

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ERİŞKİNLERDE İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIĞI VE ÇÖLYAK  
HASTALIĞI TANILARI İLE İZLENEN HASTALARDA LRBA  
(LPS-RESPONSIVE BEIGE-LIKE ANCHOR) EKSİKLİĞİ İLE İLİŞKİLİ  
PRİMER İMMÜN YETMEZLİK VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Uzm. Dr. Ertuğrul Çağrı BÖLEK

İmmünoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA  
2020



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ERİŞKİNLERDE İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIĞI VE ÇÖLYAK  
HASTALIĞI TANILARI İLE İZLENEN HASTALARDA LRBA  
(LPS-RESPONSIVE BEIGE-LIKE ANCHOR) EKSİKLİĞİ İLE İLİŞKİLİ PRİMER  
İMMÜN YETMEZLİK VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Uzm. Dr. Ertuğrul Çağrı BÖLEK

İmmünoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Feyzi İlhan TEZCAN

ANKARA  
2020

**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**ERİŞKİNLERDE İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIĞI VE ÇÖLYAK HASTALIĞI TANILARI İLE**  
**İZLENEN HASTALARDA LRBA (LPS-RESPONSIVE BEIGE-LIKE ANCHOR) EKSİKLİĞİ İLE İLİŞKİLİ**  
**PRİMER İMMÜN YETMEZLİK VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Öğrenci: Uzm. Dr. Ertuğrul Çağrı Bölek

Danışman: Prof. Dr. F. İlhan Tezcan

Bu tez çalışması 04.12.2020 tarihinde jürimiz tarafından "İmmünoloji Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

- Jüri Başkanı:** *Prof. Dr. Fatma Gümrük* (imza)  
*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,*  
*Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Pediatrik Hematoloji BD*
- Tez Danışmanı:** *Prof. Dr. F. İlhan Tezcan* (imza)  
*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,*  
*Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Pediatrik İmmünoloji BD*
- Üye:** *Prof. Dr. Taylan Kav* (imza)  
*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,*  
*İç Hastalıkları ABD, Gastroenteroloji BD*
- Üye:** *Prof. Dr. Cemalettin Aybay* (imza)  
*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji ABD*
- Üye:** *Dr. Öğr. Üyesi Saliha Esenboğa* (imza)  
*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,*  
*Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Pediatrik İmmünoloji BD*

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

*Prof. Dr. Diclehan Orhan*

**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan *“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”* kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren .. ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

..... /..... /.....

(İmza)

Uzm. Dr. Ertuğrul Çağrı BÖLEK

/

<sup>1a</sup>“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metodların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.  
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir  
\* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN SAYFASI

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, Prof. Dr. F. İlhan Tezcan danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

*(İmza)*  
*Uzm. Dr. Ertuğrul ağrı Bölek*

## TEŞEKKÜR

*“Money does not represent such a value as men have placed upon it. All my money has been invested into experiments with which I have made new discoveries enabling mankind to have a little easier life.”<sup>1</sup>*

### Nikola Tesla

İmmünolojiyi sevdirmek ve mentörlük etmek yanında; kendimi gerçekleştirme fırsatı verdiği ve bir çok zorlu zamanımda yanımda olduğunu hissettirdiği için tez danışmanım Prof. Dr. F. İlhan Tezcan’a,

Laboratuvardaki adımlarımda elimden tutan Dr. Öğr. Üyesi Çağman Tan ve Dr. Öğr. Üyesi Sevil Oskay Halaçlı şahsında tüm Hacettepe Pediatrik İmmünoloji Laboratuvar ekibine,

Beni nadir hastalıklarla tanıştıran ve ilk defa yurtdışına gitmem için destek olan, sabırla beni yüreklendiren Prof. Dr. Taylan KAV’a, mentörlük edip hep destek olan Prof. Dr. Ömer Karadağ ve bu çalışmayı tamamlamam için fırsat verip destekleyen tüm romatoloji hocalarıma,

Tüm süreç boyunca bana anlayış gösteren eşim Uzm. Dr. Hatice Bölek ve bilgisayarlarımızın üstünden inmeyen kedimiz Cedric’e

Ve bana her zaman ilham kaynağı olmuş merhum Prof. Dr. Hulusi Behçet ile bana otoimmüniteyi sevdiren tüm hastalarıma,

Teşekkürü bir borç bilirim.

---

<sup>1</sup> Türkçe çevirisi: “Para insanoğlunun ona biçtiği kıymete haiz değildir. Benim tüm param, insanlığın biraz daha kolay bir yaşama sahip olmasını sağlayan yeni keşifler yaptığım deneylere yatırılmıştır”.

## ÖZET

**Bölek, E.Ç., Erişkinlerde İnflamatuvar Barsak Hastalığı Ve Çölyak Hastalığı Tanıları İle İzlenen Hastalarda LRBA (Lps-Responsive Beige-Like Anchor) Eksikliği İle İlişkili Primer İmmün Yetmezlik Varlığının Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmünoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2020.** Bu çalışmada, inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) ve çölyak hastalığı(ÇH) tanıları ile takip edilen erişkin hastalarda LRBA eksikliği ile ilişkili primer immün yetmezlik hastalığı varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla çölyak hastalığı (n=11) ve inflamatuvar barsak hastalığı (n=24) olan 35 hasta ve 13 sağlıklı kontrolün periferik kandaki, aktive edilen CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup>/FoxP3<sup>+</sup> Treg hücrelerindeki CTLA-4 ve LRBA protein ifadeleri akım sitometrik yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sağlıklı kontroller ve hasta bireyler karşılaştırıldığında; Treg yüzdeleri İBH grubunda daha belirgin olmak üzere (İBH: %4,5, ÇH: %5,2) hasta grubunda daha düşük bulunmuştur (kontroller: %5,8, hasta bireyler: %5,1; p= 0,19). Ortanca CTLA-4 ve LRBA ifadeleri (FI) her deneydeki sağlıklı kontrollere göre düzeltme oranı uygulanarak karşılaştırıldığında; İBH olan hastaların 12'sinde (%50) düşük LRBA ifadesi saptanmıştır. Hasta ve sağlıklı bireylerin CTLA-4 ve LRBA ifadelerine göre saçılım grafiği incelendiğinde bu iki molekülün ifadeleri açısından lineer bir korelasyon saptanmıştır. LRBA ifadesi düşük tespit edilmiş 4 bireyin değerlendirildiği primer immün yetmezlik paneline yönelik yeni nesil dizileme analizinde İBH olan bir hastada LRBA geninde heterozigot kalıtılan yeni bir varyant saptanmıştır. Bu durum en büyük sekonder lenfoid organ olarak kabul edilen intestinal sistemin enteropati durumu ile ilişkili faktörler veya değişiklikler hakkında bilgi vermektedir. Diğer düşük ifadeye sahip bireylerin ve daha geniş başka hasta serilerinde ayrıntılandırılması gereken bu bilgiler İBH başta olmak üzere immün aracılı enteropatisi olan bireylerde tanı, etiyoloji ve tedavi sürecinde faydalı bilgiler verecektir.

**Anahtar Kelimeler:** İnflamatuvar Barsak Hastalığı, Çölyak Hastalığı, Primer İmmün Yetmezlik, LRBA, CTLA-4



## ABSTRACT

**Bolek, E.C., Investigation of Primary Immune Deficiency Associated with LRBA (Lps-Responsive Beige-Like Anchor) Deficiency in Adult Patients with Diagnosed with Inflammatory Bowel Disease and Celiac Disease, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Immunology Program Master Thesis, Ankara, 2020.** In the present study, it was aimed to investigate the presence of the primary immunodeficiency disorder associated with LRBA deficiency in adult patients followed-up with diagnosis of inflammatory bowel disease (IBD) and celiac disease (CD). For this purpose, CTLA-4 and LRBA protein expression levels of activated peripheral blood CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup>/FoxP3<sup>+</sup> Treg cells belonging to 35 patients (CD= 11 and IBD = 24) and 13 healthy controls, were evaluated by flow cytometric analysis. According to comparison between healthy controls and sick individuals; Treg percentages were found to have lower levels in the patient group (controls: 5.8%, sick individuals: 5.1%; p = 0.19), especially in IBD group (IBD: 4.5%, CD: 5.2%). Median FI levels for CTLA-4 and LRBA expression were compared to healthy controls in each experiment by applying the correction ratio; low levels of LRBA expression was determined in 12 (50%) of the patients with IBD. According to scatter-plot graph of all individuals for CTLA-4 and LRBA expressions; there was a linear correlation between the flow-cytometric expression of the two molecules. A new heterozygous-inherited genetic variant in the LRBA gene was detected in one among 4 individuals (which have low LRBA expression) at the primary immunodeficiency panel via next generation sequencing analysis. These results illuminate the some factors or changes associated with the immune-related enteropathy of the intestinal system, which is considered to be the largest secondary lymphoid organ. Findings should be evaluated in the other patients have low-expression for LRBA (and maybe in another larger cohort). It is considered that it may provide useful data in terms of diagnosis, etiology and treatment course of the immune-related enteropathy, especially IBD.

**Key Words:** Inflammatory Bowel Disease, Celiac Disease, Primary Immunodeficiency Disorders, LRBA, CTLA-4

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARI	3
2.1.1 Epidemiyoloji	3
2.1.2 Etiyopatogenez	4
2.1.1 Sınıflandırma, Klinik Bulgular, Hastalık Seyri ve Tanı	6
2.1.2 Tedavi	10
2.2 ÇÖLYAK HASTALIĞI	15
2.2.1 Epidemiyoloji	16
2.2.2 Etiyopatogenez	16
2.2.3 Klinik Bulgular, Hastalık Seyri ve Tanı	19
2.2.4 Tedavi	21
2.3 İMMÜN SİSTEM	21
2.3.1 Primer İmmün Yetmezlik Hastalıkları	22
2.3.2 LRBA Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetmezlik	23
2.3.3 Akım Sitometri Tekniği ile İmmün Yetmezlik Değerlendirilmesi	24

3.	GEREÇ VE YÖNTEM (BİREYLER VE YÖNTEM)	27
3.1	OLGULARIN SEÇİMİ VE ARAŞTIRILMAYA DAHİL EDİLMESİ	27
3.2	LABORATUVAR ÖRNEK ALMA VE DEĞERLENDİRME PROTOKOLÜ	28
3.3	AKIM SİTOMETRİK ANALİZ VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	31
3.4	ETİK KURUL ONAYI VE MADDİ BÜTÇE	34
3.5	İSTATİSTİK ANALİZLER	34
4.	BULGULAR	35
5.	TARTIŞMA	61
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	67
7.	KAYNAKLAR	70
8.	EKLER	
8.1	EK-1: TEZ ÇALIŞMASI İLE İLGİLİ ETİK KURUL İZİNLERİ	
8.2	EK-2: TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	
9.	ÖZGEÇMİŞ	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>5-ASA</b>	5-Aminosalisilik Asit
<b>6-MP</b>	6-Merkaptopürin
<b>ASCA</b>	Anti-Saccharomyces cerevisiae antikorlar
<b>AZA</b>	Azatiyoprin
<b>BT</b>	Bilgisayarlı Tomografi
<b>CH</b>	Crohn hastalığı
<b>CTLA-4</b>	<i>Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4</i>
<b>ÇH</b>	Çölyak hastalığı
<b>FACS</b>	Aktivasyon sonrası periferik kan hücrelerinde akım sitometrik inceleme (Flow cytometry in peripheral blood cells after stimulation)
<b>FSC</b>	Forward Scatter
<b>G6PD</b>	Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz
<b>GWAS</b>	Genom boyu ilişkilendirme çalışması ( <i>genome-wide association study</i> )
<b>IFN-γ</b>	İnterferon gamma
<b>IL-1β</b>	İnterlökin 1-Beta
<b>IL-10</b>	İnterlökin 10
<b>IL-12β</b>	İnterlökin 12-Beta
<b>IL-23</b>	İnterlökin 23
<b>IL-23R</b>	IL-23 reseptörü
<b>İBH</b>	İnflamatuvar barsak hastalığı
<b>İM</b>	İntramusküler
<b>İV</b>	İntravenöz
<b>JAK2</b>	Janus Kinaz 2
<b>LRBA</b>	<i>LPS-responsive beige-like anchor protein</i>
<b>MDP</b>	Muramil dipeptid
<b>MFI</b>	Ortalama floresan intensitesi (Mean fluorescence intensity)
<b>MMF</b>	Mikofenolat Mofetil
<b>MRG</b>	Manyetik rezonans görüntüleme
<b>MTX</b>	Metotreksat

<b>NK</b>	<i>Natural Killer</i> (Doğal Öldürücü)
<b>NOD2</b>	<i>Nucleotide-binding oligomerization domaincontaining 2</i>
<b>NSAID</b>	<i>Non-steroid anti-inflammatory drug</i>
<b>OR</b>	Otozomal Resesif
<b>pANCA</b>	Perinükleer paternde anti-nötrofil sitoplazmik antikör
<b>PO</b>	Peroral
<b>PİYH</b>	Primer immün yetmezlik hastalıkları
<b>Sc</b>	Subkütan
<b>SCID</b>	Ciddi Kombine immün yetmezlik
<b>SLE</b>	Sistemik lupus eritematozus
<b>SNP</b>	Tek nükleotid polimorfizmleri (single nucleotide polymorphisms)
<b>SPSS</b>	Statistical Package for the Social Sciences
<b>SSC</b>	Side Scatter
<b>STAT3</b>	Signal Transducer And Activator Of Transcription 3
<b>TH<sub>1</sub></b>	Yardımcı T hücresi 1
<b>TH<sub>17</sub></b>	Yardımcı T hücresi 17
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tümör nekrozis faktör alfa
<b>TPMT</b>	Tiyopürin metiltransferaz
<b>TPN</b>	Total parenteral nütrisyon
<b>Treg</b>	Regülatuvar T Hücre
<b>TTG</b>	Doku transglutaminaz (tissue transglutaminase)
<b>TYK2</b>	Tirozin Kinaz 2
<b>ÜK</b>	Ülseratif kolit

## ŞEKİLLER

<b>Şekil</b>		<b><u>Sayfa</u></b>
3.1	CD4+CD25highCD127low/-FoxP3+ Regülatuvar T Hücrelerin (Treg) akım sitometrik olarak kapılanması (gating)	33
3.2	Kapılanan CD4+CD25highCD127low/-FoxP3+ Treg hücre grubuna ait LRBA ve CTLA-4 protein ifadelerine ait grafiklerin değerlendirilmesi	33
4.1	Sağlıklı kontroller ve hasta bireylerin (hastalık gruplarına göre) periferik kandaki Treg hücre yüzdelerinin dağılımlarının karşılaştırılması	37
4.2	Sağlıklı kontroller ve hasta bireylerin (hastalık gruplarına göre) CTLA-4 ve LRBA proteinlerinin ifadeleri açısından Ortanca FI değerine göre dağılımlarının karşılaştırılması	38
4.3	Sağlıklı kontroller ile ÇH ve İBH tanılarına sahip hastaların CTLA-4 ortanca FI için deney setleri içinde oluşturulan düzeltme oranları açısından saçılım grafiği (Grafik-1)	42
4.4	Sağlıklı kontroller ile ÇH ve İBH tanılarına sahip hastaların LRBA ortanca FI için deney setleri içinde oluşturulan düzeltme oranları açısından saçılım grafiği (Grafik-2)	43
4.5	LRBA ve CTLA-4 protein ifadeleri için deney kontrollerine göre hesaplanmış düzeltme oranlarına göre hasta ve sağlıklı bireylerin ait saçılım grafiği ve sağlıklı kontrollerin alt sınırları	44
4.6	Tüm bireylerin LRBA ve CTLA-4 protein ifadeleri açısından ortanca FI (Grafik-3; Solda) ve buna göre yapılan düzeltme oranına göre (Grafik-4; Sağda) saçılım grafikleri	46

## TABLULAR

<b>Tablo</b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1. Crohn Hastalığı ve Ülseratif Kolit Genel Özelliklerinin Karşılaştırılması	8
2.2. Crohn Hastalığı ve Ülseratif Kolit Endoskopik inceleme Bulguları	10
2.3. Oslo Çölyak Hastalığı ve İlişkili Durumlar Terminolojisi'ne göre kavramlar	19
2.4. Modifiye Marsh Skorlamasına göre Histopatolojik Evreleme ve Çölyak Hastalığı Riskleri	20
2.5. International Union of Immunological Societies (IUIS) 2017 Primer İmmün Yetmezlik Hastalıkları Sınıflaması	22
2.6. Primer İmmün Yetmezlik Hastalıklarında Akım Sitometri Tekniğinin Uygulama Örnekleri	25
3.1. Çalışmaya dahil edilme ve dışlanma kriterleri	27
4.1. Araştırmaya dahil edilen bireylerin dağılımı	35
4.2. Hasta Bireylerin Klinik Özellikleri	36
4.3. Araştırmaya katılan sağlıklı kontroller ve hastaların akım sitometrik incelemeleri	40
4.4. Birinci deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracılı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri	47
4.5. Birinci deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri	48
4.6. İkinci deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracılı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri	49
4.7. İkinci deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri	50
4.8. Üçüncü deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracılı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri	51

4.9	Üçüncü deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri	52
4.10	Dördüncü deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracılı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri	53
4.11	Dördüncü deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri	54
4.12	Beşinci deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracılı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri	55
4.13	Beşinci deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri	56
4.14	Altıncı deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracılı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri	57
4.15	Altıncı deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri	58
4.16	Yedinci deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracılı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri	59
4.17	Yedinci deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri	60



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar barsak hastalığı (*inflammatory bowel disease*; İBH), başlıcaları Crohn hastalığı (*Crohn's disease*; CH) ve ülseratif kolit (*ulcerative colitis*; ÜK) olan, idiyopatik, kronik inflamatuvar bir intestinal hastalıktır. İnflamasyonun patogenezi henüz tam bilinmemekle birlikte; mevcut veriler patojenik olmayan (kommensal) bakterilerdeki değişimlere karşı bağışıklık yanıtına sebep olan bir immün disregülasyonu düşündürmektedir (1). Benzer şekilde çölyak hastalığı (*coeliac disease* veya *coeliac sprue*; ÇH) da genetik olarak yatkın olan bireylerde glutene karşı immün reaksiyon ile karakterize, özellikle ince barsakları etkileyen bir hastalıktır (2). İmmün aracılı mekanizmalarla meydana gelen intestinal ve ekstra-intestinal klinik yansımalara sahip olabilen bu her iki enteropati; prevalansları popülasyon ve yaş grupları arasından değişiklik gösterse de erişkin popülasyonda göreceli olarak sık rastlandıklarından önemli morbidite ve mortalite sebebi olabilmektedirler.

Primer immün yetmezlik hastalıkları (PİYH); bağışıklık sistemi yanıtının farklı aşamalarında yer alan mekanizmaların herhangi birinde görülen, immün sistem bileşenlerinin niteliksel ve/veya niceliksel eksikliği ile karakterize doğuştan gelen ve klasik olarak enfeksiyonlara yatkınlıkla seyreden heterojen bir grup hastalıktır (3). Günümüzde, bu geniş yelpazedeki hastalık grubunun enfeksiyona yatkınlık yanında; immün disregülasyon kaynaklı otoimmünite/otoinflamasyon, allerji, malignite ya da lenfoproliferatif hastalıklar gibi diğer klinik tablolara neden olabileceğine dair bilgi birikimi ve farkındalık artmaya başlamıştır (4). Hatta bazen otoimmünite bu hastalıkların ilk bulgusu olabilmektedir. CH başta olmak üzere çeşitli İBH'lerin ve ÇH'nin diğer otoimmün hastalıklarla ve hatta immün yetmezliklerle birlikte olabileceği bilinmektedir (5-7). Otoimmün enteropatilerin yanı sıra PİYH'lerde kolaylaşan intestinal enfeksiyon ve enfestasyonlardan kaynaklanan çeşitli malabsorbsiyon sebeplerinin de yanı sıra İBH yada ÇH olarak değerlendirilmiş olabileceği de akılda tutulmalıdır.

