, lökopeni	-	%3	356	1460	-	Olası ALPS
17	Kadın	12yaş10 ay	+	Öksürük	LAP, SM, HM	-	Otoimmün hipotiroidi	%6	415	880	İmmünyetmezlik?	Olası ALPS
18	Erkek	6yaş5ay	-	-	-	-	-	%15	1142	1630	-	ALPS benzeri
19	Erkek	38yaş	-	Öksürük, halsizlik	LAP, SM	ITP, OİHA, otoimmün nötropeni	-	%5	134	1120	-	Olası ALPS
20	Kadın	10yaş9ay	-	Öksürük, döküntü	LAP, SM, HM	ITP, otoimmün nötropeni	-	%13	463	785	-	Olası ALPS

ALPS, otoimmün lenfoproliferatif sendrom; ANA, anti-nükleer antikor; DNT, double negatif T hücre; HM, hepatomegali; Ig, immunoglobulin; ITP, immün trombositopenik purpura; LAP, lenfadenopati; OİHA, otoimmün hemolitik anemi; SM, splenomegali.





**Şekil 4.3.** Çalışmaya dahil edilen hastalarda değerlendirilen ALPS kriterlerinin dağılımı

#### 4.6. İn Vitro Apoptoz Testi Sonuçları

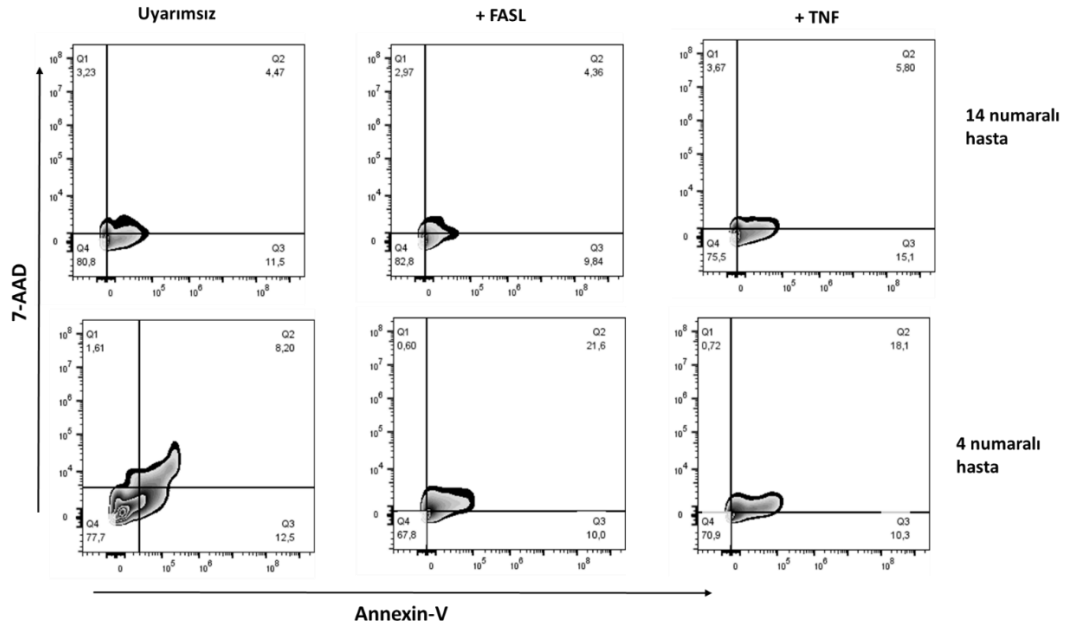
Lenfositlerin apoptozunu değerlendirmek için yapılan in vitro apoptoz testinde hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırılarak değerlendirilir. Çalışmamızda hasta grubunda, sağlıklı kontrol grubuna göre FASL ve TNF ile uyarılmış lenfositlerde erken evre apoptozda anlamlı derecede kusur bulundu (sırasıyla p değeri 0.019 ve 0.009) (Tablo 4.8).

**Tablo 4.8.** Hastalar ile sağlıklı kontrollerde in vitro apoptoz test sonuçlarının karşılaştırılması (apoptoza uğrayan hücre oranlarının medyan değeri)

	Hasta grubu	Sağlıklı kontrol grubu	P değeri
Uyarılmamış-Erken	7.91	7.4	0.825
Uyarılmamış-Geç	17.25	12.6	0.489
Uyarılmamış-Ölü	7.54	4.4	0.333
FASLuyarılmış-Erken	10	21.4	<b>0.019</b>
FASLuyarılmış -Geç	20.6	24.9	0.236
FASLuyarılmış -Ölü	8.99	10.2	0.37
TNFUyarılmış-Erken	11.5	20.2	<b>0.009</b>
TNFUyarılmış -Geç	17.85	26.7	0.184
TNFUyarılmış -Ölü	9.26	6.22	0.658
FASLuyarılmış/uyarılmamış-Erken hücre oranı	0.98	2.87	0.236
FASLuyarılmış/uyarılmamış-Geç hücre oranı	1.01	1.43	0.402
FASLuyarılmış/uyarılmamış-Ölü hücre oranı	0.91	1.66	0.06
TNFuyarılmış/uyarılmamış-Erken hücre oranı	1.21	3.44	0.109
TNFuyarılmış/uyarılmamış-Geç hücre oranı	1.06	1.55	0.245
TNFuyarılmış/uyarılmamış-Ölü hücre oranı	1.01	0.88	0.956

İn vitro apoptoz testi sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında iki hastada ALPS'yi destekler bulundu. Hasta 4 ve hasta 14'e ait in vitro apoptoz test görselleri Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Bu hastalardan birisi anne baba arasında akrabalık bulunmayan, 7 yaşında erkek, lenfoprolifasyon bulguları nedeniyle takip edilen, otoimmün bulgusu olmayan, DNT %32, serum vitamin B12 1525 pg/mL ve IgG yüksek olan hastadır.

Diğer hasta ise aralarında akrabalık olmayan anne babadan, 12 yaşında erkek, sık enfeksiyon geçirme öyküleri nedeniyle takip edilen, allerjik astım tanısı olan, otoimmün ve lenfoproliferasyon bulguları olmayan, DNT %13, vitamin B12 ve IgG düşük olan hastadır (Tablo 4.9).



Şekil 4.4. İn vitro apoptoz sonuçları ALPS'yi destekler bulunan hastalar

**Tablo 4.9.** İn vitro apoptoz testi ALPS'yi destekler bulunan hastaların ALPS tanı kriterleri ile birlikte yeniden gözden geçirilmesi

Hasta no	Cinsiyet	Yaş	Akrabalık	Başvuru şikayeti	Lenfoproliferasyon	Sitopeni	Diğer Otoimmünite	DNT	Vitamin B12	IgG	Histopatoloji
4	Erkek	7yaş2 ay	-	Lenfadenopati	LAP, HM SM	-	-	%32	1525	2710	Foliküler hiperplazi
14	Erkek	12yaş3ay	-	Tekrarlayan enfeksiyon	-	-	-	%13	163	583	-

#### 4.7. Genetik Özellikler

Otoimmün lenfoproliferatif sendrom veya ALPS-benzeri bulgularla izlenen hasta grubunda yer alan 20 hastadan 15'inde genetik çalışma yapılmıştır ve altı hastada (%40) kliniği açıklayabilecek varyant saptandı.

İki yaşında serebellit, izlemde otoimmün hemolitik anemi tanısını alan 3.5 yaşındaki hastada (Hasta 3) *Caspase 10* eksikliği saptandı.

Altı aylıkken servikal lenfadenopati, izlemde hepatomegali ve splenomegali gibi lenfoproliferatif bulguları ortaya çıkan yedi yaşındaki hastada (Hasta 4) *FAS* geninde homozigot mutasyon saptandı.

Postnatal ikinci gününde mekonyum tıkaçı nedeniyle yenidoğan bölümünde izlenen ve izlemde otoimmün nötropeni görülen üç yaşındaki hastada (Hasta 8) *Caspase 8* eksikliği saptandı.

Evans sendromu nedeniyle izlenen hipogamaglobulinemi, hepatomegali ve splenomegali bulguları olan dört yaşındaki hastada (Hasta 10) *FASLG* heterozigot mutasyon olduğu saptandı.

Sık enfeksiyon geçirme öyküsü olan ve hipogamaglobulinemi bulgusu olan 14 yaşındaki hastada (Hasta 14) *Caspase 8* eksikliği saptandı.

Yedi yaşındayken öksürük ve peteşiyel döküntü şikayetleri başlayan, torakal lenfadenopati, hepatosplenomegali, lökopeni ve trombositopeni bulguları olan 10 yaşındaki hastanın (Hasta 20) genetik analizinde *CTLA-4* geninde heterozigot mutasyon saptandı.

Genetik sonucuna göre ALPS veya ALPS benzeri hastalık olan hastalar tanı kriterleri ile birlikte yeniden gözden geçirildiğinde üç hastaya kesin ALPS teşhisi konuldu. Otozomal dominant *FAS* homozigot mutasyonu olan hastanın in vitro apoptoz testi sonucu anormal olarak sonuçlandı. ALPS benzeri hastalık ile takip edilen *Caspase 8* eksikliği olan hastanın da in vitro apoptoz test sonucu anormal bulundu. Kesin ALPS tanısı olan hastaların DNT yüzdeleri %3 ve %32 idi. *Caspase 8* eksikliği olan hasta ve *CTLA-4* heterozigot mutasyonu olan hastaların DNT yüzdeleri de %13 idi. Kesin ALPS tanısı alan üç hastanın da (Hasta 3,4 ve 10) vitamin B12 düzeyi yüksek bulundu. Diğer hastaların vitamin B12 düzeyleri ise normal veya düşüktü (Tablo 4.10).

**Tablo 4.10.** Genetik sonucuna göre ALPS veya ALPS benzeri hastalık olan hastaların tanı kriterleri ile birlikte yeniden gözden geçirilmesi

Hasta no	Genetik	Cinsiyet	Yaş	Akrabalık	Başvuru şikayeti	Lenfoproliferasyon	Sitopeni	Diğer Otoimmünite	DNT	Vitamin B12	IgG	Histopatoloji	İn Vitro Apoptoz testi
3	Caspase 10	Erkek	9y3ay	-	Solukluk, serebellit	-	OİHA	Otoimmün serebellit	%3	972	587	-	
4	FAS (OD) homozigot	Erkek	7yaş2 ay	-	Lenfadenopati	LAP, HM SM	-	-	%32	1525	2710	Foliküler hiperplazi	Anormal
8	Caspase 8	Erkek	3yaş	+	Mekonyum tıkaçı	-	Otoimmün nötropeni	-	%2.5	444	1050	-	
10	FASLG heterozigot mutasyon	Erkek	4yaş2ay	-	Peteşi	HM, SM	OİHA, ITP	-	%3	1119	366	-	
14	Caspase 8	Erkek	12yaş3ay	-	Tekrarlayan enfeksiyon	-	-	-	%13	163	583	-	Anormal
20	<i>CTLA-4</i> heterozigot	Kadın	10yaş9ay	-	Öksürük, döküntü	LAP, SM, HM	ITP, otoimmün nötropeni	-	%13	463	785	-	

#### 4.8. Kullanılan Tedaviler

Olası otoimmün lenfoproliferatif sendrom veya ALPS benzeri hastalık tanıları ile izlenen hastaların lenfoproliferasyon ve/veya otoimmün bulgularının tedavisinde immünsüpresif veya immünmodülatör ajanlar kullandı.

Kortikosteroid verilen 11 hasta; yalnızca kortikosteroid alan dört hasta (%20) ve steroid ve diğer immünsüpresif ajanlar ile kombine tedavi alan yedi hasta (%35) vardı.

İmmünsüpresif ajanlardan sırasıyla mikofenolat mofetil (n= 6), sirolimus (n=3), siklosporin (n=1) ve ruksolitinib (n=1) verildi.

Yirmi hastanın 11'i (%55) IVIG tedavisi almaktaydı. Dokuz hastaya ITP veya Evans tanısı nedeniyle IVIG verildi; iki hasta sık enfeksiyon öyküsü nedeniyle IVIG aldı.

OİHA olan hastalarda steroid, mikofenolat mofetil ve sirolimus tedavi seçenekleri değerlendirilmiştir. ITP olan hastalara IVIG, steroid, eltrombopag, romiplastim, avatrombopag, mikofenolat mofetil, sirolimus ve siklosporin tedavi seçenekleri arasındaydı.

Lenfoproliferasyon bulgularına yönelik daha çok klinik izlem yapılmıştır. Ancak bir hastanın servikal lenfadenopatisinin gerilememesi nedeniyle steroid ve sirolimus tedavisi verilmiştir (4 numaralı hasta).

Bir hastaya splenomegali nedeniyle splenektomi cerrahisi yapılmıştı.

Hiçbir hastaya kök hücre nakli yapılmamıştı.

Hastaların aldığı tedaviler, tedaviye yanıt ve tedavilerin yan etkileri Tablo 4.11'de verildi.