İmmünolojik yanıtın düzenlenmesinde T hücre ve antijen sunucu hücre arasındaki etkileşim ile bunu düzenleyen *Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4* (CTLA-4) ve *LPS-responsive beige-like anchor protein* (LRBA) molekülleri önem taşımaktadır. Endo-sitozolik bir protein olan LRBA ekspresyonunda kaybolmaya ya da fonksiyon kaybına sebep olan homozigot mutasyonlar ile ilişkili PİYH de bunlardan biridir (8). İlk defa 2012 yılında tanımlanan bu hastalık; klasik olarak infeksiyonlara yatkınlık, hipogammaglobulinemi ve immün aracıli enteropatiye yatkınlık (İBH benzeri) başta olmak üzere çoklu otoimmünite ile karakterizedir (9).

İçinde bulunduğumuz çağda artan tıbbi tedavi imkanları ve sağlık hizmetlerine erişimin kolaylaşması insanlar için beklenen yaşam ömrünü uzattığı gibi, henüz tanı almamış PİYH olan bireylerin erişkin yaşa ulaşabilmesini kolaylaştırmaktadır. Bu duruma ek olarak erişkin yaş grubu ile ilgilenen tıbbi branş hekimlerinin artan farkındalığı ve gelişen tanısalları olanakların da katkısıyla erişkin yaşta tanı alan olguların sayısı artmaktadır. Özellikle otoimmün yada otoinflamatuar mekanizmalı hastalıklar için takipli ve çeşitli immünsüpresif tedaviler almakta olan bireylerde erişkin yaşta dahi olsa bu duruma sebep olan yada kolaylaştırabilecek altta yatan PİYH tespit edilmesi önemlidir. Çünkü, PİYH saptanması durumunda hastalık seyri, eşlik edebilecek diğer bulgular ile prognozu öngörülebilecektir. Ayrıca seçilmiş hastaların immün yetmezliğe yönelik bazı spesifik tedaviler (intravenöz immünoglobulin ve LRBA eksikliği olan bireyler için abatacept gibi) ve immün rekonstitüsyon yöntemleri (allojeneik kemik iliği transplantasyonu gibi) uygulanabilmesi için aday olabileceği bilinmektedir.

Bu çalışmada, bu tez çalışmasında erişkin yaş grubundaki İBH ve ÇH gibi çeşitli immün aracıli enteropati tanılarını ile takipte olan erişkin bireylerin akım sitometrik yöntemle LRBA eksikliğini değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Böylelikle otozomal resesif (OR) kalıtılan bu hastalık için akraba evliliğinin yaygın olarak görüldüğü bizim toplumumuzdaki varlığı ve sıklığı açısından fikir sahibi olmak ve şüpheli hastaların ileri immünolojik inceleme için yönlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

İBH ve ÇH immün aracılı ve inflamatuvar mekanizmalarla seyreden enteropatilerdir. Erişkin yaşta nadir olmayan görülme sıklıkları, oluşturdukları morbidite ve hayat kalitesine olan etkileri sebebiyle önemli bir sağlık sorunu yükü teşkil etmektedirler. Etiyolojik mekanizmalardan tedavilere uzanan translasyonel yolda çok sayıda karşılanmamış ihtiyaç bulunmaktadır. Bu sebeple bu hastalıkların patogenezinde yer alan immün disregülasyona sebep olabilecek veya hastalığa eşlik edebilen PİYH'lerin tanımlanması önemlidir.

### 2.1 İnflamatuvar Barsak Hastalıkları

İBH, CH ve ÜK, genetik olarak yatkın bireylerde çevresel risk faktörlerine maruziyetle ortaya çıkan kronik inflamatuvar hastalıklardır (10). Çoğunlukla poligenik kalıtılan ve gelişimi multifaktöriyel olan hastalığın mekanizmalarını aydınlatmak üzere çok sayıda çalışma yapılmakla birlikte patogeneze tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

#### 2.1.1 Epidemiyoloji

İBH insidansı ve prevalansı ülkeler arasında değişiklik göstermektedir. Özellikle sanayileşmenin sıklık üzerine etkili olabileceği düşünülmektedir. Kuzey Amerika ve Avrupa (özellikle kuzey ülkeleri) yüksek insidans bildirilen bölgeler arasındadır (11, 12). Kuzey Amerika kökenli yayınlarda yaklaşık insidansın CH için olarak 100.000 hasta-yılında 20,2 (prevalans 100.000 hastada 322); ÜK için 100.000 hasta yılında 19,2 (prevalans 100.000 hastada 505) olduğu bildirilmektedir (13). Epidemiyolojik veriler İBH insidansında hastalığın 15-35 yaş arasında (özellikle CH'nin 15-25 yaş, ÜK'nin 25-35 yaş) zirve yaptığını desteklemektedir (10, 14).

Aile öyküsü, özellikle CH için hafifçe daha belirgin olmak üzere, birinci derece yakınlarında İBH öyküsü olan bireylerde hastalık gelişimi için en az 5 kat artmış rölatif risk oluşturmaktadır (15). Genetik faktörler yanında değişen diyet alışkanlıkları,

intestinal helmint enfestasyonları, antibiyotik kullanımı ve buna bağlı flora değişimleri gibi çevresel etmenler de etkin rol oynamaktadır (16).

Çocukluk çağı İBH'de (özellikle CH) erkek cinsiyet daha belirgin olarak izlenirken (yaklaşık 1,2:1); veriler bu oranın puberte sonrası ve erişkin yaş grubunda kadın cinsiyet yönünde kaydığını göstermektedir (14, 17). ÜK için çocukluk ve erişkin yaş grubunda insidansın her iki cinsiyette benzer olduğu bildirilmektedir (14, 18).

### 2.1.2 Etiyopatogenez

İBH patogenetik mekanizmaları henüz tam olarak aydınlığa kavuşturulmuş değildir. Sağlıklı barsak lamina propriası lüminal mikrobiyotaya karşı immüntolerans yanında, mikrobiyotanın aşırı girişini engelleme ve patojenlere karşı yanıtta rol oynayan çok sayıda, karmaşık immün sistem elemanını bir denge içinde içermektedir (16). İBH gelişimin temelinde, immün sistem disregülasyonuna bağlı olarak patojenik olmayan barsak florasındaki değişimlere karşı oluşan bağışıklık sistemi yanıtı suçlanmaktadır (16). Aktif İBH'de sıklıkla doğal immünite elemanları (nötrofiller, makrofajlar, dendritik hücreler ve doğal öldürücü T hücreleri) ve adaptif bağışıklık sistemi hücrelerinin (B ve T lenfositler) lamina propriaya belirgin olarak infiltrasyonu mevcuttur. Bu infiltrasyon sonucunda sayıları artan ve aktifleşen bu hücre gruplarının tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin 1-Beta (IL-1 $\beta$ ), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) ve interlökin 23 (IL-23) – yardımcı T hücresi 17 (*T Helper 17*; TH<sub>17</sub>) gibi inflamatuvar yolakları aktive etmektedir. (16). Tüm bu durum genetik ve çevresel etmenlerin karşılıklı etkileşimi sonucunda meydana gelmektedir.

#### **Genetik Faktörler:**

Gram negatif ve pozitif bakterilerin peptidoglikan yapısında ortak bulunan korunmuş muramil dipeptid'i (MDP) tanıyan intraselüler reseptör proteini kodlayan *nucleotide-binding oligomerization domaincontaining 2* (NOD2) gen bölgesinin 2001 yılındaki keşfi İBH genetiğinin anlaşılmasındaki önemli kaldırım taşlarından biridir (19, 20).

Teknolojik gelişmeler sayesinde hızlı ve kolay erişilebilir hale gelen genetik sekanslama yöntemleri sayesinde İBH için yatkınlıkta rol oynayan genetik faktörlerin saptanmasında da mesafe katedilmiştir. Tek nükleotid polimorfizmlerini (*single nucleotide polymorphisms*; SNP) tanımlamasında kullanılan, tamamlanmış, çok sayıda genom boyu ilişkilendirme çalışması (*genome-wide association study*; GWAS) bu yöntemlerin başında gelmektedir. Güncel çalışmalarda tanımlanan yaklaşık 163 gen lokusunun 110'u her iki hastalıkta paylaşılsa da CH'ye (33 bölge) ve ÜK'ye özgü (20 bölge) kısımlar da bulunmaktadır (21).

Güncel bilgimize göre IL-23-TH<sub>17</sub> yolağı İBH patogenezinde önemli bir yer tutmaktadır. GWAS çalışmaları ışığında bu yolakta yer alan IL-23 reseptörü (IL-23R), interlökin 12-Beta (IL-12B), Janus Kinaz 2 (JAK2) ve *Signal Transducer And Activator Of Transcription 3* (STAT3) gibi genetik lokusların hem ÜK hem de CH patogenezinde önemli olduğu bilinmektedir (22, 23). Benzer şekilde anti-inflamatuvar bir sitokin olan interlökin 10'u (IL-10) kodlayan gen bölgesi de her iki hastalığın gelişiminde ortak risk olarak yer almaktadır (24).

### **Çevresel Etmenler:**

İkiz çalışmalarından elde edilen verilere göre; aynı genetik zemine sahip insanlar için İBH gelişme ihtimalinin CH için %45 ve ÜK için %10 civarında olması; çevresel değişkenlerin de genetik kadar hastalık gelişimi üzerinde etkili olabileceğini ortaya koymaktadır (25). Coğrafya, sigara kullanımı, ilaçlar, psikolojik özellikler, diyet ve beslenme alışkanlıkları gibi yaygın görülen çevresel risk faktörleri arasında sayılabilir (24). Üzerinde en çok çok çalışılan çevresel risklerden biri olan sigara çalışmalarda CH için belirgin etkileri bulunmasına rağmen ÜK için koruyucu ve alevlenme sıklığını azaltan bir değişken olarak karşımıza çıkmaktadır (26). Benzer şekilde erken yaşta appendektomi yapılması ülseratif kolit için koruyucu bir faktör olarak görünmektedir (27).

Sık kullanılan ilaçlardan steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçların (*non-steroid anti-inflammatory drug*; NSAID) üzerinde en çok durulanlardan olup İBH alevlenmelerini arttırdığı kaydedilmiştir (28). NSAID'lerin intestinal geçirgenliği artırıcı etkilerinin bu durum üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir (28). Bu durum diğer bir çevresel etken olan gastrointestinal mikrobiyom ve luminal içeriğin etkilerini ortaya koyar. Konakçı barsak lümeninde yer alan, trilyonlarca mikroorganizma ile ilişkili canlı ve cansız habitatın oluşturduğu habitat 'mikrobiyom' olarak adlandırılmaktadır ve İBH gelişiminde etkili olduğu gün geçtikçe daha iyi ortaya konmaktadır (29). İBH için yatkınlığa sebep olduğu bilinen genetik özelliklere sahip fakat mikrobiyotası olmayan germ-free modellerde hastalığın gelişmemesi bu düşüncüyü desteklemektedir (25). Geniş spektrumlu antibiyotiklerin ve probiyotik destek ürünlerinin bazı hasta gruplarında görülen etkinliği de bu bağlamda incelenebilir (25).

Mikrobiyom çalışmaları İBH'de; mukozal bakteriyel kolonizasyon sayısının artarken çeşitliliğin azaldığını ortaya koymaktadır (30). Tür ve familya özelinde adherent-invasive *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Mycobacterium avium* paratuberculosis ile enterobacteriaceae ve fusobacteriaceae türleri artarken; bacteroides, clostridia ve Bifidobacteriaceae türleri azalmaktadır (30). İntestinal Paneth hücrelerinin fonksiyonlarında etkili olduğu bilinen otofaji ile ilişkili genler aynı zamanda İBH (özellikle CH) için tanımlanmış risk lokusları arasında yer almaktadır (31). Değişen mikrobiyomun kendisinin ve lipopolisakkarit aracılı inflamatuvar kaskadın tetiklemesi ve artırmasının otofaji üzerine olan potansiyel etkileri; mikrobiyom ile genetik etkileşmesine bir örnek olarak verilebilir (30).

### **2.1.1 Sınıflandırma, Klinik Bulgular, Hastalık Seyri ve Tanı**

İBH; iki idiyopatik inflamatuvar hastalık olan ÜK ve CH başlıkları altında incelenir. Transmural inflamasyonla karakterize CH; atlayıcı tarzda tutulumla seyreden gastrointestinal sistemin her bölümünü tutabilen (sıklıkla terminal ileum ve kolon) bir hastalıktır. ÜK ise sıklıkla rektumdan başlayıp kolona sınırlı tutulum yapan

yüzeysel ve devamlı ülserasyonlarla karakterize bir hastalıktır. Bu iki hastalık birbirinden klinik, endoskopik ve histopatolojik bulgular yardımıyla ayrılrsa da iki hastalığı birbirinden kesin olarak ayırt eden tanımlayıcı tek bir bulgu mevcut değildir. İBH tanısı alan olguların yaklaşık %10-15 kadarı ÜK ve CH ayrımı net olarak yapılamayan indetermine kolit olgularından oluşmaktadır (32). CH ve ÜK için ayırıcı klinik, laboratuvar ve radyolojik özelliklerin karşılaştırılması Tablo 2.1’de verilmiştir.

### ***C r o h n H a s t a l ı ğ ı :***

CH olan olguların yaklaşık %70’inde terminal ileum etkilenmekte olup; %30 izole ileit olup %40 hastada ileokolit şeklinde tutulum izlenmektedir (25). Semptomlar sıklıkla karın ağrısı (özellikle sağ alt kadranda), diyare, kanlı dışkılama (hematokezya), ve yorgunluk olarak kliniğe yansımaktadır. Ağır hastalıkta intestinal obstrüksiyona bağlı olarak kilo kaybı, ateş görülebilir. İntestinal obstrüksiyona sebep olabilen tutulumlarda şiddetli karın ağrısı, kusma ve abdominal distansiyon meydana gelebilir. CH olan yaklaşık %30 olguda gastrointestinal kanalın herhangi bir bölgesi ile farklı bir vücut bölümü (gastrointestinal sistemin başka kısımları, cilt, ürogenital sistem vb.) arasında bağlantı oluşması ile karakterize fistül formasyonu oluşabilir . Hastaların yaklaşık %30’unda perianal hastalık mevcut olup bu bölgede fistül, fissür, skin tag ve abse gelişebilir (25). Hastalar bu durumlarda ağrı ve akıntı şikayetleri ile başvurabilirler. Abse varlığında ateş gibi sistemik inflamasyon bulguları görülebilir. Gastrointestinal sistemin her bölümünü etkileyebildiği için muayene sırasında oral aftlar izlenebilir.

### ***Ülseratif Kolit:***

ÜK olarak tanı alan hastaların yaklaşık %15-30 hastanın tanı anında pankoliti mevcut olup %40 hastanın rektumu aşan hastalığı mevcuttur. Hastaların yakınmaları sıklıkla diyare, hematokezya, mukuslu dışkılama, tenezm ve karın ağrısıdır. CH’ye benzer şekilde ağır olgularda ateş, halsizlik, kilo kaybı gibi konstitüsyonel semptomlar yanında başta demir eksikliği kaynaklı olmak üzere anemi tespit edilebilir.

**Tablo 2.1.** Crohn Hastalığı ve Ülseratif Kolit Genel Özelliklerinin Karşılaştırılması  
(Podolsky, D.K.'nın makalesindeki Tablo 2'den uyarlanmıştır (25))

Özellikler	Crohn Hastalığı	Ülseratif Kolit
<b>Klinik Özellikler</b>		
Ateş	Yaygın	Daha Yaygın
Karın Ağrısı	Yaygın	Değişken
İshal	Yaygın	Oldukça Sık
Rektal Kanama	Yaygın	Oldukça Sık
Kilo Kaybı	Yaygın	Daha yaygın
Perianal Hastalık	Sık	Yok
Abdominal Kitle	Yaygın	Yok
<b>Tutulum Bölgesi</b>		
Özefagus	Nadiren	Hiç
Mide/Duodenum	Nadiren	Hiç
Jejunum	Nadiren	Hiç
İleum	Hastaların 2/3'ünde	Hiç
Kolon	Hastaların 2/3'ünde	Tüm olgularda
<b>İntestinal komplikasyonlar</b>		
Striktür	Yaygın	Bilinmiyor
Fistül	Daha yaygın	Yok
Perforasyon	Nadiren	Bilinmiyor
Toksik Megakolon	Yok	Bilinmiyor
Kanser Gelişimi	Yaygın	Daha yaygın
<b>Radyolojik Bulgular</b>		
İleal Tutulum	Daralma, nodüler	Backwash ileitis
Ülserasyon	Derin, submukozal	Hafif, yüzeysel
Fissür	Sık	Yok
Fistül veya Striktür	Sık	Nadiren
Lezyon Dağılımı	Segmental	Devamlı
<b>Laboratuvar Bulgular</b>		
Perinükleer paternde anti-nötrofil sitoplazmik antikor (pANCA)	Nadiren	%70 civarında
Anti-Saccharomyces cerevisiae antikorlar (ASCA)	%50'den fazla hastada	Nadiren



Enteropatik artropati (spondilit ve periferik artrit) başta olmak üzere her iki hastalıkta da çeşitli ekstraintestinal tutulumlar izlenebilir(33). İridosiklit, eritema nodosum yada piyoderma gangrenozum gibi diğer inflamatuvar tutulumlar da meydana gelebilir (34). İntestinal fonksiyon bozukluğu yada kayıplara bağlı olarak B12 eksikliği, demir eksikliği, anemi ve osteoporosis gibi bozukluklar görülebilir. Tromboembolizm sıklığında artış olduğu bilinmektedir (25). Kronik inflamasyona bağlı sık olmasa da renal amiloidoz izlenebilir.

Bu iki hastalığın tanısı ve birbirinden ayrımlarında iyi bir öykü ve fizik muayeneyi takiben yapılacak laboratuvar testleri ile radyolojik ve endoskopik incelemeler yardımcı olacaktır. Hastanın yakınma ve bulgularına göre ayırıcı tanıda yer alan hastalıkların ekarte edilmesi önemlidir. Örneğin; kardinal yakınmalardan biri olan ishal şikayeti olan bireyler için göreceli olarak daha sık görülen enfeksiyöz etkenler (Parazitler; giardia ve amip gibi mikroorganizmalar yanında bakteriyel etkenler; Escherichia coli, Salmonella sp., Shigella sp., Campylobacter sp. izlenebilir.) yanında sistemik hastalıkların (hipertiroidizm gibi) akılda tutulmalıdır. Ayrımda dışkı incelemeleri yanında kan tetkikleri kullanışlı olabilir. Gerekli olgularda tanıyı doğrulamak için yapılacak endoskopik incelemede saptanabilecek iki hastalık arasındaki farklılıklar Tablo 2.2'de verilmiştir. Kolonoskopi yapılacak ilk endoskopik inceleme yöntemi olup terminal ileum seviyesi üzerinde tutulumu olan hastalarda değerlendirmede yetersiz kalacağı için kapsül endoskopi ile manyetik rezonans görüntüleme (MRG)/ Bilgisayarlı Tomografi (BT) enterografi teknikleri tanıda yardımcı olabilir.

**Tablo 2.2.** Crohn Hastalığı ve Ülseratif Kolit Endoskopik inceleme Bulguları

(Podolsky, D.K.'nın makalesindeki Tablo 2'den uyarlanmıştır (25))

Özellikler	Crohn Hastalığı	Ülseratif Kolit
Mukozal frailite	Yaygın	Daha Yaygın
Aftöz ve lineer ülserler	Yaygın	Yok
Kaldırım taşı görünümü	Yaygın	Yok
Psödopolipler	Yaygın	Yaygın
Rektal Tutulum	Yaygın	Oldukça yaygın

### 2.1.2 Tedavi

Tedavi; hastalığın alt tipi, hastalığın yaygınlığı ve tutulum bölgeleri ile hasta bireyin özellikleri ve tercihlerine uygun olarak planlanmaktadır. Tedavinin genel prensibi sistemik yada lüminal etkili ajanlarla immün yanıtı kontrol altına almayı hedeflemektir. Uzun vadede hastalık kontrolünü sağlamak yanında hastalığın getirdiği (beslenme desteği, demir eksikliği, B12 vitamini eksikliği ve osteoporoz gibi) veya yanında görülen (ekstraintestinal tutulumlar; artropati gibi) diğer medikal problemlerin de çözümü planlanmalıdır. Hem ÜK hem de CH; kronik hastalıklar olup çoğu zaman uzun süreli tedavi gerektiğinden tedavi ilişkili komplikasyonların önlenmesi (özellikle steroid yan etkileri ve immünsüpresyona bağlı enfeksiyonlar) de akılda tutulmalıdır. Bu nedenle bir çok hekim klinik pratiğinde basamaklı tedavi yaklaşımını tercih etmekte, yanıtızlık yada istenmeyen etki görülmesi durumunda bir sonraki tercih etmektedir (25).

### **5-Aminosalisilik Asit Türevleri:**

5-Aminosalisilat (5-ASA) türevleri hafif ve orta aktivitede CH ve ÜK'de tedavinin hala tedavinin ana basamağı olmaktadır. Topikal formlar sıklıkla sol taraf kolonik hastalık (distal) için etkilidir ve supositivar, enema gib formları bulunmakta olup tek başlarına yada oral formlarla kombine olarak kullanılmaktadırlar (25). Sülfasalazin gibi oral etkili formlar ise pH bağımlı yada yavaş salınımlı tabletler olup, proksimal ince barsak ve distal ileum arasında terapötik konsantrasyonlara erişirler.

Bu gruptaki ilaçların ÜK'de uzun dönemde remisyonu sağlayıcı rolü belirgin olsa da; CH için sorgulanabilir etkinliğe sahiptir (25). Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzim eksliği olan hastalarda kullanımı önerilmemektedir.

### ***Kortikosteroidler:***

Kortikosteroidler non-genomik ve genomik etkileriyle inflamasyonu engelleyerek hastalığın kontrol altına alınmasında etkilidir. Topikal kortikosteroidler (hidrokortizon enema ve köpükler) ÜK proktiti ve distal kolitinde 5-ASA alternatifi olarak da kullanılabilir. 5-ASA türevlerinin hastalık aktivitesini tek başına kontrol altına almakta yeterli olmadığı hastalarda kullanılmaktadır. Sistemik kortikosteroidler ayaktan ağır CH ve ÜK de yaklaşık olarak 60mg prednizolon/gün eşdeğer dozuna kadar PO olarak verilmektedir (25). Fulminan ÜK gibi yada PO tedavi verilemeyecek hastalar yatırılarak intravenöz (İV) olarak tedavi edilmektedir. Beklenen yanıt süresi genellikle 7-10 gün olup dozların azaltılarak kesilmesi planlanmaktadır ve hastalığa göre standardize bir tedavi şeması bulunmamaktadır (25).

### ***D i ğ e r İ m m ü n o s ü p r e s i f v e İ m m ü n m o d ü l a t u v***

#### ***a) Azatiyoprin:***

Pürin analogu olan azatiyoprin (AZA) ve onun metabolizması sonucu oluşan aktif metaboliti 6-merkaptopürin'in (6-MP) etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte bazı uzun ömürlü ve spesifik T-Hücre gruplarını azalttığı düşünülmektedir (25). İBH yönetiminde; tek başına yada biyolojik tedavilerle kombine olarak kullanımıyla en çok tercih edilen immünsüpresif tedavidir ve etkin dozlarda kullanımının uzun süreli remisyonu kolaylaştırdığı ve steroid ihtiyacını azalttığını ortaya koymaktadır (25, 35, 36). İlacı kullanan hastalarda lökopeni gelişimi için takip yapılmalıdır. Özellikle tiyopürin metiltransferaz (TPMT) enzimi aktivitesini

etkileyen homozigot mutasyonu olan bireylerde ciddi lökopeni ve buna bağılı septik komplikasyonlar gelişebileceği unutulmamalıdır(37).

**b) Metotreksat:**

Yaygın kullanıma sahip olmayan metotreksat (MTX) geç etki başlangıcına (birkaç hafta) sahip olup genellikle ciltaltı (Subkütan; Sc) yada kas içine (intramusküler; İM) formları tercih edilmektedir (25). Çalışmalarda steroid bağımlı aktif CH olan bireylerde kalıcı remisyona ulaşmada etkili olabileceğine dair veriler mevcuttur (38). Takipte sitopeni ve karaciğer fonksiyon testi yüksekliği takibi yanında, uzun dönemde doz bağımlı hepatik fibrozis gelişim riski ve intersitisyel akciğer hastalığı riski akılda tutulması gereken yan etkilerdir.

**c) Siklosporin A, Takrolimus ve Mikofenolat Mofetil:**

Lenfosit aktivasyonunu inhibe eden siklosporin-A şiddetli ÜK olan hastane yatışı gereken hastaların tedavisinde etkili olabileceği bilinmektedir (39). Benzer şekilde etki gösteren diğer bir ilaç olan takrolimus için (özellikle CH) dirençli hastalıkta alternatif olabileceğine dair olgu raporları ve küçük çalışmalar bulunsa da, diğer ilaçla karşılaştırmalı veri olmadığından İBH için yeri henüz tartışmalıdır. Sistemik lupus eritematozus (SLE) tedavisi ve organ transplant rejimlerinde kullanımıyla etkinliği gösterilmiş bir immünsüpresif olan mikofenolat mofetil (MMF) inozin-5'-monofosfat dehidrogenaz enzim inhibitörüdür. MMF'nin CH başta olmak üzere İBH'de kullanımına dair az sayıda çalışma bulunmakta olup, özellik çoklu ilaç direnci olan hastalar için bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (40). Güncel önerilerde bu gruptaki ilaçların CH için seçilmesi ön plana çıkarılmamaktadır (41).

**d) Anti-TNF Ajanlar:**

İBH patogeneğinde yer alan bir çok sitokinden biri olan TNF- $\alpha$ ; yardımcı T hücreleri 1 ve 17 (TH<sub>1</sub> ve TH<sub>17</sub>) tarafından dolaşımdaki serbest ve doku içindeki düzeylerinde artışı sağlanan önemli bir proinflamatuvar sitokindir (42). İntravenöz

infüzyonla uygulanan fare-insan kimerik monoklonal antikoru olan infiliksımab ile hümanize monoklonal antikor olan adalimumab başlıca en yaygın kullanılan Anti-TNF ajanlardır. Hem ÜK hem de CH tedavisinde başlangıç tedaviye dirençli olan hastalarda hem monoterapi hem de tiyoprinlerle kombine olarak kullanımda etkin olabileceği bilinmektedir (41, 43). Bunun yanında sertolizumab pegol ve golimumab diğer etkin Anti-TNF seçenekleridir (42). Tüberküloz ve kronik viral hepatit reaktivasyonu için dikkatli olunmalı, enfeksiyon varlığında ve malignite öyküsünde dikkatli kullanılmalıdır.

***e) Anti-  $\alpha_4\beta_7$  integrin ve Anti-  $\alpha_4\beta_7$  integrin Ajanlar***

$\alpha_4\beta_7$  integrin, T-hücrelerinin ve monositlerin barsak mikro mimarisi içerisinde, inflame barsak dokusuna girişi için önemlidir (42).  $\alpha_4$  ve  $\alpha_4\beta_7$  integrinin ikisini birden hedefleyen antikor olan natalizumab; İBH tedavisinde ilk kullanılan integrin inhibitörüdür (44). Bunun yanında natalizumab ile beyin bariyerinde, sinir dokusu içinde bağışıklık hücrelerinin göçünü kontrol eden  $\alpha_4\beta_1$  integrin proteini de inihibe edildiğinden progresif multifokal lökoensefalopati adı verilen John Cunningham Virüs (JC virüs) reaktivasyonu ile karakterize ölümcül tablo ile ilişkili bulunmuştur. Daha sonra geliştirilen insan  $\alpha_4\beta_7$  integrini hedefleyen ve artık daha yaygın kullanılan vedolizumab daha selektif barsak dokusunu hedeflediğinden bu riskin daha düşük olduğu düşünülmektedir (45, 46).

***f) IL 12-23 Y o l a ğ ı İ n h i b i t ö r l e r i :***

Ustekinumab, pro-inflamatuvar sitokinler IL-12 ve IL-23'ün p40 alt birimine karşı tamamen insan IgG<sub>1</sub> monoklonal antikordur. Ustekinumabın sağladığı bu blokaj IL-12 ve IL-23'ün T hücreleri ve doğal öldürücü (Natural Killer; NK) hücreler üzerindeki reseptörlerine bağlanmasını önleyerek TH<sub>1</sub> ve TH<sub>17</sub> ile ilgili inflamatuvar tepkilerin inhibisyonuna neden olur (42).

Hem CH hem de ÜK için etkinliği gösterilen Ustekinumabın inflamatuvar bağırsak hastalığı için tedavi algoritmalarında nereye yerleştirileceğine dair bir tartışma devam etmektedir (47, 48). Sedef hastalığı için etkinliği göz önüne alındığında, eşzamanlı Crohn hastalığı ve sedef hastalığı olan hastalarda ve anti-TNF tedavisi üzerine paradoksal olarak sedef hastalığı gelişen hastalarda ilk sırada kullanılması mantıklı görünmektedir. Ayrıca, ilaç düşük immünojenisiteye sahip olduğundan, diğer biyolojik ilaçlara ikincil yanıt kaybı olan hastalarda rol oynayabilir (42).

### ***g) Diğer Güncel Tedaviler :***

Yaygın kullanıma giren ve patogeneizde etkili olan çok sayıda yolağı hedefleyen birçok biyolojik moleküle rağmen karşılanmamış çok sayıda ihtiyaç bulunmaktadır. Son yıllarda geliştirilen JAK inhibitörleri bu amaçla kullanılan hedefe yönelik sentetik küçük oral moleküllerin öncülerindedir. JAK sistemi; 4 intraselüler yerleşimli tirozin kinaz olan JAK1, JAK2, JAK3 ve tirozin kinaz 2 (TYK2)'i içerir (49). Tofacitinib; JAK 1 ve JAK3'ü (daha az olarak da JAK2) inhibe eden JAK inhibitörüdür. Bu yolağın inhibisyonu proinflamatuvar sitokinlerin büyük çoğunluğunu (başlıca IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21 ve IFN- $\gamma$ ) bloke etmektedir (50). Faz 3 çalışması ÜK için tamamlanan bu oral küçük molekülün alternatif tedaviler arasında yerini alacak gibi görünmektedir (51). CH ve ÜK için çalışmaları devam eden çok sayıda JAK inhibitörü bulunmaktadır.

### ***Antibiyotikler ve Probiyotikler:***

Bazı etkinliği yüksek probiyotik ürünlerin özellikle 5-ASA türevi tedavisi altında tekrarlayan hastalığı olan hafif ve orta dereceli ÜK hastalarında hastalık aktivitesini azaltmada etkili olabileceği gösterilmiştir (52). Öte yandan CH olan bireylerde probiyotiklerin etkinliği için veriler umut verici değildir (10).

İBH olan bireylerde en sık sık kullanılan antibiyotikler olan siprofloksasin ve metronidazol gibi ilaçlar CH'de özellikle perianal hastalık, fistüller, abse ve abdominal

inflamatuvar kitlelerin tedavisinde kullanılmaktadır. ÜK içinse etkinliği kısıtlı olup öte yandan Clostridium difficile'e bağlı psödomembranoz enterokolite sebep olarak tabloyu daha fulminan hale getirebileceği düşünüldüğünden daha dikkatli kullanılmalıdır (10).

### ***Cerrahi Tedavi:***

Cerrahi yaklaşım öncelikli tedavi seçeneği olmayıp dirençli hastalık, komplikasyonların yönetimi ve özellikle ikincil kanserlerin tedavisinde (ya da yüksek riskli hastalarda koruyucu olarak) uygulanmaktadır. ÜK'de; medikal tedaviye dirençli hastalığı olan bireylerde veya toksik megakolon gelişen komplike olgularda gündeme gelebilir. Uygulanacak total kolektomi (en sık uygulanan iki yöntem; proktokolektomi + ileostomi veya total Kolektomi + ileoanal anostomoz) kür edici olabilir. Ameliyat sonrası anostomoz kaçakları yanında akut/kronik poşit gelişmesi en önemli komplikasyonlardır (10). CH için ise cerrahi tedavinin hastalık kontrolü üzerine etkisi oldukça az olup olguların hemen hemen tamamında sebep fistül, abse yada obstrüksiyona neden olabilen darlık gibi komplikasyonlardır. Bu nedenle cerrahi müdahalelerde rezeksiyonların konservatif olarak yapılması önerilmektedir (10). Cerrahi rezeksiyonu yapılan segment uzunluğuna bağlı olarak hastalarda kısa barsak sendromu ve buna bağlı İV total parenteral nütrisyon (TPN) ihtiyacı gelişebilir.

## **2.2 Çölyak Hastalığı**

ÇH; diyetle alınan buğday, çavdar ve arpada bulunan glütene karşı gelişen immün-aracılı bir enteropati olup dünya üzerindeki yaşamboyu en yaygın görülen besin-ilişkili hastalıklardan biridir (53). ÇH bir enteropati olmasının yanında gluten ilişkili diğer sistem bulguları (eklem ve cilt gibi) ve hastalığa özgü antikorlar nedeniyle sistemik bir hastalık olarak sınıflandırılabilir (53). Hastalığın genetik yatkınlığı olan bireylerde çevresel etkenlerin tetiklemesiyle geliştiği düşünülmektedir. Tanısı klinik bulgular, seroloji, endoskopik inceleme ve onunla alınan biyopsi histopatolojik

incelenmesi ile konulmaktadır. ÇH için tek tedavi diyetten glüten proteininin çıkarılmasıdır.

### **2.2.1 Epidemiyoloji**

Geçmiş yıllarda ÇH sıklıkla Batı Avrupa toplumunda görülen ve özellikle çocukluk çağının bir immün-enteropatisi olarak düşünülürken; spesifik serolojik testlerin (Anti-transglutaminaz ve Anti-endomisyal antikorlar özellikle) bulunması ve bunlar eşliğinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarla bu bilgi değişmiştir (53). Seroprevalansın incelendiği genel popülasyona yönelik tarama çalışmalarında antikor pozitifliği %1,4 (%95 Güven Aralığı: 1,1 - 1,7) olarak tespit edilmiştir (54). Bu antikor-temelli sıklık verilerinin çoğunluğu Avrupa kökenli çalışmalardan gelmektedir. İsveç, Finlandiya ve Birleşik Krallık gibi ülkelerde en sık olmak üzere Avrupa nüfusunun yaklaşık %1'ini etkilediği düşünülmektedir (55). Zamansal çalışmalara göre antikor testlerine göre tespit edilen bu sıklıkların artış eğiliminde (son 20 yılda yaklaşık 2 kat, son 50 yılda yaklaşık 4 kat) olduğu düşünülmektedir (56, 57). ÇH prevalansı ile ilgili toplum temelli epidemiyolojik çalışmaların çoğu serolojik verilere dayanmaktadır, bir çoğunda tüm seropozitif hastalarda tanı invazif ince intestinal mukozal biyopsilerle doğrulanmamıştır. Bu nedenle, biyopsi ile kanıtlanmış ÇH'nin % 0,7 (%95 Güven Aralığı: 0,5-0,9) olan küresel havuzlanmış prevalansı, antikor kullanılarak bakılan seroprevalanstan daha düşüktür (54).

Yukarıda bahsedilen genel toplum sıklık verilerine rağmen; risk altındaki popülasyonda (ailede ÇH öyküsü olan veya kendisinde IgA eksikliği, Tip1 diyabet, Down sendromu gibi hastalıklar bulunan bireylerde) beklenen sıklık %10-15'e kadar ulaşmaktadır (58).

### **2.2.2 Etiyopatogenez**

Ailede ÇH olan bireylerde daha sık görülmesi ve çift yumurta ikizlerinde artan sıklık genetik faktörlerin önemini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte bir çok hastalıkta olduğu gibi etkisi yadsınamayacak çevresel faktörlerin genetik yatkınlık



zemininde hastalığın gelişiminde etkili olduğu bilinmektedir. En önemli çevresel faktör ise tartışmasız glütendir.

Gluten içerdiği yoğun prolin ve glutamin rezidüleri nedeniyle esnek yapıda bir protein olup arpa, buğday ve çavdarın yapısında bulunmaktadır. Gluten bu bahsi geçen aminoasitlerden zengin yapısı nedeniyle gastrik, pankreatik ve ince barsak fırçamsı kenar peptidazları ile tam olarak parçalanmayıp yaklaşık 33 amino asit uzunluğunda büyük peptidlere kadar kırılabilirler (59). Bu peptidler, etkilenen bireylerin ince barsak lamina propriasına transselüler ve paraselüler yolla girerler (60). ÇH için spesifik otoantijen hedeflerden biri olan doku transglutaminaz (tissue transglutaminase :TTG) enzimi yoluyla gliadin moleküllerinin deamidasyona uğraması sonucu kazanılmış immün yanıtı tetikler (61). Artan immünojenitenin sebebi; deamidasyona uğrayan gliadin moleküllerinin antijen sunucu hücrelerin yüzeyindeki insan lökosit antijeni (human leucocyte antigens; HLA) DQ2 ve DQ8'e bağlanmasının artmasıdır (62). Bu peptidler gliadine karşı reaktif olan CD-4+ T hücrelere sunulurlar (2). Bu süreçte gliadin, endomisyum, aktin ve daha sensitif olarak TTG otoantijenlerine karşı mekanizması tam anlaşılmayan bir biçimde antikorlar oluşur. Bu antikorların özellikle ÇH ilişkili ekstraintestinal tutulumlarda (dermatitis herpetiformis ve glüten ilişkili ataksi gibi) etkili olabileceğini destekleyen veriler mevcuttur (63, 64). Bu adaptif immün cevaba eşlik eden ve histopatolojik olarak da belirgin olarak izlenen intraepitelyal lenfosit akümüasyonu şeklinde bir doğal bağışıklık yanıtı da izlenir (65).

Stresle tetiklenen genler MICA ve MICB'nin ürünleri olan hücre yüzey glikoproteini olan ürünleri ve hücre yüzeyinde ifade edilen HLA-E proteinini tanıyan doğal öldürücü (Natural killer: NK) T-lenfosit reseptörleri olan NKG2D ve CD9 / NKG2A bu intraepitelyal lenfositler tarafından ifade edilir (2). IL-15 bu moleküllerin ifadesinin artmasında önemli rol oynar (66). Hastalığın meydana gelebilmesi için her ikisi de gerekli olan bu adaptif ve doğal immün yanıtlar arasındaki ilişki tam olarak açıklığa kavuşturulmamıştır.

ÇH olan bireylerin hemen hemen tamamında antijen sunucu hücrelerin yüzeyinde HLA sınıf II genlerinden HLA-DQA1 ve HLA-DQB1 (bu genler çölyak ilişkili heterodimer proteinler olan DQ2 ve DQ8'in  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirlerini kodlar) için bazı spesifik varyantlara sahiptir ve çoğunluğu (yaklaşık %90) DQ2'ye sahiptir (2). Bunlar yanında çok sayıda non-HLA yatkınlık genleri tespit edilmiş olsa da mekanistik önemleri henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

### ***Mikrobiyom:***

Bazı hümanize fare modelleri ile yapılan çalışmalarda intestinal mikrobiyotanın glüten ilişkili inflamasyonun artması yada azaltılmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (67). ÇH olan erişkinlerde gaitada, ÇH olmayan bireylere kıyasla daha fazla bifidobacterium bifidum türleri içerdiğini ve tedaviyle (diyet kısıtlaması) mikrobiyomun tamamen normale dönmediği görülmektedir (2). Varolan mikrobiyomun hastalık gelişimi üzerine etkisi olduğu ve hastalıkla ilişkisi olduğu gibi var olan HLA gibi genetik zeminin de mikrobiyom içerisindeki bakterilerin seçiminde etkili olmaktadır. Zamanında, normal vajinal yolla doğan ve anne-sütü ile beslenen bebeklerde mikrobiyom seçiminde DQ2'nin belirleyici etkisini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur (68).

### ***Diğer Faktörler :***

Bazı diğer otoimmün hastalıklarda suçlandığı gibi emzirme alışkanlıkları ve anne sütü alımı ÇH için de araştırılmış olsa da net olarak bir ilişki kurulacak veriler elde edilememiştir (2). Bebeklik dönemi beslenmede glüten alımının geciktirilmesi (yaklaşık >12 ay sonrası) erken dönemde (erken çocukluk) riski azaltıyor gibi görünse de uzun dönemde risk gelişimi üzerine azaltıcı olarak tespit edilmemiştir (69). Çocukluk çağı enfeksiyonlarından bazılarının (rotavirüs gibi) ÇH gelişimini tetikleyebileceği düşünülmekte ve aşılamanın riski azalttığını destekleyen veriler mevcuttur (70).