**Tablo 4.11.** ALPS ve ALPS benzeri hastaların tedavi, tedavi yanıtı ve ilaç yan etkileri

Hasta No	Tanı	1. Basamak Tedavi	Fayda	2. Basamak Tedavi	Fayda	Yan etki
Hasta 1	ITP	IVIG + MPZ	-	Eltrombopag Romiplastim Avatrombopag	-	Eltrombopag sonrası İHB Romiplastim sonrası lökositoz Avatrombopag sonrası KCFT yüksekliği
Hasta 2	ITP	MPZ	+			
Hasta 3	OİHA	MPZ	+	MMF	+	
Hasta 4	Lenfoproliferasyon (LAP+SM+HM)	MPZ	+	Sirolimus	+	
Hasta 5	Lenfoproliferasyon (LAP+SM+HM), lökopeni ve ITP	MPZ	+	MMF	+	
Hasta 6	Lenfoproliferasyon (LAP+SM)	Klinik izlem				
Hasta 7	Lenfadenopati	Klinik izlem				
Hasta 8	Otoimmün nötrojeni	Klinik izlem				
Hasta 9	ITP	IVIG	+			
Hasta 10	Lenfoproliferasyon (SM+HM), Evans sendromu	IVIG	-	MPZ	+	
Hasta 11	Hepatomegali, ITP	IVIG + MPZ	+	MMF	+	
Hasta 12	ITP	IVIG + MPZ	-	MMF Sirolimus Siklosporin Eltrombopag Avatrombopag	- - - - -	
Hasta 13	Evans sendromu	IVIG + MPZ	-	MMF Sirolimus	- +	
Hasta 14	Sık enfeksiyon öyküsü	IVIG	+			
Hasta 15	Splenomegali, ITP, nötrojeni	IVIG + MPZ GCSF	+	Ruksolitinib	+	
Hasta 16	Lenfoproliferasyon (HM, SM), lökopeni, anemi	MMF	+			
Hasta 17	Lenfoproliferasyon (LAP+SM+HM), sık enfeksiyon öyküsü	IVIG	+			
Hasta 18	Vitamin B12 yüksekliği	Klinik izlem				
Hasta 19	Lenfoproliferasyon (LAP+SM), pansitopeni	IVIG MPZ Splenektomi	+ +	Eltrombopag	-	Eltrombopag ile trombositoz.
Hasta 20	Lenfoproliferasyon (LAP+SM+HM), pansitopeni	IVIG	+			

GCSF, granülosit-koloni uyarıcı faktör; IVIG, intravenöz immünglobulin; İHB, indirekt hiperbilirübenemi; ITP, immün trombositopenik purpura; KCFT, karaciğer fonksiyon testi; MMF, mikofenolat mofetil; MPZ, metilprednizolon.



## 5. TARTIŞMA

Otoimmün lenfoproliferatif sendrom, klinik ve laboratuvar bulguların sentezi ile tanı konulan nadir görülen bir immün yetmezliktir. ALPS tanı kriterlerinin birincil destekleyici iki kriterinden biri olan lenfosit apoptozunun kusurlu olduğunun in vitro apoptoz ile gösterilmesi hastalığın anlamlandırılmasında ve tanısında önemlidir. Bu çalışmada klinik olarak olası ALPS ve ALPS benzeri hastalık düşünülen ve serum DNT düzeyi %2.5'un üzerinde olan hastaları tanısal amaçlı in vitro apoptoz testi ile değerlendirme yaptık.

Çalışmaya dahil ettiğimiz hastaların yaş ortancası 11 yıl (2.5-37 yıl) idi. Hastaların semptomlarının başlama yaşı ise bir aylık ile 29 yıl arasında değişmekteydi ve ortancası 5.5 yıl idi. Hastaların tanı yaşı ortancası ise 8.25 yıl idi. 196 makale incelemesinden toplam 780 ALPS veya ALPS benzeri hastaların incelendiği derlemede ortanca (IQR) başlangıç yaşı, klinik tanı yaşı ve tanı gecikmesi sırasıyla 2 (0.6-6), 7.5 (2.4-14) ve 3 (0.1-9) yıl olarak bildirilmiştir. Literatüre göre hastalarımızın semptom yaşı ve tanı yaşı ortancası daha büyüktür. Çalışmamızdaki hastaların tanı gecikmesi literatür ile benzerdi. Nadir bir hastalık olması nedeniyle klinisyenlerin farkındalığının az olması ve klinik bulguların belirginleşmesi zaman aldığı için tanıda gecikme olabilmektedir. Ancak çoğu hasta çocukluk döneminde klinik bulgu vermekle birlikte hastalığın farkındalığının artmasıyla, özellikle de immün sitopenilerin altta yatan doğuştan hatalarla ilişkisiyle birlikte daha fazla yetişkine ALPS tanısı konulmaktadır[58]. Neonatal dönemde de tanı alan vakalar bildirilmiştir[59].

Çalışmamızda hastaların %70'i erkek (n= 14) idi. Literatürde de otoimmün lenfoproliferatif sendrom ile takip edilen hastalarda erkek oranı daha fazladır. ALPS ve ALPS benzeri hastalar arasında da cinsiyet farklılığı, ALPS hastalarında erkek/kadın oranı anlamlı olarak ( $p= 0.045$ ) daha fazladır [21].

Bizim çalışmamızda hastaların büyük çoğunluğunda (%60) lenfoproliferasyon bulguları mevcuttu. Hastaların yarısında splenomegali, yaklaşık üçte birinde hepatomegali ve lenfadenopati görüldü. Altı aydan uzun süreli, enfeksiyöz ve malign olmayan lenfadenopati veya splenomegali ALPS'nin en sık görülen bulgusudur. NIH ve Fransız ALPS-FAS kohortlarındaki hastaların %94-95'inde splenomegali ve %85-97'sinde jeneralize lenfadenopati belgelenmiştir [13, 18]. Hafezi ve ark. derlemesinde

lenfadenopati (%45) ve splenomegali (%28) dahil olmak üzere lenfoproliferatif bozukluklar en sık görülen ilk başvuru nedeni olarak bildirilmiştir[21]. Hastalarımızın, bazı çalışmalara göre splenomegali ve lenfadenopati görülme oranları daha azdı ancak yapılan en geniş kohorta sahip Hafezi ve ark. çalışması ile benzer oranlar vardı. Çalışmamızda erişkin yaşta olan (28 ve 38 yaş) iki hasta vardı. Her ikisinde de lenfoproliferasyon bulgularında yıllar içinde gerileme olmadı ve birinde splenektomi yapıldı. Ancak literatürde 20 yıllık ALPS hasta izlemi yapılan iki çalışmada, lenfoproliferasyon bulgularının artan yaş ile birlikte tam remisyon veya kısmi iyileşme gösterdiği raporlanmıştır [13, 18].