### 2.2.3 Klinik Bulgular, Hastalık Seyri ve Tanı

ÇH çocukluk yaştan erişkinliğe kadar geniş bir yaş grubunda tanı alabilir. Asemptomatik hastalıktan aktif ağır malabsorbsiyon yakınmalarına ve ekstraintestinal bulgulara uzanan bir yelpazede bulgu verebilir. Hastalığı tarifinde ortak dili konuşmak üzere; 2013 yılında Ludvigsson ve ark. tarafından yayınlanan terminoloji konsensusu ile ÇH için ortak kullanılan terimler üzerinde uzlaşma sağlanmaya çalışılmıştır (Tablo.2.3). ÇH için klasik semptomlar olan kilo kaybı, büyüme-gelişme geriliği ve kronik diyare iken bu tablo ile başvuran hasta sayısı daha nadirdir (2). Hastalar sıklıkla demir eksikliği, şişkinlik, kabızlık, kronik yorgunluk, baş ağrısı, karın ağrısı ve osteoporoz gibi klasik olmayan bulgularla kliniğe başvurmaktadır.

**Tablo 2.3.** Oslo Çölyak Hastalığı ve İlişkili Durumlar Terminolojisi'ne göre kavramlar Ludvigsson ve ark. çalışmasından uyarlanmıştır (71).

<b>Potansiyel</b>	Histopatolojik olarak normal, serolojik olarak pozitif
<b>Asemptomatik</b>	Semptom yok
<b>Semptomatik</b>	İntestinal yada ekstra-intestinal yakınma varlığı
<b>Klasik</b>	Diare ve/veya Malabsorbsiyon (semtom yada bulgusu)
<b>Non-klasik</b>	Malabsorbsiyon semptomu olmadan anemi yada osteoporoz
<b>Refrakter</b>	Glutenden fakir diyetle rağmen; devam eden semptomlar ve villöz atrofi

Hastalığın tanısı erişkinlerde antikor testleri (serolojik değerlendirme) ve beraberinde duodenal biyopsi örnekleme ile koyulmaktadır. Güncel tedavi önerileri ÇH gelişimi için yüksek riskli hastaların serolojik olarak taranmasını önermektedir (72). Güncel tarama çalışmalarda elde edilen verilere göre; IgA tipindeki anti-TTG antikorları; anti-endomisyum antikorlara göre daha yüksek sensitivite ve negatif prediktif sahip olduğundan ilk olarak önerilen antikor testidir (73). IgA eksikliği olan bireylerin ÇH için artmış riske sahip olduğu düşünüldüğünde; bu bireylerde anti-TTG IgA antikorların düzeyleri referans aralığa erişemeyeceğinden kullanışsız olabilir. Bu nedenle bu hastalarda Anti-TTG IgG antikorların kullanımı daha yüksek spesifiteleri

nedeniyle tercih sebebidir. Bununla birlikte ÇH için değerlendirilen hastaların serum IgA düzeylerinin de serolojik testlerle birlikte değerlendirilmesi önerilir (74).

Serolojinin kısıtlılıkları ve seronegatif hastalar göz önüne alındığında hala histopatolojik tanıda altın standart olarak değerlendirilmektedir (75). Serolojik olarak pozitif olan bireylerde tanının doğrulanması için de duodenal villus endoskopik örnekleme önerilmektedir. Alınan biyopsiler ÇH açısından histopatolojik olarak değişik skorlamalara göre değerlendirilse de yaygın olarak kullanılanı modifiye Marsh sınıflamasıdır (Bkz. Tablo.2.4) (76). Özellikle Tip3 lezyonlar hastalıkla daha ilişkili olarak görülmekte olup intraepitelyal lenfosit artışı olmadan çölyak hastalığı tanısı olası görünmemektedir (77).

**Tablo 2.4.** Modifiye Marsh Skorlamasına göre Histopatolojik Evreleme ve Çölyak Hastalığı Riskleri  
(Oberhuber ve ark. çalışmasından uyarlanmıştır (76).)

Marsh Tip	IEL / 100 Jejunum Ent.	IEL / 100 Duodenum Ent.	Kript Hiperplazisi	Villuslar
0	<40	<30	Normal	Normal
1	>40	>30		
2				
3a			Artmış	Hafif Atrofi
3b				Belirgin Atrofi
3c				Total Atrofi

Tip 0: normal, çölyak hastalığı olasılığı çok düşük

Tip1: spesifik değildir. Enfeksiyonlar sırasında, dermatitis herpetiformis olan bireylerde, çölyak hastalığı olan bireylerin 1. derece akrabalarında ve az miktarda gluten tüketmiş glutenden-fakir diyet altındaki çölyak hastalarında görülebilir.

Tip2: Oldukça nadir, genellikle dermatitis herpetiformiste görülür

Tip3: Semptomatik Çölyak Hastalığında görülebilecek bulgular

Kısaltmalar: IEL: intraepitelyal lenfosit, Ent: Enterosit

### 2.2.4 Tedavi

Tedavinin mihenk taşı glutenden fakir diyet uygulamasıdır. Diyet sonrası genellikle haftalar içerisinde serolojik ve histopatolojik düzelmenin kademeli olarak gerçekleşmesi beklenir. Glutenden fakir diyet ve bununla uyumlu ürünlerin kullanımının ek olarak maddi yük getireceği akılda tutulmalı, diyet uyuncunda hastanın ekonomik düzeyinin de etkili olabileceği unutulmamalıdır (2).

### 2.3 İmmün Sistem

İnsan vücudu sürekli olarak solunan hava, yutulan gıda maddeleri ya da cilde/mukoza membranlarına temas yoluyla diğer organizma ve farklı maddelerle temas halindedir. İmmün sistemin (bağışıklık sistemi) tanımlanmasına dair ilk gözlemler organizmanın bulaşıcı hastalıklar sırasında kendinden olan ve olmayanı ayırt etme ve patojenik mikroorganizmalara karşı savunma yeteneği üzerinedir. İmmün sistem; klasik tanımıyla, kompleman proteinleri gibi hümmoral faktörlerin yanı sıra bağışıklık hücreleri ve onlardan üretilen antikorlar, sitokinler/ kemokinler ve büyüme faktörleri gibi ürünlerden oluşan savunma sistemidir (78).

İmmünite, bağışıklık reaksiyonunun gelişim hızı ve hedefe karşı özgüllüğüne göre genel olarak iki kısımda incelenir: doğal (*innate*) immünite ve edinsel (*adaptive*) immünite (79). Bu iki kısım birbirinden tam olarak ayrı düşünölemeyeceği gibi birbirleriyle sürekli etkileşim halindedirler. Doğal immünite bir çok canlı türünde benzer olarak görölen fiziksel bariyerler ve immün sistemin bazı aktif savunma elemanlarını (nötrofiller, monositler, makrofajlar, kompleman sistemi ve bazı akut faz proteinleri gibi) içermektedir (79). Edinsel immünite ise; sıklıkla kompleks ve gelişmiş organizmalarda bulunan, antijene özgü yanıt veren B ve T hücrelerini içeren kısımdır. Doğal bağışıklık kadar hızlı yanıt oluşturmasa da antijene karşı daha özgül olup tekrarlayan karşılaşmalar daha güçlü ve hızlı tepkilere sebep olmaktadır (80, 81).

### 2.3.1 Primer İmmün Yetmezlik Hastalıkları

PİYH; enfeksiyonların görülme sıklığında veya ciddiyetinde bir artışa ve/ veya immün disregülasyona yol açan, bağışıklık sisteminin doğuştan gelen veya adaptif kısmının kalıtsal kusurlarıdır. Kombine immün yetmezlikler ve antikor eksikliği sendromları gibi kusurlar adaptif immüniteyi ilgilendirirken; kompleman, toll-like reseptörleri ve fagositer sistem bozuklukları daha çok doğal immün sistemin problemleridir (82). Üç yüzden fazla tanımlanan hastalık mevcut olup belirli aralıklarla Uluslararası İmmünolojik Topluluklar Birliği (*International Union of Immunological Societies*; IUIS) sınıflandırılmaları (Tablo 2.5) güncellenmektedir (83).

**Tablo 2.5.** *International Union of Immunological Societies* (IUIS) 2017 Primer İmmün Yetmezlik Hastalıkları Sınıflaması

(Bousfiha ve ark. çalışmasından uyarlanmıştır (84))

<p><b>I. Hücresel ve humoral bağışıklığı etkileyen immün yetmezlikler.</b> Ciddi Kombine immün yetmezlikler (SCID) CD3 T hücre lenfopeni ile tanımlanan SCID'dan daha az ağır combine immün yetmezlikler</p>
<p><b>II. Sendromik özelliklere sahip kombine immün yetmezlikler</b></p>
<p><b>III. Ağırlıklı olarak antikor eksiklikleri ile seyreden immün yetmezlikler</b> a: Hipogammaglobülinemi b: Diğer antikor eksiklikleri</p>
<p><b>IV. İmmün disregülasyonu hastalıkları</b> a : Hemofagositik lenfohistiyositoz (HLH) ve EBV yatkınlığı b: Otoimmünite ile sendromlar</p>
<p><b>V. Fagosit sayısı, fonksiyonu ya da her ikisinde birden olan konjenital defektler</b> a: Nötropeni b : Fonksiyonel defektler</p>
<p><b>VI. İntrinsik ve doğal immünite defektleri</b> a : Bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlar b : Mikobakteriyel hastalıklara Mendeliyen yatkınlık ve viral enfeksiyonlar</p>
<p><b>VIIa. Oto-inflamatuvar Hastalıklar</b></p>
<p><b>VIII. Kompleman eksiklikleri</b></p>
<p><b>IX. Kemik iliği Yetmezlikleri</b></p>
<p><b>X. PİYH fenokopyaları</b></p>

Klasik bilginin aksine tüm PİYH'lerde enfeksiyonlara yatkınlık olmayabileceği gibi klinik prezentasyon ağırlıklı olarak otoimmünite, otoinflamasyon, allerjik, benign ve malign lenfoproliferatif hastalıklar şeklinde ortaya çıkabilir.

### 2.3.2 LRBA Eksikliği İlişkili Primer İmmün Yetmezlik

CTLA-4; Aktive T hücreler ve FOXP3+ regülatuar T Hücrelerin (Treg) yüzeyinde bulunan immünolojik sinapsta negatif kostimülatör olarak görev yapan bir kontrol noktası (checkpoint) proteindir. Endositik veziküllerden hücrenin uyarımı ile etki göstermek üzere hücre yüzeyine taşınırken vezikül içerisinde bulunan LRBA proteinin etkili olduğu bildirilmiştir (85). Yapılan çalışmalar bu proteinin eksikliği yada fonksiyon bozukluğunun CTLA-4 proteininin hücre yüzeyindeki ifadesinde azalma, dolayısıyla negatif kostimülasyonda azalma, apoptozda artma ve Treg biyobelirteçlerinde azalma ile karakterize fonksiyonel değişiklikler olabileceğini desteklemektedir (86). Bu proteinin eksikliği ile ilişkili primer immün yetmezlik hastalığı klasik olarak erken başlangıçlı hipogammaglobülinemi, otoimmün belirtiler, inflamatuvar barsak hastalığına yatkınlık ve tekrarlayan enfeksiyonlarla karakterize bir Klinik tablo olarak ilk defa 2012 yılında tanımlanmıştır (9). Takibinde biriken literatür ile birlikte beklenenden daha sık görüldüğünü ve bulguların çok geniş bir yelpazede görülebildiğini hatta enfeksiyonlara yatkınlık ve hipogammaglobulinemi olmayabileceği, sadece İBH ve çoklu otoimmünite ile tanı daha ileri yaşlarda hastalar olabileceği bilinmektedir (87, 88). Enteropati sıklıkla İBH benzeri olabileceği gibi ÇH benzeri klinik ve laboratuvar bulguların olan hastalar ve erişkin yaşta tanı alan hastalar tanımlanmıştır(89).

Literatürde bildirilen tanılı olgular homozigot yada compound (bileşik) heterozigot olduğundan hastalığın kaltımı OR olarak değerlendirilmektedir (87). Tanısı mutasyonun genetik olarak gösterilmesi ile konulmaktadır. Akım sitometri ile protein ifadesinin ve CTLA-4 ifadesi üzerinden dolaylı olarak fonksiyonun değerlendirilmesine

dayalı tarama yöntemlerinin kullanımı giderek artmakta ve olumlu sonuçlar alındığı bildirilmektedir (90, 91). Tedavisinde immün yetmezliği yönelik intravenöz immünglobulin tedavisi, otoimmün bulgular için anti-inflamatuvar ve anti-romatizmal tedaviler yanında allojeneik hematopoetik kök hücre nakli kullanılabileceği bildirilmektedir (89). Ayrıca CTLA-4 füzyon proteini olan bir biyolojik tedavi abatacept alternatif olarak kullanılabilir (92).

### 2.3.3 Akım Sitometri Tekniği ile İmmün Yetmezlik Değerlendirilmesi

Akım sitometri; bir tampon çözelti içinde bulunan süspansiyonlu tekli hücreleri veya parçacıkları tekli veya çoklu lazerlerden geçerken belirli özelliklerine göre analiz eden bir laboratuvar tekniği teknolojisidir. Akış sırasında geçen her partikül görünür ışık dağılımı ve birden fazla floresan parametresi için analiz edilmektedir. Görünür ışık dağılımı; hücrenin göreceli boyutunu gösterebilen ileri yönde (Forward Scatter; FSC) ve hücrenin iç karmaşıklığını/ partiküllülüğünü gösteren 90° 'den (Side Scatter; SSC) değerlendirilir (93). Bunun yanında flüoresan proteinlerin transfeksiyonu ve ekspresyonu (örneğin; Yeşil Floresan Protein, GFP), floresan boyalarla boyama (örneğin; Propidium İyodür, DNA) veya flüoresan olarak konjuge antikorlar (örneğin; CD3 FITC) ile boyama yoluyla floresan ölçümler yapılabilmektedir (93). Birçok sağlık bilimleri disiplininde pratik kullanımı olan akım sitometrik tekniği immünolojide özellikle lenfosit alt gruplarının tespit edilmesi, sayımında ve hatta saflaştırılmasında kullanılmaktadır.

PİYH tanısını doğrulamada; tam kan sayımı, immünoglobulin seviyeleri, antikor titreleri, lenfosit alt gruplarının, kompleman sisteminin ve nötrofil fonksiyonunun değerlendirilmesi önemli testlerdir. Hastalıklara sebep olan genetik defektlerin tespiti ve onlardan kaynaklanan fonksiyonel etkilerin öğrenilmesiyle PİYH spektrumu genişlemektedir. Genişleyen bu yelpaze hastalıkların kesin tanısı için genetik incelemeleri gerekli kılmaktadır. Öte yandan DNA dizi analizlerinin pahalı ve zaman alıcı olması araştırmacıları alternatif arayışlara itmektedir. Bu noktada; akım sitometrik analiz verdiği klasik bilgilere ek olarak, bazı fonksiyonel değerlendirme ve



hücre yüzeyi yanında intraselüler olarak ifade edilen bazı proteinlere ait ölçümlerin yapılmasına da olanak tanımaktadır. Bu nedenle PİYH değerlendirilmesinde akım sitometrik tekniği geleneksel testler ile DNA dizi analizi arasında ara bir basamak ve köprü görevi görebilir (90). Literatürde çeşitli PİYH'lerin tanısında akım sitometrik tekniğinin kullanımına ait örnekler bulunmaktadır (Bkz. Tablo 2.5).

**Tablo 2.6.** Primer İmmün Yetmezlik Hastalıklarında Akım Sitometri Tekniğinin Uygulama Örnekleri

(Kanegane ve ark. çalışmasından uyarlanmıştır (90))

Yapılan Değerlendirme	Bazı Hastalıklar ve Ölçüm Örnekleri
<b>Hücre ve hücre alt grupları</b>	- X-linked Agammaglobulinemi; B hücrelerinin yokluğu - Hiper IgE sendromu; azalmış Th <sub>17</sub> sayısı
<b>Hücre yüzey proteinleri</b>	- X-linked Hiper IgM sendromu; aktive T hücrelerde CD40L ölçümü - Otozomal resesif hiper IgM sendromu; B hücrelerinde CD40 ölçümü
<b>İntraselüler proteinler</b>	- ZAP70 eksikliği; T hücrelerde ZAP70 düzeyi - LRBA eksikliği ve CTLA-4 haploinsufficiency; CD4+ FOXP3 T hücrelerinde CTLA4 ve LRBA düzeylerinin ölçümü
<b>Spesifik hücre çekirdek proteinleri</b>	IPEX sendromu; CD4+ ve CD25+ T hücrelerinde FOXP3 düzeylerinin ölçümü
<b>Biyolojik etkiler</b>	Omenn Sendromu; oligoklonal TCR çeşitliliği
<b>Fonksiyon değerlendirilmesi</b>	IL-10 Reseptör eksikliği; Lenfositlerin IL-10 cevabı ve STAT3 fosforilasyonu ölçümü

Benzer şekilde literatürde LRBA eksikliğinin tanısında da aktivasyon sonrası periferik kan hücrelerinde akım sitometrik inceleme (flow cytometry in peripheral blood cells after stimulation; FACS) ile intraselüler protein ekspresyonunun incelendiği bir çalışma mevcuttur. Elli dört sağlıklı kontrol ve 57 LRBA eksikliği şüphesi olan katılımcının prospektif olarak incelendiği bir kohortta kullanılan eşik değerlere göre (ortalama floresan intensitesi; mean fluorescence intensity – MFI= 2,6) %94 sensitivite and %80 spesifite ile hastaları sağlıklı kontroller ve karışabilen diğer

kliriklerden ayırt etmede başarılı bulunmuştur (91). Bu yöntemle tespit edilen hastaların kesin tanı alabilmesi için genetik incelemeye ihtiyaç duyulsa da, tekniğin kullanımı genetik incelemeye yönlendirilecek hasta sayısını azaltmada etkili olabileceği düşünülmektedir.

Özetle; çölyak hastalığı ve inflamatuvar barsak hastalığı erişkin yaş popülasyonundaki göreceli olarak sık görülen hastalıklardır. Bu immün enteropatiler diğer otoimmün hastalıklara ve primer immün yetmezlik hastalıklarına eşlik edebildiği gibi; onların taklitçileri olan ve immün yetmezliklerde görülebilen diğer inflamatuvar patolojiler (tekrarlayan fırsatçı enfeksiyonlar ve non-spesifik inflamatuvar değişiklikler) klinik pratikte yanlış olarak inflamatuvar barsak hastalığı yada çölyak hastalığı olarak değerlendirilebilmektedir. LRBA eksikliği ile ilişkili primer immün yetmezlik de son yıllarda tanımlanmış olan sıklıkla inflamatuvar barsak hastalıkları ve çoklu-otoimmünite ile birlikte seyredabilen bir kombine immün yetmezliktir.

Bu çalışmada erişkin yaşta çölyak hastalığı veya inflamatuvar barsak hastalığı tanısı ile takipte olan seçilmiş bireylerde LRBA eksikliği ile ilişkili primer immün yetmezliğin varlığının taranması amaçlanmıştır. İntraselüler protein ifadesinin akım sitometrik olarak incelenmesiyle tarama yapılması planlanmış, şüpheli bulunan hastalar ileri değerlendirme amacıyla Hacettepe Üniversitesi, İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi, Pediatrik İmmünoloji Kliniği'ne değerlendirme için yönlendirilmiştir

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM (BİREYLER VE YÖNTEM)

#### 3.1 Olguların Seçimi ve Araştırılmaya Dahil Edilmesi

Çalışmanın popülasyonu; 1 Mayıs 2019 ile 1 Ekim 2019 arasında ÇH ve İBH (ÜK ve CH) tanıları ile Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi, Gastroenteroloji Polikliniği'nde takipli yada yeni başvuran ayaktan izlenen hastalardır. Bu hastalar değerlendirilirken primer tanıli hastalığı dışında eşlik edebilecek immün yetmezliğe yönelik klinik değerlendirilecek hastaların tespit edilmesi hedeflenmiştir. Bu nedenle oluşturulan çalışmaya dahil edilme ve dışlanma kriterleri göz önünde bulundurulmuş ve uygun olan hastalar değerlendirme amacıyla Uzm. Dr. Ertuğrul Çağrı Bölek'e yönlendirilmiştir (Tablo.1).

**Tablo 3.1.** Çalışmaya dahil edilme ve dışlanma kriterleri

<b>Çalışmaya dahil edilme kriterleri:</b>
<b>1. &gt;18 yaşında olmak</b>
<b>2.İnflamatuvar Barsak Hastalığı (Ülseratif kolit veya Crohn Hastalığı) ve/veya Çölyak Hastalığı tanısı mevcut olmak</b>
<b>3.Aşağıda bahsedilen LRBA eksikliği ile ilişkili olabilecek üç maddeden en az birinin olması</b> a)Çölyak Hastalığı veya İnflamatuvar Barsak Hastalığı'na eşlik eden "otoimmünite bulgusu/kliniği" (artrit, spondilit, Tip 1 Diabetes Mellitus, Otoimmün Tiroidit vb.) b)Çölyak Hastalığı veya İnflamatuvar Barsak Hastalığı'na Enteropatiye eşlik eden "immün yetmezlik için klinik yada laboratuvar bulgusu" (Saptanmışsa Ig düşüklüğü veya kompleman eksikliği, sık tekrarlayan enfeksiyon öyküsü, bronşiektazi öyküsü) c)Erken başlangıçlı Çölyak Hastalığı veya İnflamatuvar Barsak Hastalığı (<18 yaş) yada bu hastalıklar için benzer aile öyküsü d)İnflamatuvar Barsak Hastalığı için en az bir tolere edilmiş biyolojik ajanın kullanımına rağmen refrakter hastalık
<b>Çalışmadan dışlanma kriterleri:</b>
<b>&lt;18 yaşında olmak</b>
<b>Klinik tabloyu açıklayabilecek başka bir ilaç kullanımı yada tanımlanmış bir spesifik immün yetmezliği bulunmak</b>
<b>LRBA ile ilişkili yukarıdaki dahil edilme kriterlerinde bahsedilen 3. maddedeki özelliklerden herhangi birinin bulunmaması</b>

Poliklinikte değerlendirilen hastalara araştırmanın amacı, önemi ve yöntemi anlatılmıştır. Araştırmaya katılmaya gönüllü olan, aydınlatılmış onam formunu (EK-4) dolduran ve akım sitometrik analizin planlandığı gün hastaneye gelebilecek durumda olan hastalar araştırmaya dahil edilmiştir. Kabul eden her hasta için Dr. Ertuğrul Çağrı BÖLEK tarafından ilk vizitte vaka kayıt formları (EK-5) doldurulmuş, hastanın sistemdeki ve dosyasındaki kayıtlarından tanısı ve tedavileri ile ilgili bilgiler edinilmiştir.

Test günü hastanın olası genetik değerlendirme için genetik araştırmalarda için de onam formu (EK-6) doldurulmuştur. Bilgilendirme ve onamdan sonra hem akım sitometrik değerlendirme için hem de olası LRBA eksikliği tespit edilmesi durumunda genetik analizin yapılması için saklamak üzere toplam 2 adet mor kapaklı EDTA'lı 5 cc tüp ile periferik kan örneği alınmıştır.

Hastaların verileri ve tıbbi örnekleri kaydedilirken kişisel bilgilerin gizliliğine özen gösterilerek katılımcılara ait tanımlayıcı özellikler gizlenerek katılımcı koduyla kayıt edilmiştir. Gastroenterolojik klinik bilgilerin değerlendirilmesi Uzm. Dr. Cem Şimşek ve Prof. Dr. Taylan Kav beraberliğinde yapılmıştır. Hastalardan alınan örneklerden ilgili laboratuvar işlemlerinin yapılması Dr. Öğr. Gör. Sevil Oskay Halaçlı ve onun gözetiminde Uzm. Dr. Ertuğrul Çağrı Bölek tarafından aşağıda verilen protokollere uygun olarak yapılmıştır. Saptanan laboratuvar bulguların klinik ile ilişkisinin değerlendirilmesi Prof. Dr. İlhan Tezcan ile Dr. Ertuğrul Çağrı Bölek tarafından yapılmıştır.

### **3.2 Laboratuvar Örnek Alma ve Değerlendirme Protokolü**

Bu araştırmada, laboratuvar çalışmaları Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarlarında ve buradaki cihazlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yedi ayrı deney setinde çalışılan toplam 48 bireye ait örnek her deney setinde en az 1 kontrol birey olacak şekilde çalışılmıştır.

**a) Kontrol bireylerinden ve hastalardan periferik kan mononükleer hücrelerinin izolasyonu:**

1. 5 cc periferik kan örneği EDTA'lı tüpe alındı.
2. 15 ml deney tüpü içine 2.5 ml Histopak –Ficoll eklendi
3. Tüp 45 derece eğimli tutularak kan Histopak-Ficoll üzerine yayıldı
4. Oda ısısında, 2000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. (Santrifüjün yumuşak geçişle durdurulması için ayarlanmasına dikkat edildi).
5. Histopak-Ficoll üzerinde toplanan mononükleer hücreler pipet yardımıyla toplanarak boş deney tüpüne alındı. (Toplama işlemi sırasında histopak-Ficoll alınmamasına dikkat edildi. )
6. Toplanan hücreler üzerine 3 cc RPMI-1640 eklenip oda ısısında 2000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırılıp pellet homojenize edildi.
7. İzole edilen mononükleer hücrelerin üzerine 300 µL PBS eklenip nazikçe karıştırıldı.
8. Elde edilen hücrelerden 1.000.000 hücre içeren süspansiyon hazırlanarak 2 mcg/mL Fito-heamglutinin ile 16 saatlik (overnight; geceboyu) inkübe edildi.

**b) Kontrol bireylerinden ve hastalardan izole edilen periferik kan mononükleer hücrelerinde**

**T r e g h ü c r e l e r i n i n s a y ı v e y ü z d e l e r i n i n b e l i r**

1. Treg boyanması için; BD Pharmingen™ The FoxP3 Staining Kit – PE (FoxP3, CD4, CD25; Katalog No: 560133) ve PerCP-Cy™5.5 Mouse Anti-Human CD127 (Katalog Numarası: 560551) kullanılmıştır.
2. 2 mL 1x FOXP3 Buffer A eklenip oda ısısında ve karanlık koşullarda 10 dk inkübe edildi.
3. Hücreler 2 mL Stain Buffer ile yıkandıktan sonra 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
4. 2 mL Stain Buffer eklenip 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
5. 1 mL Stain buffer eklenip karıştırıldıktan sonra 100 µL örnek akım sitometri tüpüne alındı.
6. 20 µL FOXP3-PE antikor eklenip oda ısısı ve karanlıkta inkübe edildi.

7. Hücreler 2 kez 2 mL Stain Buffer ile yıkandı ve santrifüj edildi.
8. 20 µL CD4-FITC, 20 µL CD25-APC, 20 µL CD127-PerCP-Cy™5.5 antikorunu eklenerek 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
9. İnkübasyon sonunda tüplere 2 mL Stain Buffer eklenir, 1200 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
10. 500 µL Wash Buffer eklendikten sonra akım sitometri cihazında okutuldu.

***c) Treg hücrelerinde CTLA4 ekspresyonunun akım sitometri ile ölçülmesi***

1. 2 ml 1X FOXP3 Buffer A eklenip oda ısısında ve karanlık koşullarda 10 dk inkübe edildikten sonra hücreler 2 ml Stain Buffer ile yıkandı. 1200 rpm'de 5 dk santrifüj edilir ve süpernatant atıldı.
2. - 2 ml Stain Buffer eklenip 1200 rpm'de 5 dk santrifüj edilir.
3. - 1 ml Stain buffer eklenip karıştırılır. Ardından 100 µL örnek akım sitometri tüpüne alındı.
4. - 20 µL FOXP3-PE antikorunu eklendi. Oda ısısı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra hücreler 2 kez 2 mL Stain Buffer ile yıkandı ve santrifüj edildi.
5. - 20 µL CD4-FITC, 20 µL CD25-APC, 20 µL CD127-PerCP-Cy™5.5 ve CTLA-PE-Cy7-A antikorunu eklenerek 30 dk oda ısısında inkübe edildi.
6. - İnkübasyon sonunda tüplere 2 ml Stain Buffer eklenip, 1200 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
7. - 500 µL Wash Buffer eklendi ve akım sitometri cihazında okutuldu.

***d) Treg hücrelerinde LRBA ekspresyonunun akım sitometri ile ölçülmesi***

1. 2 ml 1X FOXP3 Buffer A eklenip oda ısısında ve karanlık koşullarda 10 dk inkübe edildikten sonra hücreler 2 ml Stain Buffer ile yıkandı. 1200 rpm'de 5 dk santrifüj edilir ve süpernatant atıldı.
2. - 2 ml Stain Buffer eklenip 1200 rpm'de 5 dk santrifüj edilir.
3. - 1 ml Stain buffer eklenip karıştırılır. Ardından 100 µL örnek akım sitometri tüpüne alındı.

4. Hazırlanan periferik kan monoökleer hücrelerine 250 µL fix/perm buffer solüsyonu eklenir ve 20 dakika inkübe edildi.
5. İnkübasyon sonunda tüplere 1 mL PBS eklenip 1200 rpm' de 5 dakika santrifüj edildi. Bu işlem iki kez tekrar edilerek, süpernatant atıldı.
6. Solüsyon hücre permeabilizasyon solüsyonu ile permeabilizasyonu sağlandı.
7. Pellet parmak ucuyla homojenize edilir ve pozitif kontrol test tüpüne ve hasta tüpüne 1:200 LRBA primer antikoru (Sigma-Aldrich Katalog No:HPA023597, Tavşan'da üretilen Anti-İnsan LRBA Antikoru; 100 µL içinde hazırlanır) eklendi ve tüpler +4°C de 30 dakika inkübe edildi.
8. İnkübasyon sonunda tüplere 1 mL PBS eklenip santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
9. Tüplerin dibine yavaş yavaş vurarak pellet homojenize edildikten sonra negatif kontrol tüpü dahil tüm tüplere 1:500 dilüsyonda sekonder antikordan (ThermoFisher Catalog # A-11034, Goat Anti-Rabbit IgG sekonder antikor, Alexa Fluor 488) 100 µL eklenip +4°C de 30 dakika inkübe edildi.
10. - 20 µL FOXP3-PE antikoru eklendi. Oda ısısı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra hücreler 2 kez 2 mL Stain Buffer ile yıkandı ve santrifüj edildi.
11. - 20 µL CD4-FITC, 20 µL CD25-APC, 20 µL ve CD127-PerCP-Cy™5.5 antikoru eklenerek 30 dk oda ısısında inkübe edildi.
12. - İnkübasyon sonunda tüplere 2 ml Stain Buffer eklenip, 1200 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
13. - 500 µL Wash Buffer eklendi ve akım sitometri cihazında okutuldu.

Akım sitometrik değerlendirme sırasında yapılan analizler Ogulur ve ark. ile Diaz-Gamez ve ark. çalışmasındaki deney protokolü gözden geçirilerek oluşturulmuştur (91, 94).

### 3.3 Akım Sitometrik Analiz Verilerinin Değerlendirilmesi

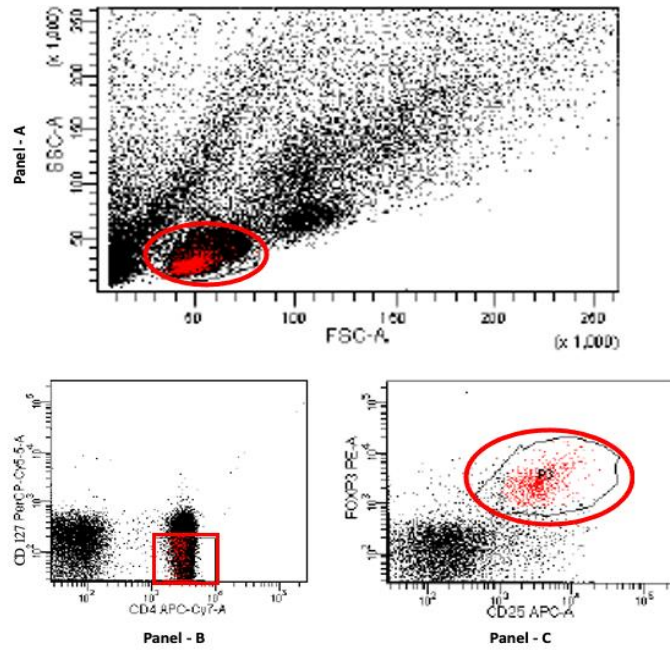
Çalışmaya dahil edilen ve akım sitometrik incelemeleri yapılan sağlıklı kontroller ile hastalıklı bireylere ait CD4<sup>+</sup> Lenfositler içindeki CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low/-</sup>

FoxP3<sup>+</sup> TReg hücre (Şekil 3.1) yüzdeleri ve kan sayımındaki değerlere göre öngörülen mutlak Treg Sayıları (hücre/mm<sup>3</sup>) ile bu hücre grubunda ifade edilen CTLA-4 ve LRBA proteinlerine ait ortalama ve ortanca floresan intensite değerleri incelendi.

Deney setleri ve bireyler arasında, deneye ve cihaza bağlı okuma farklılıklarından kaynaklanabilecek varyasyonların ortadan kaldırılması amacıyla kıyaslama için kullanılan median floresan intensite değerleri için düzeltme oranı (Formül 3.1) oluşturulmuştur. Her deney seti içerisinde yer alan hasta bireylerde incelenen proteine ait median floresan intensite değerleri; aynı setteki sağlıklı kontrollere ait aynı değere (birden fazla sağlıklı kontrol varsa bunların ortalaması kullanılmıştır) oranlanmıştır. Elde edilen bu değerler sağlıklı bireylerinkine ait düzeltme oranlarıyla karşılaştırılmıştır.

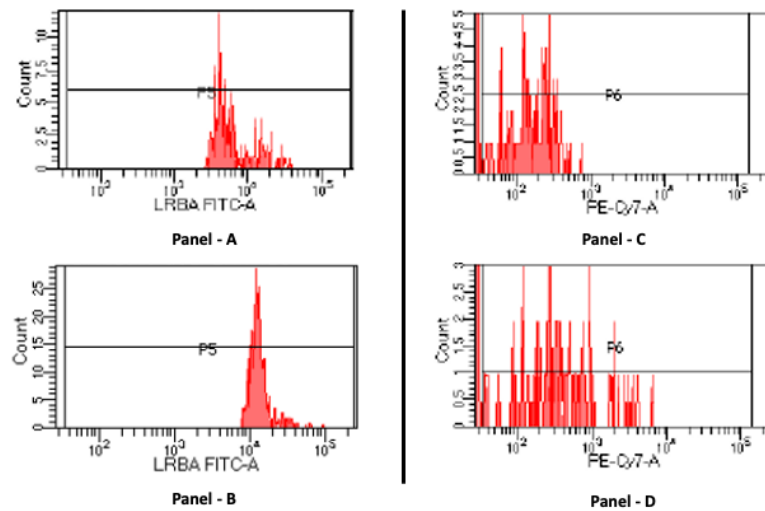
$$\frac{\text{Median Floresan Intensite Değeri (Hasta)}}{\text{Ortalama Median Floresan Intensite Değeri (Sağlıklı Kontrol)}} \quad (\text{Formül 3.1})$$





**Şekil 3.1.**  $CD4^+CD25^{high}CD127^{low/-}FoxP3^+$  Regülatuar T Hücrelerin (Treg) akım sitometrik olarak kapılanması (gating)

**Açıklama:** Periferik mononükleer hücrelerin akım sitometrik SSC-A ve FSC-A saçılım grafiğinden (büyüklük ve granülariteye göre; Panel-A) lenfositlerin bulunduğu alan kaplanır. Bu hücreler içerisinde CD4 pozitif ve CD127 negatif/düşük-ekspresyon olan hücre grubu (Panel-B) seçilir. Benzer şekilde bu hücre grubu içerisinde CD25 yüksek-ifade ve FOXP3+ hücre grubu (Panel-C) kaplanarak ilgili Treg hücre grubunun seçimi tamamlanır.



**Şekil 3.2.** Kapılanan  $CD4^+CD25^{high}CD127^{low/-}FoxP3^+$  Treg hücre grubuna ait LRBA ve CTLA-4 protein ifadelerine ait grafiklerin değerlendirilmesi

**Açıklama:** Hasta bireylere ait örneklerde LRBA (Panel-A) ve CTLA-4 (Panel-C) protein ifadelerinde sağlıklı kontrollere ait olanlara kıyasla (sırasıyla LRBA için Panel-B ve CTLA-4 için Panel-D) saptanan düşüklük izlenmektedir.

### 3.4 Etik Kurul Onayı ve Maddi Bütçe

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar ve Yerel Etik Kurulu'ndan izin alındı. GO 17/761 proje numaralı çalışmaya ait 16969557-1308 sayılı raporda verilen etik kurul onayı 27.09.2017 tarihli 2017/21 numaralı Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu toplantısı ile alınmıştır (EK 1). Ayrıca 2018/29 numaralı toplantıda proje süresi uzatılması (EK-1) ve 2019/04 numaralı toplantıda proje ekibinde değişiklik yapılması (EK-1) etik açıdan uygun bulunmuştur.

Akım sitometrik immünolojik inceleme için gerekli olan sarf malzemeleri ve kitlerin temini için gerekli olan bütçe için Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne başvurulmuştur. TYL-2019-17774 kodlu Tez Projesi, Yüksek Lisans kategorisinde değerlendirilen projenin 13.05.2019 tarihinde Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nce desteklenmesi uygun bulunmuştur.

### 3.5 İstatistik Analizler

Elde olunan veriler IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 24.0 kullanılarak oluşturulan veritabanına kaydedilmiş ve analizler bu program kullanılarak yapılmıştır. Değerlendirmede tanımlayıcı veriler kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler değerlendirilirken kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%), sayısal değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma, ortanca (çeyrekler arası aralık-IQR), minimum ve maksimum değerleri ile ifade edilmiştir. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında çapraz tablo analizleri ve Ki-kare testi (Pearson Ki-Kare ve gerekli durumlarda Fisher Exact Test) kullanıldı. İki grupta sayısal ölçümlerin normal dağılıma uygunluğu varyasyon katsayısı, çarpıklık basıklık, Shapiro Wilks ve Kolmogorov-Smirnov testleri ile incelendi. İki grup karşılaştırmaları; normal dağılım gösteren sayısal değişkenlerde bağımsız gruplar T testi, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde ise Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. Korelasyon analizi için normal dağılım gösteren değişkenler için Pearson Korelasyon analizi ve normal dağılım göstermeyen değişkenler için Spearman Korelasyon Analizi uygulanmıştır. Tüm testlerde istatistiksel olarak anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmanın veri toplanması için belirtilen zaman diliminde toplam 48 birey (13 sağlıklı kontrol ve 35 hastalıklı birey) araştırmaya dahil edilmiştir. Tüm bireylerin ortanca yaşı 37,5 (Çeyrekler arası aralık: 24; minimum: 19 ve maksimum: 65) olup; katılımcıların 16'sı (%33) erkektir.