Hastalarımızın %75'inde otoimmün bulgular görüldü. Otoimmün lenfoproliferatif sendromda otoimmün bulgular arasında en çok otoimmün sitopeniler görülmektedir. Literatür incelemesinde sitopenilerden en sık otoimmün hemolitik anemi ve ikinci sıklıkta immün trombositopeni olduğu bildirilmiştir [21]. Literatürden farklı olarak çalışmamızda, en sık otoimmün sitopeni ITP, ikinci sıklıkta OİHA idi. Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi ve immün trombositopeni olmak üzere iki immün aracılı sitopeninin varlığı olarak tanımlanan Evans sendromunun klinik antitesi ALPS ile örtüşmektedir. Evans sendromuyla başvuran çok merkezli bir çalışmada çocukların %47'sine (21/45) periferik kan DNT'leri ve Fas aracılı apoptoz ölçümü yoluyla ALPS tanısı konulmuştur; belirgin derecede yüksek DNT'ler ( $\geq$  %5) hastalığın en güçlü belirleyicisi (pozitif prediktif değer= %94) olarak görülmüştür [60]. Bizim çalışmamızda üç hasta (%15) Evans sendromu kliniği gösterdi. Evans sendromu olan üç hastanın DNT'leri %3, %5 ve %8 idi ancak Fas aracılı apoptoz ölçümleri kusurlu bulunmadı. Üçüncü sıklıkta ise otoimmün nötropeni vardır [21]. Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde otoimmün nötropeni üçüncü sıklıkta (%20) görülen sitopeni idi.

Diğer otoimmün bulgulardan otoimmün tiroidit ise ALPS benzeri hastalarda daha yaygın bulunmuştur [21]. Nadir bildirilen otoimmün bozukluklar, sistemik lupus eritematozus (SLE), juvenil romatoid artrit (JRA) ve çölyak hastalığıdır. Çalışmaya aldığımız hastalardan ikisinde otoimmün tiroidit (%10), bir hastada psöriazis (%5) ve bir hastada da otoimmün serebellit (%5) görülmüştür.

Bizim çalışmamızdaki hasta grubunda malignite görülmedi. Ancak literatüre baktığımızda otoimmün lenfoproliferatif sendromunda lenfoma gelişme riskinin

önemli ölçüde arttığı belirtilmektedir. Ancak diğer hematopoietik olmayan tümörler nadir olarak rapor edilmiştir. 150 hastadan oluşan bir NIH kohortunda, 18 (%12) hastada ortalama 18 yaşında (5-60 yaş aralığında) lenfoma geliştiği bildirilmiştir [13]. Başka bir çalışma olan Fransız kohortunda 90 ALPS hastasında kümülatif lenfoma riski %15 ve ortalama tanı yaşı 24,5 yıl (14-51 yaş aralığında) olarak benzer bir sonuç bildirilmiştir[18]. Bizim hastalarımızın yaş ortalamasının daha küçük olması malignite görmememize neden olabilir. Takip edilen hastalarında malignite riskinin yüksek olması nedeniyle, hastalara B semptomları (ateş, gece terlemesi ve kilo kaybı) her vizitte mutlaka sorgulanmalı ve agresif büyüme özelliklerine sahip lenfadenopatilerin histolojik değerlendirmesi yapılmalıdır. Özellikle *FAS* mutasyonu saptanmış hastaların aile üyelerinin de malignite açısından taraması yapılmalıdır. ALPS-sFAS, ALPS-FASL ve ALPS-CASP10 hastalarında lenfoma riski belirsizdir. ALPS popülasyonlarında malignite riskini tanımlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Hastalarımızın %20'sinde vitamin B12 düzeyi yüksek izlendi. İnsidental olarak vitamin B12 (1142 ng/L) yüksek bulunan hastanın, ALPS için hassas olan DNT düzeyi de %15 olarak yüksek bulundu. Vitamin B12 düzeylerinin ALPS için moleküler testlerden önce tercih edilebilir ucuz, kolay ve güvenilir biyobelirteç olduğu literatürde de belirtilmiştir [13].

Çalışma grubuna aldığımız hastaların DNT %3-61 arasındaydı. DNT'ler ALPS'nin hassas bir belirteçidir ancak özgül değildir. DNT'lerin bağışıklık sistemlerindeki kesin işlevi hala tam olarak anlaşılmamış olsa da immünolojik homeostazın sürdürülmesinde çok önemli olduğuna inanılmaktadır. Yetişkinlerde ve çocuklarda çok sayıda otoimmün hastalıkta; SLE, Sjögren sendromu, mikts bağ dokusu hastalığı ve Behçet hastalığı dahil olmak üzere artmış DNT ile karşılaşmaktadır[61-63]. ALPS ve ALPS benzeri hastalıklar arasında serum DNT düzeyi karşılaştırıldığında, ALPS hastalarında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ) [21]. Bazı immün yetmezliklerde (örneğin *STAT3* ve *LRBA* eksikliği) DNT yüksek bulunabilir[64, 65].

IL-10, IL-18 ve sFASL değerlerinin ALPS'de yüksek olabileceği ancak diğer immün yetmezliklerde de yükselebileceği için ALPS'ye özgü kabul

edilmemektedir[13, 66]. Çalışmamızda IL-10, IL-18 ve sFASL proje bütçesi yeterli olmamasından dolayı değerlendirilememiştir.