Hastalığı olan bireylerin 24'ü (%50) inflamatuvar barsak hastalığı ve 11'i (%23) Çölyak Hastalığı tanıları ile izlenmekteydi. İnflamatuvar Barsak Hastalığı ile izlenen bireylerin 16'si (%66,6) Crohn Hastalığı, 7'si (%29,2) Ülseratif Kolit ve 1'i indetermine kolit (%4,2) tanılarına sahipti. Katılımcılara ait dağılım Tablo 4.1'de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Araştırmaya dahil edilen bireylerin dağılımı

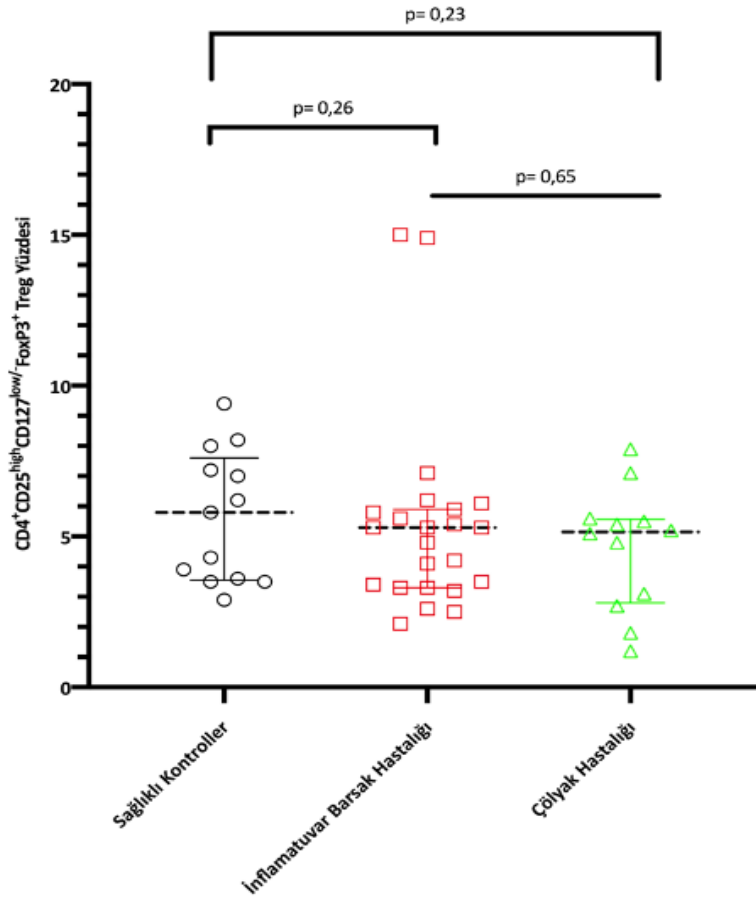
	n= 48 Birey
<b>Araştırma Grupları</b>	
1. Sağlıklı Kontroller	13 (%27,1)
2. Hasta Bireyler	35 (%73,0)
a) İnflamatuvar Barsak Hastalığı	24 (%50)
- Crohn Hastalığı	16 (%33,3)
- Ülseratif Kolit	7 (%14,6)
- İndetermine Kolit	1 (%2,1)
b) Çölyak Hastalığı	11 (%22,9)

İBH bulunan 8 bireyin refrakter hastalık nedeniyle biyolojik tedavi ihtiyacı bulunmaktaydı. Tüm hasta bireylerin 25'inde (%71,4)'ünde immün aracılı enteropatii dışında eşlik eden en az bir otoimmün hastalık bulunmaktaydı. Benzer şekilde 4 hastanın hipogammaglobulinemisi (%11,4) ve 1 hastanın sık tekrarlayan pnömoni öyküsü mevcuttu. Hastalara ait klinik özellikler Tablo 4.2'de özetlenmiştir.

**Tablo 4.2.** Hasta Bireylerin Klinik Özellikleri

<b>Hasta Bireylerin Bazı Klinik Özellikleri</b>	<b>n= 35 Birey</b>
Sık Enfeksiyon Öyküsü	1 (%2,9)
Antikor Eksikliği / Düşüklüğü	4 (%11,4)
IgG Düşüklüğü	1 (%2,9)
IgA Düşüklüğü	3 (%8,6)
Kompleman Eksikliği / Düşüklüğü	2 (%5,7)
Eşlik Eden Diğer Otoimmün Hastalığı Olanlar (Enteropati dışında)	25 (%71,4)
Eşlik eden 1 Otoimmün Hastalık Olan Birey Sayısı	18 (%51,4)
Eşlik eden 2 Otoimmün Hastalık Olan Birey Sayısı	7 (%20)
<b>Hastalık Dağılımları</b>	
Spondiloartropati (SpA)	14 (%40)
Periferik Artrit	3 (%8,6)
Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)	2 (%5,7)
Sjögren Hastalığı	2 (%5,7)
Takayasu Arteriti (Büyük Damar Vaskülit)	2 (%5,7)
Tip 1 Diabetes Mellitus	2 (%5,7)
Hashimoto Tiroiditi	1 (%2,9)
Pernisyöz Anemi	1 (%2,9)
Vitiligo	1 (%2,9)
Otoimmün Karaciğer Hastalığı	1 (%2,9)
Glomerülonefrit (FSGS)	1 (%2,9)
Behçet Hastalığı	1 (%2,9)
Üveit	1 (%2,9)
Eşlik Eden Diğer Otoinflamatuvar Hastalıklar	2 (%5,7)
Eşlik Eden Allerjik Hastalıklar	1 (%2,9)
Lenfoproliferatif Hastalık Öyküsü	1 (%2,9)
Ailede Otoimmün/Otoinflamatuvar Hastalık Öyküsü	2 (%5,7)
Erken Başlangıçlı Enteropati (Çocukluk Yaş)	2 (%5,7)
İnflamatuvar Barsak Hastalığı – Biyolojik Tedavi İhtiyacı	8 (%22,9)

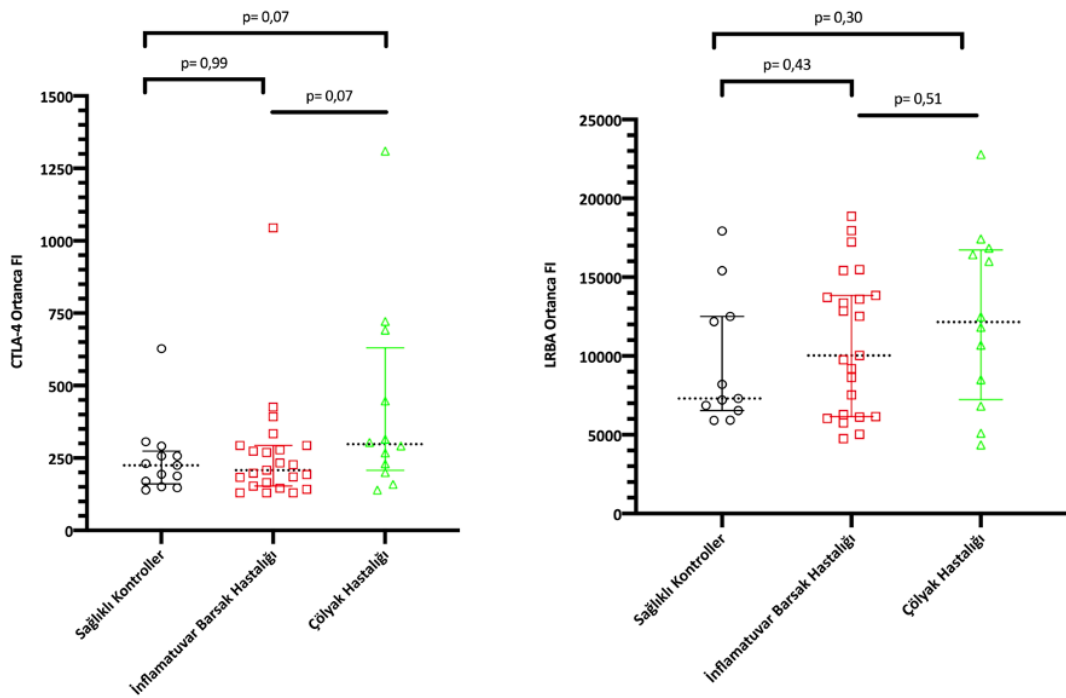
Bireylere ait akım sitometrik incelemede değerlendirilen CD4+ lenfositler içindeki CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup>/FoxP3<sup>+</sup> Treg yüzdesi ve periferik kandaki hesaplanmış absolüt Treg sayıları ile CTLA-4 ve LRBA proteinlerine ait ortalama ve ortanca floresan yoğunluklarına (flourescent intensity: FI) ait ölçümler Tablo.4.3'de özetlenmiştir. İkinci deneyde değerlendirilen 4 ve 6 numaralı sağlıklı kontrollere ait LRBA ölçümleri teknik olarak yapılamamıştır (Tablo 4.6 ve Tablo 4.7). Eldeki verilere göre hasta bireylere ait ortanca Treg yüzdeleri, sağlıklı kontrolle kıyasla düşük bulunmuş olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmamaktadır (sırasıyla 5,2'e karşın 5,8; p= 0,19). Benzer şekilde hasta grubu içinde; IBH tanısı mevcut hastaların ortanca Treg yüzdeleri ÇH hastalığı olan bireylerinkine benzer (Şekil 4.1) olarak bulunmuş olup istatistiksel olarak aralarındaki farklılık anlamlılık düzeyine ulaşmamaktaydı (sırasıyla 5,3'e karşın 5,2, p= 0,65).



**Şekil 4.1.** Sağlıklı kontroller ve hasta bireylerin (hastalık gruplarına göre) periferik kandaki Treg hücre yüzdelerinin dağılımlarının karşılaştırılması

Periferik kandaki hesaplanmış ortanca Treg sayıları ( $\text{mm}^3$ 'te) IBH grubunda 6 (ÇAA:9), ÇH grubunda 5,2 (ÇAA: 4) ve sağlıklı kontrollerde 5 (ÇAA: 6) olarak saptanmıştır. Her iki hastalık grubu da sağlıklı kontrollere göre yüksek ortanca Treg sayılarına sahip olmakla birlikte; gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmamaktaydı (sırasıyla IBH ve sağlıklı kontroller arasında  $p=0,42$ ; ÇH ve sağlıklı kontroller arasında  $p=0,16$ ).

Hastalığı olan bireyler ile sağlıklı kontrollere ait LRBA ile CTLA4 proteinlerine ait ortalama ve ortanca FI değerleri karşılaştırıldığında tüm bu parametrelerin ortanca değerlerinin hasta bireylerde daha yüksek olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmadığı bulunmuştur (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** Sağlıklı kontroller ve hasta bireylerin (hastalık gruplarına göre) CTLA-4 ve LRBA proteinlerinin ifadeleri açısından Ortanca FI değerine göre dağılımlarının karşılaştırılması

Bununla birlikte hasta bireyler hastalıklarına göre (İBH ve ÇH) gruplandırıldığında CTLA-4 proteinine ait hem ortalama hem ortanca FI değerlerinin ortanca değerlerinin İBH olan bireylerde (ÇH olanlardan farklı olarak) sağlıklı kontrollere kıyasla düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 4.3). CTLA-4 için ortalama FI (495 (ÇAA:649)'e karşı 648 (ÇAA:586)) ve ortanca FI değerlerine (208 (ÇAA:140)'e karşı 225 (ÇAA:113,5)) göre ortanca değerler üzerinden bulunan bu farklılık istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamaktadır (ortalama ve ortanca FI açısından sırasıyla  $p=0,65$  ve  $0,99$ ).

**Tablo 4.3.** Araştırmaya katılan sağlıklı kontroller ve hastaların akım sitometrik incelemeleri

	Kontrol (n=13)	Hasta (N=35)	p1*	Kontrol (n=13)	IBH (n=24)	ÇH (n=11)	p2**	P3***
<b>Yas, Ortanca (ÇAA) (Min ; Max)</b>	32 (ÇAA:11) (25; 56)	41 (ÇAA: 28) (19; 65)	0,19	32 (ÇAA:11) (25; 56)	38 (ÇAA: 28) (19; 65)	46 (ÇAA: 30) (28;58)	0,31	0,16
<b>Cinsiyet (%E)</b>	4 (%30,8)	12 (%34,3)	0,55	4 (%30,8)	11 (%45,8)	1 (%9,1)	0,37	0,33
<b>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup>/-FoxP3<sup>+</sup> Treg Yüzdesi, Ortanca (ÇAA) (Min ; Max)</b>	%5,8 (ÇAA: 4,1) (2,9; 9,4)	%5,2 (ÇAA: 2,5) (1,2; 15)	0,19	%5,8 (ÇAA: 4,1) (2,9; 9,4)	%5,3 (ÇAA: 2,6) (2,1; 15)	%5,2 (ÇAA: 2,8) (1,2; 7,9)	0,26	0,23
<b>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup>/-FoxP3<sup>+</sup> Treg Mutlak Sayısı (/mm<sup>3</sup>), Ortanca (ÇAA) (Min ; Max)</b>	5,0 (ÇAA: 6) (1; 15)	6,0 (ÇAA: 8) (2; 44)	0,73	5,0 (ÇAA: 6) (1; 15)	6 (ÇAA: 9) (3; 44)	5,2 (ÇAA: 4) (2; 12)	0,42	0,60
<b>CTLA4 Ortalama-FI, Ortanca (ÇAA) (Min ; Max)</b>	648 (ÇAA: 586) (160; 1027)	642 (ÇAA: 699) (150; 2462)	0,71	648 (ÇAA: 586) (160; 1027)	495 (ÇAA: 649) (150; 2444)	709 (ÇAA: 1374,5) (179; 2462)	0,65	0,10
<b>CTLA4 Ortanca-FI, Ortanca (ÇAA) (Min ; Max)</b>	225 (ÇAA: 113,5) (140; 628)	233 (ÇAA: 150) (130; 1310)	0,44	225 (ÇAA: 113,5) (140; 628)	208 (ÇAA: 140) (130; 1045)	298 (ÇAA: 423,25) (140; 1310)	0,99	0,07
<b>LRBA Ortalama-FI, Ortanca (ÇAA) (Min ; Max)</b>	10638 (ÇAA: 5736) (7286; 20387)	13342 (ÇAA: 11108) (6146; 28403)	0,42	10638 (ÇAA: 5736) (7286; 20387)	12310 (ÇAA: 9596) (6146; 25348)	13921,5 (ÇAA: 11679,25) (7716; 28403)	0,57	0,33
<b>LRBA Ortanca-FI, Ortanca (ÇAA) (Min ; Max)</b>	7296 (ÇAA: 5978) (5903; 17924)	11819 (ÇAA: 9196) (4358; 22788)	0,32	7296 (ÇAA: 5978) (5903; 17924)	10036 (ÇAA: 7699) (4752; 18865)	12158 (ÇAA: 573,25) (4358; 22788)	0,43	0,30

**Kısaltmalar:** CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, ÇAA: Çeyrekler arası aralık, ÇH: Çölyak hastalığı, E: Erkek, FI: floresan intensite, IBH: inflamatuvar barsak hastalığı, LRBA: lipopolysaccharide (LPS)-responsive and beige-like anchor protein, Max: Maksimum, Min: Minimum, Treg: Regülatuvar T Hücre

\*p1: Sağlıklı kontroller ve hasta bireyler arasındaki istatistiksel değerlendirme

\*\*p2: IBD hastalığı olan bireyler ve sağlıklı kontroller arasındaki istatistiksel değerlendirme

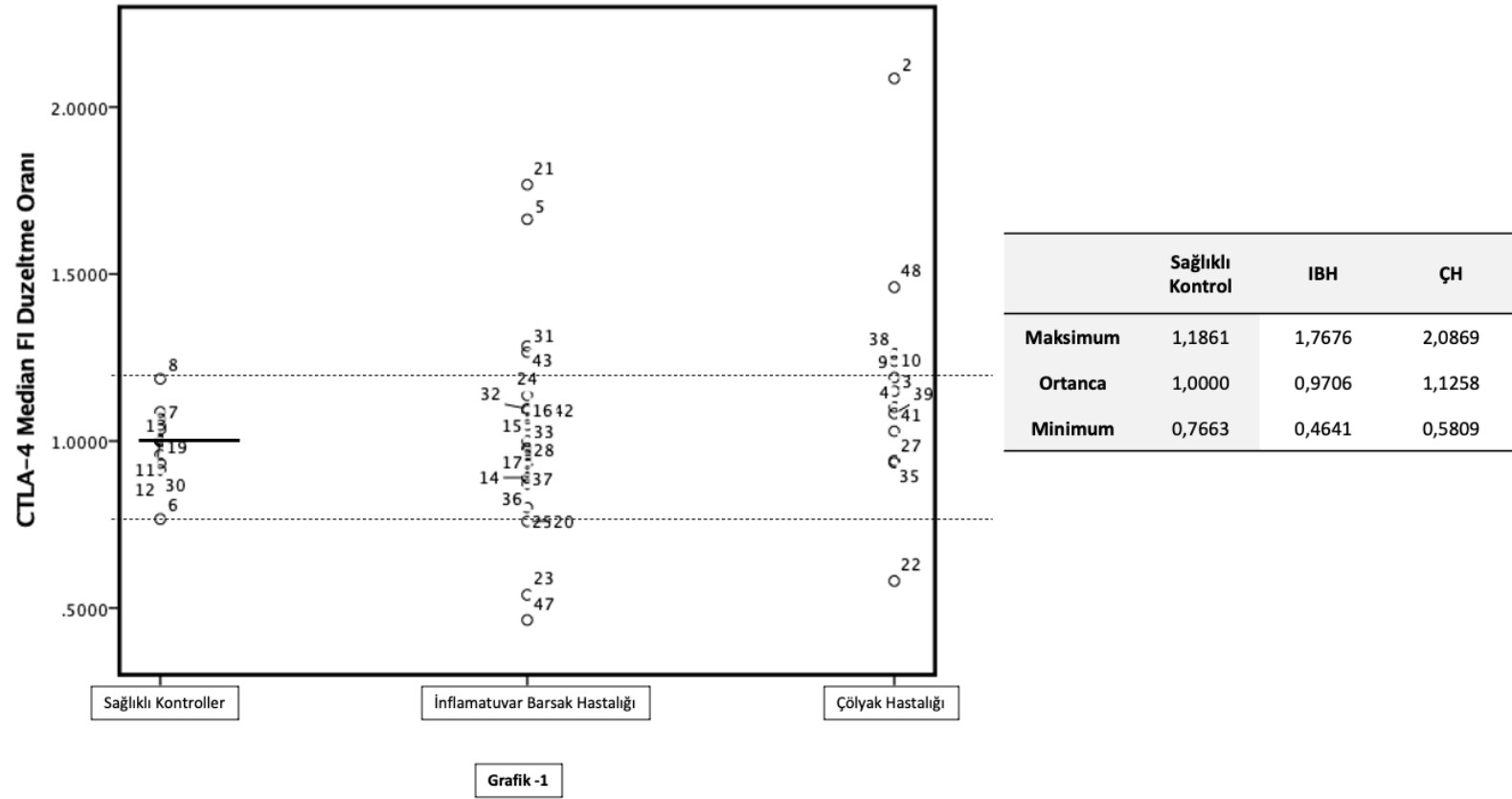
\*\*p3: Coliyak hastalığı olan bireyler ve sağlıklı kontroller arasındaki istatistiksel değerlendirme



Araştırmaya katılan tüm bireylerin değerlendirildiği 7 deney seti içinde; her deneyin kendi sağlıklı kontrol bireyine/bireylerine göre ortanca FI değerlerine göre CTLA-4 ve LRBA proteinleri için uygulanan düzeltme oranı ile elde edilen değerlerin dağılımları Şekil 4.3'teki Grafik.1 ve Şekil 4.4'teki Grafik 2'de verilmiştir. Sağlıklı kontrollere ait CTLA-4 proteini için ortanca değer 1 iken üst sınır: 1,19 ve alt sınır: 0,77 saptanmıştır (Şekil 4.3. Grafik.1). Benzer şekilde sağlıklı kontrollere ait LRBA proteini için ortanca değer 1 iken üst sınır: 1,12 ve alt sınır: 0,89 saptanmıştır (Şekil4 .4. Grafik.2).