Çalışma süresince klinik bulguları ve hedeflenmiş tedavi gerekliliği nedeniyle 20 hastanın 15'inde genetik tetkikler planlandı. İki hastada *Caspase 8* homozigot mutasyon, bir hastada otozomal dominant kalımlı *FAS* mutasyonu, bir hastada *Caspase 10* mutasyonu, bir hastada *FASL* heterozigot ve bir hastada *CTLA4* heterozigot mutasyonu gösterildi. Otoimmün lenfoproliferatif sendromda en yaygın genetik varyantlar, toplam 780 ALPS ve ALPS benzeri hastalık grubunu içeren bir çalışmada hastaların %85'inde *FAS* geninde olduğu gösterilmiştir. Bu varyantlar tipik olarak heterozigottur ve germline (%86) veya somatik (%14) olabilir [21]. ALPS'de rapor edilen *FAS*'ta en az 173 novel (yeni) varyant vardır. ALPS benzeri fenotipin bilinen en sık nedeni *STAT3*, *LRBA* ve *CARD11* genlerindeki mutasyondur [21]. *CTLA4* mutasyonu da bizim çalışmamızda gösterildiği gibi ALPS benzeri klinik gösterebilmektedir. Hafezi ve Ark.'nın çalışmasında belirtildiği gibi çoğu ALPS-*FAS* ve ALPS-*CASP10* vakasında kalıtım otozomal dominanttır; ancak ALPS-*FASLG*'li hastaların çoğunluğu otozomal resesiftir. Homozigot/bileşik heterozigot germline *FAS* mutasyonlarının neden olduğu ALPS-*FAS*'ın otozomal resesif formunun, ALPS-*FAS* hastalarının yaklaşık olarak %4.5'inde gözleendiği ve genellikle tespit edilmiş bir *FAS* protein ekspresyonu ve bozulmuş apoptoz göstermediği dikkate alınmalıdır [21]. Bizim çalışmamızda *FAS* homozigot ve *Caspase 8* homozigot mutasyonu olan hastalarımızda apoptoz testi kusurlu olarak bulundu. Nadir bir hastalık olması ve literatürde de belirtildiği gibi genetik değişkenliğin fazla olması nedeniyle genotip-fenotip ilişkisinin belirlenmesi ve genetik tanı ile hastalığı anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kesin otoimmün lenfoproliferatif sendrom tanısı konulan hastalar ile olası ALPS tanısı ile izlenen hastalara tedavi açısından benzer şekilde yaklaşılmaktadır. ALPS'de görülen sitopeninin tedavisi otoimmün sitopenilerdeki gibi tedavi edilmektedir. Ancak tanı için erken şüphe duymak ve hastalığa spesifik immünsüpresif ajanların erken başlanması kliniği iyileştirmektedir. Çalışmamızdaki hastaların çoğunu otoimmün sitopenilerini IVIG, steroid veya mikofenolat mofetil ile tedavi edebildik. Dirençli giden vakalarda ikinci tercih sirolimus oldu. Sirolimus ile bir hastada fayda sağlanırken bir hasta yanıt vermedi. ITP nedeniyle dirençli

trombositopenisi olan bir hastaya siklosporin verildi ancak yanıt alınmadı. Literatürde *FAS* geninde heterozigot mutasyonu olan, splenomegali, lenfadenopati ve sitopenileri olan bir vakada steroid ve IVIG tedavilerine dirençli olması nedeniyle sirolimus başlandı ve tedaviden sonra splenomegalide hızlı gerileme ve trombosit sayılarının normal aralığa geldiği raporlanmıştır [67]. Otoimmün bulgular olmadan sadece lenfoproliferasyon ile seyreden hafif kliniğe sahip hastalar klinik izlem ile takip edilir. Çalışmamızda iki hastamıza tedavi vermeden klinik izlem planladık. Ancak apoptoz testi de kusurlu olan bir hastamızın servikal lenfadenopati ve dalak boyutlarının artması nedeniyle ilk tercih olarak metilprednizolon verildi. Daha sonra steroid tedavisi azaltılarak kesildi ve sirolimus başlandı. Sirolimus ile lenfoproliferasyon bulgularında belirgin gerileme oldu. Teachey ve arkadaşlarının farelerde yaptığı çalışmada sirolimusun dördüncü haftada lenfadenopati ve splenomegali bulgularını anlamlı derece azalttığı gösterilmiştir. Yine bu çalışmada sirolimus ile MMF etkinliği karşılaştırılmış ve lenfoproliferasyon bulgularını azaltmada sirolimusun daha etkili olduğu gösterilmiştir [35]. Splenomegalide sepsis riski nedeniyle splenektomi önerilmemekle beraber bir hastamıza splenektomi yapılmıştı ve sepsis gelişmedi. Ancak risklerini değerlendirmek için daha uzun süreli izleme ihtiyaç vardır.

Hafezi ve arkadaşlarının [21] yaptığı geniş bir kohorta sahip (n=780) derlemede, semptomatik hastaların yaklaşık üçte biri (n=244; %31.3) immünsüpresif tedavi almıştır. Tek başına sistemik kortikosteroid 244 hastanın 90'ı (%36.9) ve diğer biyolojik ajanlarla kombinasyon halinde (244'ün 112'si; %45.9) immünsüpresif tedavi almıştır. Hedeflenen immünsüpresif tedavi, 244 hastanın 153'üne (%62.7) verilmiştir. Mikofenolat mofetil (n= 68; %44.4), sirolimus (n= 63; %41.2), siklosporin (n= 25; %16.3), rituximab (n= 20; %13.1), azatioprin (n= 15; %9.8), siklofosfamid (n= 8; %5.2), abatasept (n= 8; %5.2) ve metotreksat (n= 6; %3.9) verilmiştir [21]. *TNFRSF6* mutasyona sahip 90 hastanın izlendiği çalışmada, hastaların 64'ünde (%86) tedavi ihtiyacı olduğu bildirilmiştir [18]. Somatik *FAS* mutasyonuna sahip 90 vakanın retrospektif olarak incelendiği çalışmada; otoimmünite nedeniyle tedavi edilen 45 hastadan 7'si tek basamak tedavi, 13 hasta iki ve 25 hasta üç ve daha fazla immünsüpresif ajan ile tedavi aldığı raporlanmıştır[18]. Bizim çalışmamızda immünsüpresif tedavi seçeneklerinden %20'si (n= 4) sadece kortikosteroid, %35'i (n=

7) steroid ve diğer immünsüpresif ajanlar ile kombine tedavi şeklindeydi. Steroidin ilk basamak tedavi olarak tercih edilmektedir. Ancak steroidin uzun süreli kullanımında yan etkilerinden dolayı diğer immünsüpresif ajanların tercih edilmesi uygun olacaktır.

ALPS'nin tek iyileştirici tedavisi, vaka raporlarında başarılı bir şekilde gösterilen kemik iliği naklidir [40]. Ancak, ALPS'nin ciddiyeti ile karşılaştırıldığında nakil riskleri nedeniyle, riskler ve faydalar dikkatle tartılmalıdır. Bizim çalışmamızda HKHN yapılan hasta yoktu.

Fonksiyonel apoptoz çalışmalarından elde edilen sonuçların yorumlanmasında *FAS* geninde bulunan mutasyonların lokasyonu ve Fas protein ekspresyonu belirleyicidir. ALPS-FAS mutasyonu olan bir hastada apoptozun az olduğu ancak ALPS-FASLG mutasyonu olan bir hastada apoptoz uyarımının daha iyi olduğu gösterilmiştir[3]. Bizim çalışmamızda da *FASLG* heterozigot mutasyonu olan hastanın apoptoz testi normal iken *FAS* homozigot mutasyonu olan hastanın apoptoz testi kusurlu sonuçlandı. *FAS* proteininin hücre dışı alanlardaki *FAS* mutasyonları, hücre içi mutasyonlarla karşılaştırıldığında lenfositik Fas ekspresyonunun daha düşük ve apoptotik kusurun daha hafif olduğu görülmüştür. Bu sonuç, moleküler düzeyde haployetmezliğin apoptozda etkisini doğrulamaktadır. Bu nedenle, *FAS* proteininin hücre dışı mutasyonları olan ALPS-FAS hastaları veya tanımlanamayan genetik mutasyonu olan hastaların en az üç kez anti-Fas konsantrasyonunun (100-1000 ng/mL arasında) test edilmesi tavsiye edilmektedir[3]. Hafezi ve arkadaşlarının yaptığı derlemede, ALPS'li hastaların %87.3'ünde (299'un 261'i) ve ALPS benzeri hastaların %78.3'ünde (23'ün 18'i) apoptozun kusurlu olduğu raporlanmıştır ( $p = 0.210$ )[21]. Oliveria ve arkadaşlarının [17] 2009 yılı çalıştay raporunda ALPS tanısı için lenfosit apoptoz testinin şart olmaması gerektiği çünkü somatik *FAS* mutasyonları ve germline *FASLG* mutasyonları olan hastaların *FAS* kaynaklı apoptoz analizlerinin normal olduğu öne sürülmüştür[68-70]. Ancak gerekli kriterleri karşılayan hastalarda tekrarlanabilir apoptotik defektin varlığı ALPS tanısı için yeterlidir. Çalışmamızda, in vitro apoptoz testi yapılan 20 hastadan yalnızca ikisinde sonuç anormal bulundu. Bu iki hastadan birinde lenfoproliferasyon bulguları ve DNT yüksekliği (%32) olan ALPS tanı kriterlerini karşılayan hastanın in vitro apoptoz testi kusurlu bulundu. Diğer hastada ise tekrarlayan enfeksiyon öyküsü olup, lenfoproliferasyon bulguları yoktu

ancak DNT yüksekliği (%13) olan hasta ALPS kesin tanı kriterlerinden %50'sini karşılıyordu ve apoptoz testi kusurlu bulundu. ALPS benzeri hastalıkta da apoptozun kusurlu olabileceği bilinmektedir.

İn vitro apoptoz testinin bazı zorlukları vardır. Testin rutinde tek incelemede tanısal olmayabileceği akılda tutulmalı ve uygun koşullarda en az iki ayrı zamanda değerlendirme yapılmalı. Ayrıca hastaların klinik bulgularına yönelik kullanmakta olduğu immünsüpresif/immünmodölatör tedavilerden test etkilenmiş olabilir. Hücre izolasyonlarının da zorluğu nedeniyle değerlendirmesi zor bir testtir. Apoptoz testinin maliyetinin fazla olması nedeniyle kullanımı yaygın değildir.

Otoimmün lenfoproliferatif sendromda özel bir bağışıklık hücresi popölasyonu olan FAS kontrollü TCRa $\beta$ + T hücreleri, CD4+, CD8+ ve çift negatif T hücreleri içerir ve bu hücrelerin birikimi patogeneze sorumludur. CD38+CD45RA+ olan IL-10 üreten poliklonal T hücre popölasyonu RNA sekans ve mass sitometri ile ALPS signature çalışması daha spesifik olabilir [71].

ALPS benzeri hastalıklar içerisinde pek çok genetik etiyoloji olması ve moleküler defektin tanımlanması nedeniyle bu hastalarda tanı için genetik analiz değerlidir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Kliniğe başvuru nedeni olarak hastaların %75'inde otoimmünite bulguları, %60'ında lenfoproliferasyon, %35'inde enfeksiyon, %10'unda allerjik hastalık bulunuyordu. Hastaların 13'ünde (%65) iki veya daha fazla bulgu biraradaydı. En fazla birlikte görülen bulgular trombositopeni ve hepatosplenomegali idi. Klinikte altı aydan uzun süreli, enfeksiyon veya malignite ile ilişkisi olmayan lenfoproliferasyon bulguları olan hastalarda ALPS tanısı akılda tutulmalıdır.

2. En sık görülen otoimmün bulgular sırasıyla, otoimmün trombositopeni (n=9), otoimmün hemolitik anemi (n=5), otoimmün nötropeni (n=4), otoimmün hipotiroidi (n=2), psöriazis (n=1) ve otoimmün serebellit (n=1) idi. Özellikle standart tedaviye dirençli sitopenilerde ALPS tanısını düşünmek, hastalığa spesifik immünsüpresif ajanların başlanmasını sağlar.

3. ALPS tanı kriterlerinde yer alan bulgulardan kesin kriterlerden en sık görülen DNT yüksekliği (n=20), ikinci splenomegali (n=10), üçüncü lenfadenopati (n=7) idi. Birincil destekleyici kriterlerden genetik mutasyonu olan üç hasta vardı. Lenfosit apoptozun bozuk olduğu ise iki hasta vardı. İkincil destekleyici kriterlerden en sık görülen (n=14) otoimmün sitopeni idi. Daha sonra histopatolojik bulguları ALPS ile uyumlu olan beş hasta mevcuttu. Vitamin B12 düzeyi dört hastada yüksekti. Serum IgG yüksekliği olan yalnızca bir hasta vardı.

4. Laboratuvar bulgularından en öne çıkan pozitiflik DNT yüksekliği oldu. Hiçbir hastada CD8+ düşüklüğü saptanmadı. Hastaların hiçbirinde *naïve* Th hücrelerde yükseklik saptanmadı. Hastaların hiçbirinde *efektör memory* Th hücre yüzdesi düşük değildi. B hücre alt grupları değerlendirildiğinde *memory* B ve *switched memory* B hücre yüzdelerinin hastaların çoğunda (n=9) düşük olduğu görüldü.

5. Hastaların tamamı olası ALPS olmasına karşın *in vitro* apoptoz testi hastalıkla uyumlu bulunan yalnızca iki hasta mevcuttu.

6. *In vitro* apoptoz testi hastaların kullanmış olduğu ilaçlardan etkilenmiş olabilir. Testin rutinde tek incelemede tanısız olmayabileceği akılda tutulmalı ve uygun koşullarda en az iki ayrı zamanda değerlendirme yapılmalı.