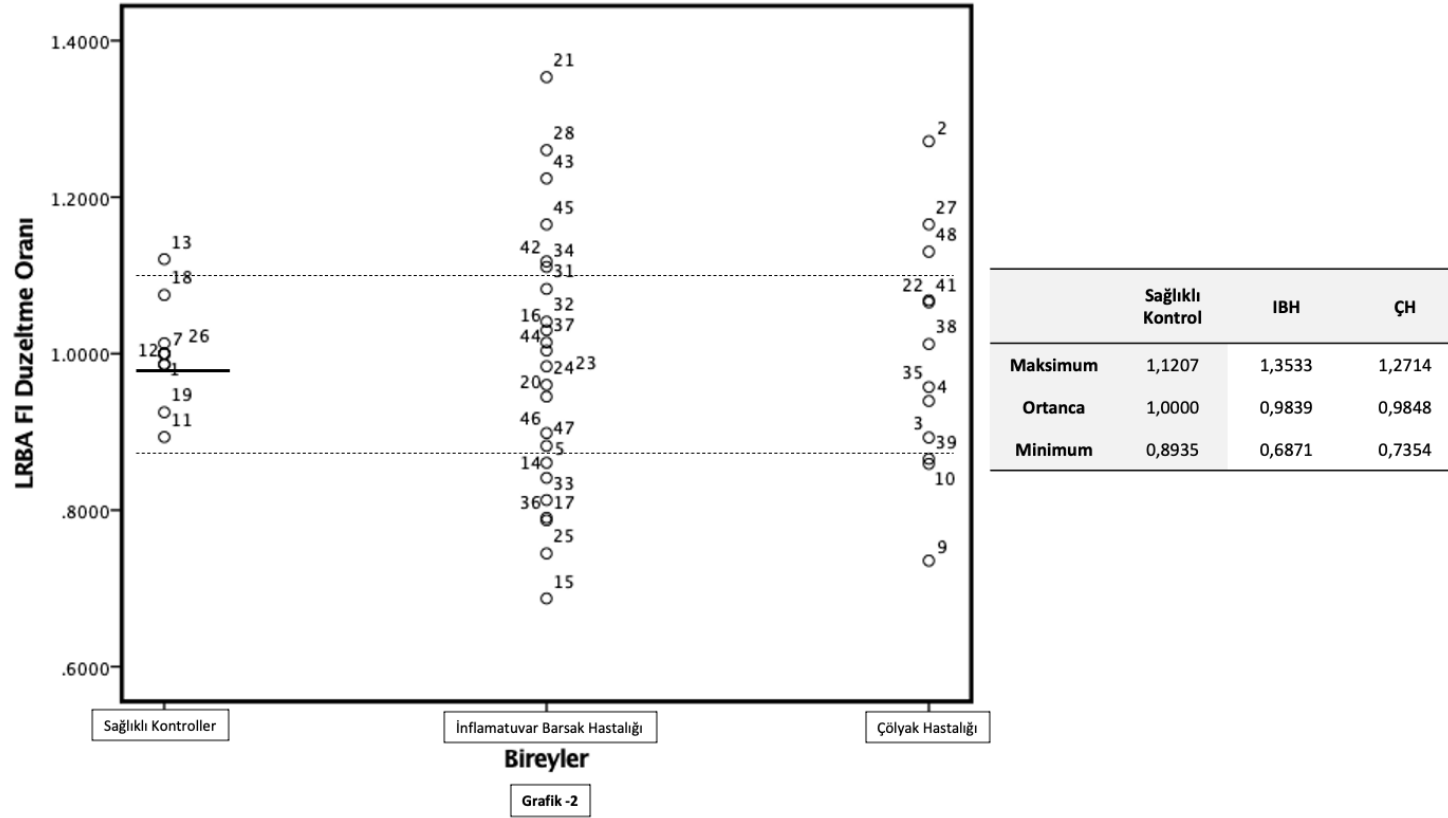
Hastaların ve sağlıklı kontrollerin protein ifadeleri açısından tespit edilen düzeltme oranlarına göre bireylerin saçılımları Şekil 4.5'teki grafikte verilmiştir. Buna göre olgu düzeyinde yapılan incelemede; çocukluk başlangıçlı CH bulunan 47 nolu bireyin (Deney 7; Tablo 4.16 ve 4.17) deney kontrollerine kıyasla hem LRBA hem de CTLA-4 proteinleri için düşük hücrel ifadeye sahip olduğu izlenmiştir. Bunun yanında İBH olan hastaların 8'inde (%33,3 → 5, 14, 15, 17, 25, 33, 36 ve 47 numaralı bireyler) ve ÇH olan hastaların 4'ünde (%36,4 → 3, 9 ,10 ve 39 numaralı bireyler); sağlıklı bireylerin dağılımının altında LRBA ifadesi saptanmıştır. Kırk yedi numaralı bireye benzer şekilde 20, 22 ve 23 nolu bireylerin CTLA-4 proteini için düzeltme oranları sağlıklılara ait aralığın altında saptanmıştır. Buna göre 4 hastanın (%11,4) CTLA-4 proteini ve 12 (%34,3) hastanın LRBA için düzeltme oranları sağlıklılara ait aralığın altında saptanmış ve düşük olarak değerlendirilmiştir.

Tüm bireylere ait CTLA4 ve LRBA proteinlerine ait ortanca FI değerleri ve buna göre yapılan düzeltme oranlarının saçılımları Şekil 4.6'daki grafik 3 ve 4'te verilmiştir. Bu her iki protein molekülüne ait ifade değerlerini temsil eden ortanca FI değerleri açısından ve düzeltme oranlarına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde orta dereceli korelasyon saptanmıştır (Sırasıyla; Korelasyon katsayısı: 0,64;  $p < 0.001$  ve Korelasyon katsayısı: 0,33;  $p = 0.02$ ).



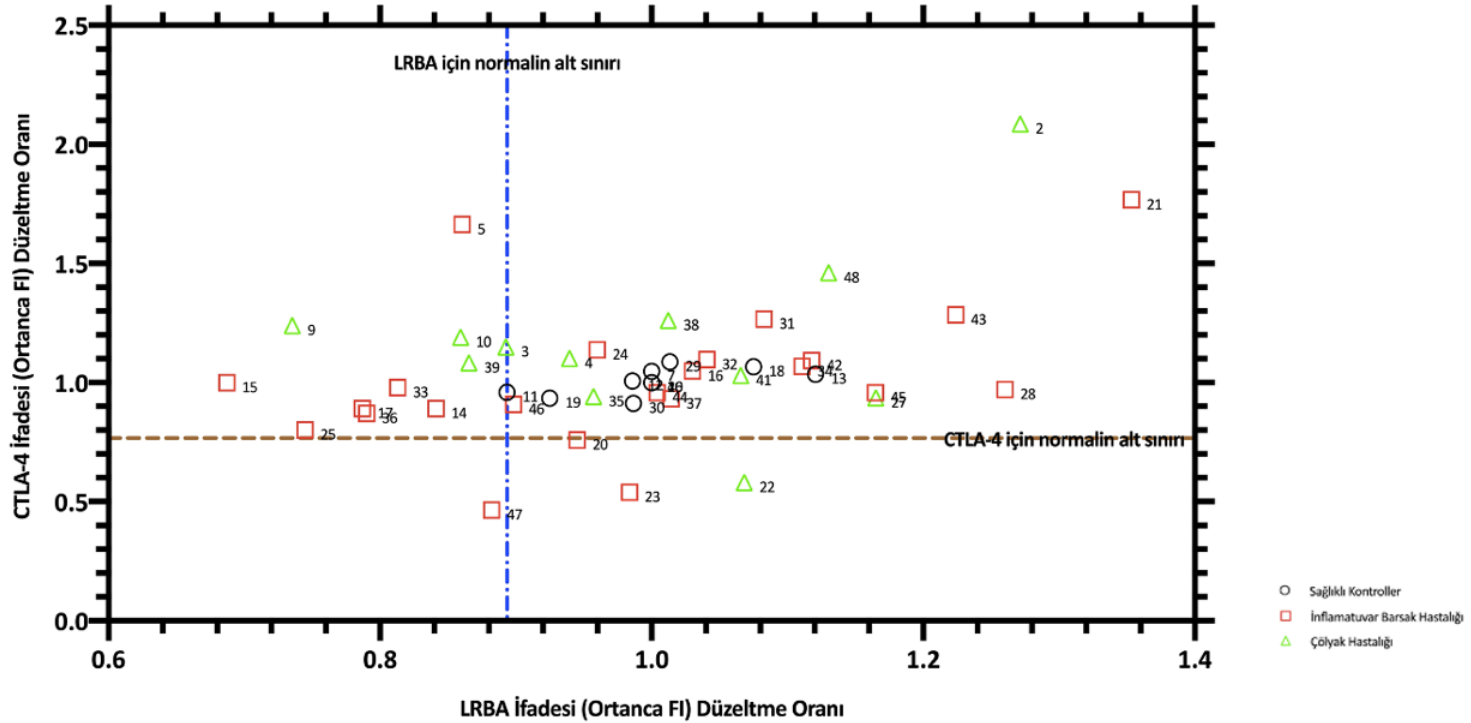
**Şekil 4.3.** Sağlıklı kontroller ile ÇH ve İBH tanılarında hastaların CTLA-4 ortanca FI için deney setleri içinde oluşturulan düzeltme oranları açısından saçılım grafiği (Grafik-1).

Not: Grafiğin yanında grupların düzeltme oranları açısından ortanca ile minimum ve maksimum değerleri verilmiştir.



**Şekil 4.4.** Sağlıklı kontroller ile ÇH ve İBH tanılarında hastaların LRBA ortanca FI için deney setleri içinde oluşturulan düzeltme oranları açısından saçılım grafiği (Grafik-2).

Not: Grafiğin yanında grupların düzeltme oranları açısından ortanca ile minimum ve maksimum değerleri verilmiştir. Ayrıca 4 ve 6 numaralı bireylere ait LRBA ölçüm değerleri ölçülemediği için grafikte yer almamaktadır.

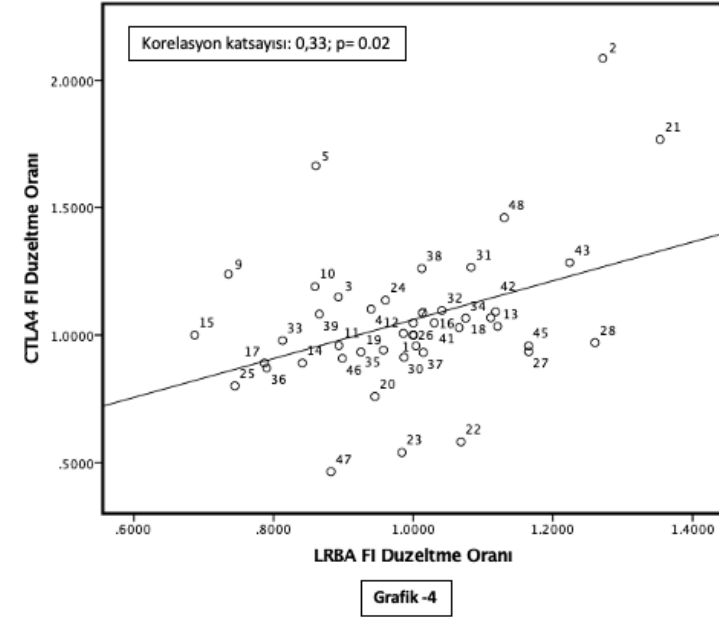
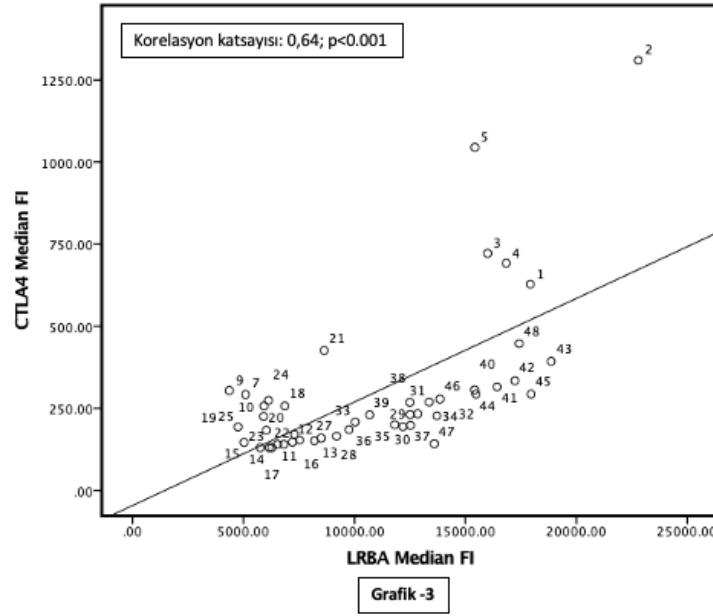


**Şekil 4.5.** LRBA ve CTLA-4 protein ifadeleri için deney kontrollerine göre hesaplanmış düzeltme oranlarına göre hasta ve sağlıklı bireylerin ait saçılım grafiği ve sağlıklı kontrollerin alt sınırları.

Not: 4 ve 6 numaralı bireylere ait LRBA ölçüm değerleri ölçülemediği için grafikte yer almamaktadır.

Araştırmada 24.05.2019 ile 16.09.2019 tarihleri arasında 7 deney seti içerisinde değerlendirilen toplam 48 bireyin demografik özellikleri, immün aracılı enteropatisine (H yada İBH) ilişkin bilgileri ve otoimmün bulguları Tablo 4.4, 4.6, 4.8, 4.10, 4.12, 4.14 ve 4.16'de özetlenmiştir. Aynı şekilde tüm bireylerin immünolojik açıdan klinik değerlendirilmesinde ne çıkan temel parametreleri ile akım sitometrik incelemeye ilişkin sayısal değerleri 4.5, 4.7, 4.9, 4.11, 4.13, 4.15 ve 4.17'de verilmiştir.

LRBA protein ifadesi açısından düşüklük şüphesi olan, yukarıda da bahsedilen 12 hastadan 4'ne (25, 33, 36 ve 39 nolu bireyler) mevcut imkanlar dahilinde immünolojik değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu 4 hasta yeni nesil dizileme analizi ile primer immün yetmezlik paneli ile değerlendirilmiştir. Bunlarda birinde (25 nolu birey) %37,5 frekansta (allelic coverage; T=5 TA=3 olan) LRBA geni splicing bölgesine ait c.1015 lokalizasyonunda 2. nükleotitte heterozigot insersiyon-delesyon mutasyonu (A>TA) olabileceği saptanmıştır. Bu hastaya ve diğer şüpheli olgulara yönelik ileri incelemeler devam etmektedir.



**Şekil 4.6.** Tüm bireylerin LRBA ve CTLA-4 protein ifadeleri açısından ortanca FI (Grafik-3; Solda) ve buna göre yapılan düzeltme oranına göre (Grafik-4; Sağda) saçılım grafikleri

**Kısaltmalar:** CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, FI: floresan intensite, LRBA: lipopolysaccharide (LPS)-responsive and beige-like anchor protein

**Tablo 4.4.** Birinci deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Grup	Yaş ve Cinsiyet	Enteropati	Enteropati Son Durum	İBH Seyir - Yaygınlık	Diğer Otoimmünite Tanı / Bulgu	Otoantikolar	Diğer Komorbiditeler	İlaçlar
Deney 1- 24.05.2019	1	Kontrol	28, K	-	-	-	-	-	-	-
	2	Hasta	46, E	ÇH	Remisyonda	-	Tip 1 Diabetes Mellitus, Hashimoto Tiroiditi, Allerjik Astma	ANA 1/160 (Granüler-Benekli), ENA-, Anti-DsDNA-, Anti-CCP-, RF -, Anti-TTG IgG/A +, Anti-Endomisyum IgA +	-	İnsülin, Levotiroksin
	3	Hasta	20, K	ÇH	Remisyonda	-	Tip 1 Diabetes Mellitus,	Anti-TTG A +, Anti-Endomisyum IgA +	-	İnsülin
	4	Hasta	25, K	ÇH	Remisyonda	-	Periferik Artrit	Anti-TTG IgA +, Anti-Endomisyum IgA +	-	Metotreksat
	5	Hasta	60, K	CH	Remisyonda	Rektum, Sigmoid	Periferik Artrit	ANA 1/100, RF-, Anti-CCP -	Osteoporoz	Budesonid

**Kısaltmalar:** ANA: Anti-nükleer antikor, Anti-CCP: Siklik sitrüline peptid antikorları, Anti-DsDNA: Double stranded DNA antikor, Anti-TTG: Anti Doku Transglutaminaz Antikoru, CH: Crohn Hastalığı, ÇH: Çölyak Hastalığı, E: Erkek, ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijenler, K: Kadın, RF: Romatoid Faktör

**Tablo 4.5.** Birinci deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Bireyin Ait Olduğu Grup	Yaş ve Cinsiyet	Akraba Evliliği	Aile Öyküsü - PİYH	Klinik PİYH Bulguları	Laboratuvar Özellikleri			Aile Öyküsü: Otoimmünite - Otoinflamasyon	Lenfoproliferatif Hastalık Gelişimi	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> CD127 <sup>low</sup> /FoxP3 <sup>+</sup> (%)	CTLA-4 (FI)			LRBA (FI)		
							Kompleman Düşüklüğü	Hipogammaglobulinemi	Diğer				Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış	Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış
Deney 1 - 24.05.2019	1	Kontrol	28, K	-	-	-	-	-	-	-	6,2	1008,00	628,00	1,00000	20364,00	17924,00	1,00000	
	2	Hasta	46, E	-	-	Sık Pnömoni Öyküsü	C3: 57,5 mg/dL (79-152), C4:12,3 mg/dL (16-38)	-	-	-	4,8	2462,00	1310,00	2,08599	28403,00	22788,00	1,27137	
	3	Hasta	20, K	-	-	-	Bilinmiyor	-	-	-	7,1	1801,00	722,00	1,14968	20398,00	16002,00	<b>0,89277</b>	
	4	Hasta	25, K	-	-	-	Bilinmiyor	-	-	-	7,9	1748,00	692,00	1,10191	21451,00	16840,00	0,93952	
	5	Hasta	60, K	-	-	-	Bilinmiyor	-	-	-	3,5	2444,00	1045,00	1,66401	25348,00	15424,00	<b>0,86052</b>	

**Kısaltmalar:** C3: Kompleman-3 proteini, C4: Kompleman-4 proteini, CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, E: Erkek, FI: floresan intensite, K: Kadın, LRBA: lipopolysaccharide (LPS)-responsive and beige-like anchor protein



**Tablo 4.6.** İkinci deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracılı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Grup	Yaş ve Cinsiyet	Enteropati	Enteropati Son Durum	İBH Seyir - Yaygınlık	Diğer Otoimmünite Tanı / Bulgu	Otoantikörler	Diğer Komorbiditeler	İlaçlar
Deney 2 - 31.05.2019	6	Kontrol	36, K	-	-	-	-	-	-	-
	7	Kontrol	27, K	-	-	-	-	Bilinmiyor	-	-
	8	Kontrol	56, E	-	-	-	-	Bilinmiyor	HT	Amlodipin
	9	Hasta	43, E	CH	Biyolojik Tedaviyle Remisyonda	Pankolonik	Takayasu Arteriti, SpA	ASCA 1/100, ANA -, ENA -	-	Tocilizumab, Sulfasalazin, MPZ
	10	Hasta	58, K	ÇH	Remisyonda	-	Sjögren Sendromu	ANA 1/100 Granüler, Anti Endomisyum IgA +	-	Hidroksiklorokin

**Kısaltmalar:** ANA: Anti-nükleer antikor, ASCA: Anti- Saccharomyces Cereviscea Antikorları, CH: Crohn Hastalığı, ÇH: Çölyak Hastalığı, E: Erkek, ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijenler, HT: Hipertansiyon, K: Kadın, MPZ: Metil Prednizolon, SpA: Spondiloartropati

**Tablo 4.7.** İkinci deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Bireyin Ait Olduğu Grup	Yaş ve Cinsiyet	Akraba Evliliği	Aile Öyküsü - PİYH	Klinik PİYH Bulguları	Laboratuvar Özellikleri			Aile Öyküsü: Otoimmünite - Otoinflamasyon	Lenfoproliferatif Hastalık Gelişimi	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> CD127 <sup>low</sup> /FoxP3 <sup>+</sup> (%)	CTLA-4 (FI)			LRBA (FI)			
							Kompleman Düşüklüğü	Hipogammaglobulinemi	Diğer				Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış	Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış	
Deney 2 - 31.05.2019	6	Kontrol	36, K	2. Derece Kuzen	-	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor	-	-	-	4,3	648,00	188,00	0,76630				
	7	Kontrol	27, K	-	-	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor	-	Anne AS	-	3,6	523,00	257,00	1,04755	11540,00	5926,00	1,00000	
	8	Kontrol	56, E	-	-	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor	-	-	-	3,5	1027,00	291,00	1,18614				
	9	Hasta	43, E	-	-	-	C3: 68,6mg/dL (79-152), C4: 9,36 mg/dL (16-38)	-	-	-	-	-	1,8	670,00	304,00	1,23913	7716,00	4358,00	<b>0,73540</b>
	10	Hasta	58, K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	654,00	292,00	1,19022	8206,00	5092,00	<b>0,85926</b>