7. Genetik inceleme sonucunda 20 hastanın 6'sında ALPS veya ALPS benzeri hastalığa neden olan varyant saptandı. Genetik inceleme sonrası tanı oranının daha



yüksek olması, immün yetmezlik şüphesi olduğunda genetik incelemenin daha ön sıralarda yer alması gereken bir inceleme olduğunu göstermektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Chan, A.Y. and T.R. Torgerson, *Primary immune regulatory disorders: a growing universe of immune dysregulation*. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2020. **20**(6): p. 582-590.
2. Molnar, E., et al., *Key diagnostic markers for autoimmune lymphoproliferative syndrome with molecular genetic diagnosis*. *Blood*, 2020. **136**(17): p. 1933-1945.
3. Casamayor-Polo, L., et al., *Immunologic evaluation and genetic defects of apoptosis in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS)*. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2021. **58**(4): p. 253-274.
4. Bousfiha, A., et al., *The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity*. *J Clin Immunol*, 2022. **42**(7): p. 1508-1520.
5. Chan, A.Y., et al., *Hematopoietic Cell Transplantation in Patients With Primary Immune Regulatory Disorders (PIRD): A Primary Immune Deficiency Treatment Consortium (PIDTC) Survey*. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 239.
6. Canale, V.C. and C.H. Smith, *Chronic lymphadenopathy simulating malignant lymphoma*. *J Pediatr*, 1967. **70**(6): p. 891-9.
7. Sneller, M.C., et al., *Clinical, immunologic, and genetic features of an autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with abnormal lymphocyte apoptosis*. *Blood*, 1997. **89**(4): p. 1341-8.
8. Rieux-Laucat, F., et al., *Mutations in Fas associated with human lymphoproliferative syndrome and autoimmunity*. *Science*, 1995. **268**(5215): p. 1347-9.
9. Fisher, G.H., et al., *Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome*. *Cell*, 1995. **81**(6): p. 935-46.
10. Matson, D.R. and D.T. Yang, *Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome: An Overview*. *Arch Pathol Lab Med*, 2020. **144**(2): p. 245-251.
11. Teachey, D.T., A.E. Seif, and S.A. Grupp, *Advances in the management and understanding of autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS)*. *Br J Haematol*, 2010. **148**(2): p. 205-16.
12. Straus, S.E., et al., *The development of lymphomas in families with autoimmune lymphoproliferative syndrome with germline Fas mutations and defective lymphocyte apoptosis*. *Blood*, 2001. **98**(1): p. 194-200.
13. Price, S., et al., *Natural history of autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with FAS gene mutations*. *Blood*, 2014. **123**(13): p. 1989-99.
14. Kerr, J.F., A.H. Wyllie, and A.R. Currie, *Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics*. *Br J Cancer*, 1972. **26**(4): p. 239-57.
15. Bolze, A., et al., *Whole-exome-sequencing-based discovery of human FADD deficiency*. *Am J Hum Genet*, 2010. **87**(6): p. 873-81.
16. Chun, H.J., et al., *Pleiotropic defects in lymphocyte activation caused by caspase-8 mutations lead to human immunodeficiency*. *Nature*, 2002. **419**(6905): p. 395-9.

17. Oliveira, J.B., et al., *Revised diagnostic criteria and classification for the autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS): report from the 2009 NIH International Workshop*. Blood, 2010. **116**(14): p. e35-40.
18. Neven, B., et al., *A survey of 90 patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome related to TNFRSF6 mutation*. Blood, 2011. **118**(18): p. 4798-807.
19. Li, P., et al., *Updated Understanding of Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome (ALPS)*. Clin Rev Allergy Immunol, 2016. **50**(1): p. 55-63.
20. Lambotte, O., et al., *Diagnosis of autoimmune lymphoproliferative syndrome caused by FAS deficiency in adults*. Haematologica, 2013. **98**(3): p. 389-92.
21. Hafezi, N., et al., *Clinical, immunological, and genetic features in 780 patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) and ALPS-like diseases: A systematic review*. Pediatr Allergy Immunol, 2021. **32**(7): p. 1519-1532.
22. Sneller, M.C., et al., *A novel lymphoproliferative/autoimmune syndrome resembling murine lpr/gld disease*. J Clin Invest, 1992. **90**(2): p. 334-41.
23. Allen, C.E., *ALPS DNT cells: active senior living with mTOR*. Blood, 2016. **128**(2): p. 152.
24. Brandt, D. and C.M. Hedrich, *TCRalpha(+)CD3(+)CD4(-)CD8(-) (double negative) T cells in autoimmunity*. Autoimmun Rev, 2018. **17**(4): p. 422-430.
25. Bleesing, J.J.H., C.B. Nagaraj, and K. Zhang, *Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome*, in *GeneReviews((R))*, M.P. Adam, et al., Editors. 1993: Seattle (WA).
26. Teachey, D.T., et al., *Treatment with sirolimus results in complete responses in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome*. Br J Haematol, 2009. **145**(1): p. 101-6.
27. Bride, K.L., et al., *Sirolimus is effective in relapsed/refractory autoimmune cytopenias: results of a prospective multi-institutional trial*. Blood, 2016. **127**(1): p. 17-28.
28. Shah, S., et al., *Autoimmune lymphoproliferative syndrome: an update and review of the literature*. Curr Allergy Asthma Rep, 2014. **14**(9): p. 462.
29. Rao, V.K., et al., *Use of mycophenolate mofetil for chronic, refractory immune cytopenias in children with autoimmune lymphoproliferative syndrome*. Br J Haematol, 2005. **129**(4): p. 534-8.
30. Rao, A., et al., *Safety, efficacy, and immune reconstitution after rituximab therapy in pediatric patients with chronic or refractory hematologic autoimmune cytopenias*. Pediatr Blood Cancer, 2008. **50**(4): p. 822-5.
31. Rao, V.K., et al., *Use of rituximab for refractory cytopenias associated with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS)*. Pediatr Blood Cancer, 2009. **52**(7): p. 847-52.
32. Rao, V.K. and J.B. Oliveira, *How I treat autoimmune lymphoproliferative syndrome*. Blood, 2011. **118**(22): p. 5741-51.
33. Taylor, A.L., C.J. Watson, and J.A. Bradley, *Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: Mechanisms of action and therapeutic efficacy*. Crit Rev Oncol Hematol, 2005. **56**(1): p. 23-46.

34. Penel Page, M., et al., *Treatment with cyclosporin in auto-immune cytopenias in children: The experience from the French cohort OBS'CEREVANCE*. Am J Hematol, 2018.
35. Teachey, D.T., et al., *Rapamycin improves lymphoproliferative disease in murine autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS)*. Blood, 2006. **108**(6): p. 1965-71.
36. Fouda, G.E. and S. Bavbek, *Rituximab Hypersensitivity: From Clinical Presentation to Management*. Front Pharmacol, 2020. **11**: p. 572863.
37. Barmettler, S. and C. Price, *Continuing IgG replacement therapy for hypogammaglobulinemia after rituximab--for how long?* J Allergy Clin Immunol, 2015. **136**(5): p. 1407-9.
38. Khandelwal, P., et al., *Bortezomib for refractory autoimmunity in pediatrics*. Biol Blood Marrow Transplant, 2014. **20**(10): p. 1654-9.
39. Benkerrou, M., et al., *Correction of Fas (CD95) deficiency by haploidentical bone marrow transplantation*. Eur J Immunol, 1997. **27**(8): p. 2043-7.
40. Sleight, B.J., et al., *Correction of autoimmune lymphoproliferative syndrome by bone marrow transplantation*. Bone Marrow Transplant, 1998. **22**(4): p. 375-80.
41. Boyle, S., et al., *Splenectomy and the incidence of venous thromboembolism and sepsis in patients with immune thrombocytopenia*. Blood, 2013. **121**(23): p. 4782-90.
42. Lopez-Nevado, M., et al., *Primary Immune Regulatory Disorders With an Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome-Like Phenotype: Immunologic Evaluation, Early Diagnosis and Management*. Front Immunol, 2021. **12**: p. 671755.
43. Palmisani, E., et al., *Clinical features and therapeutic challenges of cytopenias belonging to alps and alps-related (ARS) phenotype*. Br J Haematol, 2019. **184**(5): p. 861-864.
44. Bravo Garcia-Morato, M., et al., *Mutations in PIK3R1 can lead to APDS2, SHORT syndrome or a combination of the two*. Clin Immunol, 2017. **179**: p. 77-80.
45. Chen, X., et al., *Molecular and Phenotypic Characterization of Nine Patients with STAT1 GOF Mutations in China*. J Clin Immunol, 2020. **40**(1): p. 82-95.
46. Schipp, C., et al., *EBV Negative Lymphoma and Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome Like Phenotype Extend the Clinical Spectrum of Primary Immunodeficiency Caused by STK4 Deficiency*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 2400.
47. Cagdas, D., et al., *A Spectrum of Clinical Findings from ALPS to CVID: Several Novel LRBA Defects*. J Clin Immunol, 2019. **39**(7): p. 726-738.
48. Girardelli, M., et al., *The diagnostic challenge of very early-onset enterocolitis in an infant with XIAP deficiency*. BMC Pediatr, 2015. **15**: p. 208.
49. Fabre, A., et al., *STAT3 Gain of Function: A New Kid on the Block in Interstitial Lung Diseases*. Am J Respir Crit Care Med, 2018. **197**(11): p. e22-e23.

50. Zhang, Z., et al., *Human interleukin-2 receptor beta mutations associated with defects in immunity and peripheral tolerance*. J Exp Med, 2019. **216**(6): p. 1311-1327.
51. Navarini, A.A., et al., *Vedolizumab as a successful treatment of CTLA-4-associated autoimmune enterocolitis*. J Allergy Clin Immunol, 2017. **139**(3): p. 1043-1046 e5.
52. Milner, J.D., et al., *Early-onset lymphoproliferation and autoimmunity caused by germline STAT3 gain-of-function mutations*. Blood, 2015. **125**(4): p. 591-9.
53. Gamez-Diaz, L., et al., *The extended phenotype of LPS-responsive beige-like anchor protein (LRBA) deficiency*. J Allergy Clin Immunol, 2016. **137**(1): p. 223-230.
54. Piatosa, B., et al., *B cell subsets in healthy children: reference values for evaluation of B cell maturation process in peripheral blood*. Cytometry B Clin Cytom, 2010. **78**(6): p. 372-81.
55. Shearer, W.T., et al., *Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: the Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study*. J Allergy Clin Immunol, 2003. **112**(5): p. 973-80.
56. Schatorje, E.J., et al., *Paediatric reference values for the peripheral T cell compartment*. Scand J Immunol, 2012. **75**(4): p. 436-44.
57. Aksu, G., et al., *Serum immunoglobulin (IgG, IgM, IgA) and IgG subclass concentrations in healthy children: a study using nephelometric technique*. Turk J Pediatr, 2006. **48**(1): p. 19-24.
58. Deutsch, M., E. Tsopanou, and S.P. Dourakis, *The autoimmune lymphoproliferative syndrome (Canale-Smith) in adulthood*. Clin Rheumatol, 2004. **23**(1): p. 43-4.
59. Hansford, J.R., et al., *In utero and early postnatal presentation of autoimmune lymphoproliferative syndrome in a family with a novel FAS mutation*. Haematologica, 2013. **98**(4): p. e38-9.
60. Seif, A.E., et al., *Identifying autoimmune lymphoproliferative syndrome in children with Evans syndrome: a multi-institutional study*. Blood, 2010. **115**(11): p. 2142-5.
61. Dean, G.S., et al., *Characterization of CD3+ CD4- CD8- (double negative) T cells in patients with systemic lupus erythematosus: production of IL-4*. Lupus, 2002. **11**(8): p. 501-7.
62. Alunno, A., et al., *CD4(-)CD8(-) T-cells in primary Sjogren's syndrome: association with the extent of glandular involvement*. J Autoimmun, 2014. **51**: p. 38-43.
63. Ling, E., G. Shubinsky, and J. Press, *Increased proportion of CD3+CD4-CD8- double-negative T cells in peripheral blood of children with Behcet's disease*. Autoimmun Rev, 2007. **6**(4): p. 237-40.
64. Leiding, J.W., et al., *Monogenic early-onset lymphoproliferation and autoimmunity: Natural history of STAT3 gain-of-function syndrome*. J Allergy Clin Immunol, 2023. **151**(4): p. 1081-1095.
65. Revel-Vilk, S., et al., *Autoimmune lymphoproliferative syndrome-like disease in patients with LRBA mutation*. Clin Immunol, 2015. **159**(1): p. 84-92.

66. Rezaei, N., et al., *T- helper 1 and 2 cytokine assay in patients with common variable immunodeficiency*. J Investig Allergol Clin Immunol, 2008. **18**(6): p. 449-53.
67. Gu, H., et al., *Case report: Effectiveness of sirolimus in a de novo FAS mutation leading to autoimmune lymphoproliferative syndrome-FAS and elevated DNT/Treg ratio*. Front Pediatr, 2022. **10**: p. 868193.
68. Holzelova, E., et al., *Autoimmune lymphoproliferative syndrome with somatic Fas mutations*. N Engl J Med, 2004. **351**(14): p. 1409-18.
69. Bi, L.L., et al., *Dominant inhibition of Fas ligand-mediated apoptosis due to a heterozygous mutation associated with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) Type Ib*. BMC Med Genet, 2007. **8**: p. 41.
70. Del-Rey, M., et al., *A homozygous Fas ligand gene mutation in a patient causes a new type of autoimmune lymphoproliferative syndrome*. Blood, 2006. **108**(4): p. 1306-12.
71. Maccari, M.E., et al., *A distinct CD38<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> population of CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, and double-negative T cells is controlled by FAS*. J Exp Med, 2021. **218**(2).