**Kısaltmalar:** C3: Kompleman-3 proteini, C4: Kompleman-4 proteini, CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, E: Erkek, FI: floresan intensite, K: Kadın, LRBA: lipopolysaccharide (LPS)-responsive and beige-like anchor protein

**Tablo 4.8.** Üçüncü deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri

Deneysel No ve Tarih	Birey No	Grup	Yaş ve Cinsiyet	Enteropati	Enteropati Son Durum	İBH Seyir - Yaygınlık	Diğer Otoimmünite Tanı / Bulgu	Otoantikorlar	Diğer Komorbiditeler	İlaçlar
Deney 3- 12.06.2019	11	Kontrol	38, K	-	-	-	-	Bilinmiyor	GÖRH	Pantoprazol
	12	Kontrol	38, E	-	-	-	-	Bilinmiyor	-	-
	13	Kontrol	46, E	-	-	-	-	Bilinmiyor	-	-
	14	Hasta	65, E	ÜK	Biyolojik Tedaviyle Remisyonda	Pankolonik	SpA	Bilinmiyor	-	İnfiliksimab
	15	Hasta	41, E	CH	Biyolojik Tedaviyle Remisyonda	Terminal İleum, Striktürel	SpA	ANA 1/100 Granüler, ENA -, Anti-TTG IgG/A -	-	Ustekinumab, Sulfasalazin
	16	Hasta	27, E	CH	Biyolojik Tedaviyle Remisyonda	Terminal İlerum, Striktürel ve fistulizan	SpA	Bilinmiyor	-	İnfiliksimab, Azatiyoprin
	17	Hasta	31, K	CH	Biyolojik Tedaviyle Remisyonda	Termina ileum	SpA	Anti-TTG IgG/A -	-	İnfiliksimab,

**Kısaltmalar:** ANA: Anti-nükleer antikor, Anti-TTG: Anti Doku Transglutaminaz Antikoru, CH: Crohn Hastalığı, E: Erkek, ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijenler, K: Kadın, SpA: Spondiloartropati, ÜK: Ülseratif Kolit

**Tablo 4.9.** Üçüncü deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Bireyin Ait Olduğu Grup	Yaş ve Cinsiyet	Akraba Evliliği	Aile Öyküsü - PİYH	Klinik PİYH Bulguları	Laboratuvar Özellikleri			Aile Öyküsü: Otoimmünite - Otoinflamasyon	Lenfoproliferatif Hastalık Gelişimi	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> CD127 <sup>low</sup> /FoxP3 <sup>+</sup> (%)	CTLA-4 (FI)			LRBA (FI)		
							Kompleman Düşüklüğü	Hipogammaglobulinemi	Diğer				Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış	Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış
Deney 3 - 12.06.2019	11	Kontrol	38, K	-	-	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor	-	-	-	8	160,00	140,00	0,95890	7286,00	6532,00	0,89349
	12	Kontrol	38, E	-	-	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor	-	-	-	7	169,00	147,00	1,00685	7701,00	7207,00	0,98582
	13	Kontrol	46, E	-	-	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor	-	-	-	3,9	183,00	151,00	1,03425	8691,00	8193,00	1,12069
	14	Hasta	65, E	3. Derece Kuzen	-	-	-	-	-	-	-	5,8	150,00	130,00	0,89041	6842,00	6150,00	<b>0,84124</b>
	15	Hasta	41, E	-	-	-	-	-	-	-	-	4,8	175,00	146,00	1,00000	6146,00	5023,00	<b>0,68708</b>
	16	Hasta	32, K	2. Derece Kuzen	-	-	-	-	-	-	-	5,6	171,00	153,00	1,04795	7686,00	7530,00	1,03000
	17	Hasta	31, K	-	-	-	-	-	-	-	-	5,9	160,00	130,00	0,89041	6592,00	5753,00	<b>0,78693</b>

**Kısaltmalar:** CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, E: Erkek, FI: floresan intensite, K: Kadın, LRBA: lipopolysaccharide (LPS)-responsive and beige-like anchor protein

**Tablo 4.10.** Dördüncü deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracıli enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Grup	Yaş ve Cinsiyet	Enteropati	Enteropati Son Durum	İBH Seyir - Yaygınlık	Diğer Otoimmünite Tanı / Bulgu	Otoantikolar	Diğer Komorbiditeler	İlaçlar
Deney 4 - 24.05.2019	18	Kontrol	29, K	-	-	-	-	-	-	-
	19	Kontrol	32, E	-	-	-	-	Bilinmiyor	-	-
	20	Hasta	62, K	CH	Remisyonda	Terminal İleum	SpA	ANA 1/100 Granüler, CCP -, RF -	Tip 2 DM, HT	İnsülin, Budezonid
	21	Hasta	58, E	ÜK	Remisyonda	Rektum	SpA, FSGS	ANA 1/160, DsDNA -,	-	İnfiliksimab, Losartan
	22	Hasta	56, K	ÇH	Remisyonda	-	Sjögren Hastalığı	ANA 1/160, ENA, DsDNA -, Anti-TTG IgG/A +, Anti Endomisyum -	-	-
	23	Hasta	58, K	CH	Remisyonda	Terminal İleum	SLE, Otoimmün KC Hastalığı	ANA 1/640 Homojen Granüler, ENA -, Anti- Ds DNA 310 IU/mL ASMA-, LKM-, Poliklonal Gamopati (IgG 3060)	-	Hidroksiklorokin, MPZ
	24	Hasta	24, K	CH	Biyolojik tedavi altında remisyonda	Perianal Hastalık, Fistulizan, Rektal tutulum	SpA	CCP - Rf -	-	Vedolizumab, Sulfosalazin, MPZ
	25	Hasta	51, K	ÜK	Remisyonda	Rektal	SpA	CCP - RF -	HBV	Sulfosalazin

**Kısaltmalar:** ANA: Anti-nükleer antikor, ASMA: Anti-smooth muscle (Düz Kas) Antikorları, Anti-CCP: Siklik sitrüline peptid antikorları, Anti-DsDNA: Double stranded DNA antikor, Anti-EMA: Anti-Endomisyum Antikoru, Anti-TTG: Anti Doku Transglutaminaz Antikoru, CH: Crohn Hastalığı, ÇH: Çölyak Hastalığı, E: Erkek, ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijenler, FSGS: Fokal Segmental Glomerüloskleroz, K: Kadın, KC: Karaciğer LKM: LKM: Liver-Kidney Mikrozomal Antikor, MPZ: Metil Prednizolon, RF: Romatoid Faktör, SLE: Sistemik Lupus Ertiematozus, SpA: Spondiloartropati, Ülseratif Kolit

**Tablo 4.11.** Dördüncü deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Bireyin Ait Olduğu Grup	Yaş ve Cinsiyet	Akraba Evliliği	Aile Öyküsü - PİYH	Klinik PİYH Bulguları	Laboratuvar Özellikleri			Aile Öyküsü: Otoimmünite - Otoinflamasyon	Lenfoproliferatif Hastalık Gelişimi	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> CD127 <sup>low</sup> /FoxP3 <sup>+</sup> (%)	CTLA-4 (FI)			LRBA (FI)		
							Kompleman Düşüklüğü	Hipogammaglobulinemi	Diğer				Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış	Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış
Deney 4- 24.05.2019	18	Kontrol	29, K	3. Derece Kuzen	-	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor	-	-	-	3,5	940,00	257,00	1,06639	10638,00	6860,00	1,07498
	19	Kontrol	32, E	-	-	-	-	-	-	-	-	2,9	669,00	225,00	0,93361	9009,00	5903,00	0,92502
	20	Hasta	62, K	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5	642,00	183,00	<b>0,75934</b>	8942,00	6031,00	0,94508
	21	Hasta	58, E	-	-	-	-	Bilinmiyor	-	-	-	5,4	1233,00	426,00	1,76763	1225,00	8636,00	1,35329
	22	Hasta	56, K	-	-	-	-	-	-	-	-	3,1	225,00	140,00	<b>0,58091</b>	8388,00	6817,00	1,06824
	23	Hasta	58, K	3. Derece Kuzen	-	-	-	-	-	-	-	3,3	177,00	130,00	<b>0,53942</b>	6304,00	6278,00	0,98378
	24	Hasta	24, K	-	-	-	-	-	-	-	-	2,6	956,00	274,00	1,13693	10858,00	6127,00	0,96012
	25	Hasta	51, K	-	-	-	Bilinmiyor	-	-	-	-	3,2	486,00	193,00	0,80083	7776,00	4752,00	<b>0,74465</b>

**Kısaltmalar:** CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, E: Erkek, FI: floresan intensite, K: Kadın, LRBA: lipopolysaccharide (LPS)-responsive and beige-like anchor protein

**Tablo 4.12.** Beşinci deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracılı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Grup	Yaş ve Cinsiyet	Enteropati	Enteropati Son Durum	İBH Seyir - Yaygınlık	Diğer Otoimmünite Tanı / Bulgu	Otoantikolar	Diğer Komorbiditeler	İlaçlar
Deney 5 - 05.07.2019	26	Kontrol	33, K	-	-	-	-	-	-	-
	27	Hasta	53, K	ÇH	Remisyonda	-	NR-AxSpA, Pernisöz Anemi	ANA 1/160 Dfs70, ENA-, Anti DsDNA -, CCP -, RF - APA 1/320	-	-
	28	Hasta	56, E	İndetermine Kolit	İlaçsız Remisyonda	Sigmoid, Reitum	-	ANA -, ENA-, DsDNA -	-	-

**Kısaltmalar:** ANA: Anti-nükleer antikor, Anti-CCP: Siklik sitriline peptid antikorları, Anti-DsDNA: Double stranded DNA antikor, APA: Anti-Paryetal Antikor, ÇH: Çölyak Hastalığı, E: Erkek, ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijenler, K: Kadın, Nr-AxSpA: Non-radyografik aksiyel spondiloartropati, RF: Romatoid Faktör

**Tablo 4.13.** Beşinci deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Bireyin Ait Olduğu Grup	Yaş ve Cinsiyet	Akrafa Evliliği	Aile Öyküsü - PİYH	Klinik PİYH Bulguları	Laboratuvar Özellikleri			Aile Öyküsü: Otoimmünite - Otoinflamasyon	Lenfoproliferatif Hastalık Gelişimi	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> CD127 <sup>low</sup> /FoxP3 <sup>+</sup> (%)	CTLA-4 (FI)			LRBA (FI)		
							Kompleman Düşüklüğü	Hipogammaglobulinemi	Diğer				Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış	Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış
Deney 5- 05.07.2019	26	Kontrol	33, K	-	-	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor	-	-	-	7,2	731,00	170,00	1,00000	9531,00	7296,00	1,00000
	27	Hasta	52, K	-	-	-	-	-	-	-	-	2,7	179,00	159,00	0,93529	9343,00	8501,00	1,16516
	28	Hasta	56, K	-	-	-	-	-	-	-	-	2,1	510,00	165,00	0,97059	12138,00	9194,00	1,26014

**Kısaltmalar:** CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, E: Erkek, FI: floresan intensite, K: Kadın, LRBA: lipopolysaccharide (LPS)-responsive and beige-like anchor protein



**Tablo 4.14.** Altıncı deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracı enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Grup	Yaş ve Cinsiyet	Enteropati	Enteropati Son Durum	İBH Seyir - Yaygınlık	Diğer Otoimmünite Tanı / Bulgu	Otoantikörler	Diğer Komorbiditeler	İlaçlar
Deney 6- 26.07.2019	29	Kontrol	28, K	-	-	-	-	-	-	-
	30	Kontrol	25, K	-	-	-	-	-	-	-
	31	Hasta	55, K	CH	Tedavi ile remisyonda	Terminal ileum	SLE	ANA 1/640, Anti Ds-DNA:265,7 ENA-, RF -, CCP -, Serum poliklonal IgG (2760)	KAH	Klopidogrel, Hidroksiklorokin, MPZ, Azatiyoprin
	32	Hasta	29, E	CH	Tedavi ile remisyonda	Pankolonik	Panüveit	ANA-, DsDNA -, ENA -	-	Azatiyoprin, MPZ, 5-ASA
	33	Hasta	35, K	CH	Tedavi ile remisyonda	Terminal ileum	FMF, SpA	Bilinmiyor	-	Anakinra, Sulfasalazin, Azatiyoprin
	34	Hasta	37, E	ÜK	Biyolojik tedavi altında remisyonda	Pankolonik	-	ANA-, Anti DsDNA -, ENA -, CCP -, RF-	-	Vedolizumab
	35	Hasta	46, K	ÇH	Remisyonda	-	-	ANA-, Anti DsDNA -, ENA -, CCP -, RF-	-	-
	36	Hasta	19, K	CH	Tedavi ile remisyonda	Terminal ileum	Behçet Hastalığı	ANA 1/160, ENA-, ASMA -, LKM -, Anti TTG IgA/IgG -, Anti-EMA-	-	Sulfasalazin
	37	Hasta	32, E	CH	Tedavi ile remisyonda	Terminal ileum	-	ANA-, Anti DsDNA -, ENA -, CCP -, RF-, Anti TTG IgA/IgG -, Anti-EMA,	-	Azatiyoprin, budezonid
	38	Hasta	45, K	ÇH	Remisyonda	-	-	ANA-, Anti DsDNA -, ENA -, CCP -, RF-, Anti TTG IgA-IgG +, Anti-EMA-,	-	-
39	Hasta	55, K	ÇH	Remisyonda	-	FMF	ANA 1/100, ENA-, RF- CCP-, Anti TTG IgA+IgG -, Anti-EMA-,	-	-	

**Kısaltmalar:** 5-ASA: 5- Amino Salisilik Asit Türevi, AML: Akut Myeloid Lösemi, ANA: Anti-nükleer antikor, ASMA: Anti-smooth muscle (Düz Kas) Antikorları, Anti-CCP: Siklik sitriline peptid antikorları, Anti-DsDNA: Double stranded DNA antikor, Anti-EMA: Anti-Endomisyum Antikoru, Anti-TTG: Anti Doku Transglutaminaz Antikoru, CH: Crohn Hastalığı, ÇH: Çölyak Hastalığı, E: Erkek, ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijenler, FMF: Ailevi Akdeniz Ateşi, K: Kadın, LKM: Liver-Kidney Mikrozomal Antikor, MPZ: Metil Prednizolon, RF: Romatoid Faktör, SLE: Sistemik Lupus Ertiematozus, SpA: Spondiloartropati, Ülseratif Kolit

**Tablo 4.15.** Altıncı deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Bireyin Alt Olduğu Grup	Yaş ve Cinsiyet	Akraba Evliliği	Aile Öyküsü - PİYH	Klinik PİYH Bulguları	Laboratuvar Özellikleri			Aile Öyküsü: Otoimmünite - Otoinflamasyon	Lenfoproliferatif Hastalık Gelişimi	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> CD127 <sup>low</sup> /FoxP3* (%)	CTLA-4 (FI)			LRBA (FI)		
							Kompleman Düşüklüğü	Hipogammaglobulinemi	Diğer				Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış	Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış
Deney 6- 26.07.2019	29	Kontrol	28,K	-	-	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor	-	-	-	9,4	487,00	231,00	1,08706	14096,00	12510,00	1,01328
	30	Kontrol	25, K	-	-	-	Bilinmiyor	Bilinmiyor	-	-	-	8,2	316,00	194,00	0,91294	14427,00	12182,00	0,98672
	31	Hasta	55, K	-	-	-	-	-	-	-	-	14,9	674,00	269,00	1,26588	15742,00	13367,00	1,08270
	32	Hasta	29,E	-	-	-	-	IgA, M, E Normal IgG: 724 (751-1560)	-	-	-	15	257,00	233,00	1,09647	13157,00	12850,00	1,04082
	33	Hasta	35, K	-	-	-	-	-	-	FMF	-	5,3	495,00	208,00	0,97882	11488,00	10036,00	<b>0,81289</b>
	34	Hasta	37, E	-	-	-	-	-	-	-	-	4,2	409,00	227,00	1,06824	15400,00	13714,00	1,11081
	35	Hasta	46,K	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	333,00	200,00	0,94118	13342,00	11819,00	0,95731
	36	Hasta	19, K	-	-	-	-	-	-	-	-	7,1	292,00	185,00	0,87059	12310,00	9756,00	<b>0,79022</b>
	37	Hasta	32, E	-	-	-	-	-	-	-	-	6,2	297,00	198,00	0,93176	13803,00	12523,00	1,01434
	38	Hasta	45, K	-	-	-	-	IgG, M, E normal, IgA<6,67	-	-	-	5,4	698,00	268,00	1,26118	13988,00	12497,00	1,01223
	39	Hasta	55, K	-	-	-	-	-	-	-	-	5,5	2413,00	230,00	1,08235	13855,00	10686,00	<b>0,86554</b>

**Kısaltmalar:** CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, E: Erkek, FI: floresan intensite, K: Kadın, LRBA: lipopolysaccharide (LPS)-responsive and beige-like anchor protein

**Tablo 4.16.** Yedinci deneydeki bireylerin demografik özellikleri ile immün aracıli enteropati ve otoimmün bulgularına ilişkin özellikleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Grup	Yaş ve Cinsiyet	Enteropati	Enteropati Son Durum	İBH Seyir - Yaygınlık	Diğer Otoimmünite Tanı / Bulgu	Otoantikolar	Diğer Komorbiditeler	İlaçlar
Deney 7 - 16.09.2019	40	Kontrol	25, K	-	-	-	-	-	-	-
	41	Hasta	20, K	ÇH	-	-	Nr-AxSpA	ANA 1/100, AntiDsDNA -, ENA-, ASMA -, LKM -, Anti TTG IgA/IgG -, Anti-EMA-,	Büyüme ve gelişme geriliği	-
	42	Hasta	29, K	CH	Biyolojik tedavi altında remisyonunda	T. İleum	Takayasu Arteriti, Nr-AxSpA	ANA 1/100, AntiDsDNA -, ENA-, ASMA -, LKM -,	-	Sertoliumzab Pegol
	43	Hasta	39, E	CH	Remisyonunda	Pankolonik, Fistulizan	-	ANA 1/100, AntiDsDNA -, ENA-, ASMA -, LKM -, Anti TTG IgA/IgG -, Anti-EMA-,	AML	Sulfasalazin
	44	Hasta	19, K	ÜK	Remisyonunda	Rektum	-	ANA -, DsDNA -, ENA-, ASMA -, LKM -, Anti TTG IgA/IgG -, Anti-EMA-,	-	Azatiyoprin, 5-ASA
	45	Hasta	21, E	ÜK	Remisyonunda	Pankolit	Nr-AxSpA, Periferik Artrit	ANA 1/160, DsDNA -, ENA-, ASMA -, LKM -, Anti TTG IgA/IgG -, Anti-EMA-,	-	Sulfasalazin, Prednizolon, 5-ASA
	46	Hasta	43, K	ÜK	Remisyonunda	Rektum	Vitiligo	ANA 1/100, DsDNA -, ENA-	-	5-ASA
	47	Hasta	21, K	CH	Remisyonunda (Çocukluk başlangıçlı Hastalık)	Özefagus, T. İleum	-	ANA 1/160, DsDNA -, ENA- RF-, CCP -	-	Azatiyoprin
	48	Hasta	39, K	ÇH	-	-	-	ANA -, DsDNA -, ENA- RF-, CCP -	-	-

**Kısaltmalar:** 5-ASA: 5- Amino Salisilik Asit Türevi, AML: Akut Myeloid Lösemi, ANA: Anti-nükleer antikor, ASMA: Anti-smooth muscle (Düz Kas) Antikorları, Anti-CCP: Siklik sitriline peptid antikorları, Anti-DsDNA: Double stranded DNA antikor, Anti-EMA: Anti-Endomisyum Antikoru, Anti-TTG: Anti Doku Transglutaminaz Antikoru, CH: Crohn Hastalığı, ÇH: Çölyak Hastalığı, E: Erkek, ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijenler, K: Kadın, LKM: LKM: Liver-Kidney Mikrozomal Antikor, Nr-AxSpA: Non-radyografik aksiyel spondiloartropati, RF: Romatoid Faktör, ÜK: Ülseratif Kolit

**Tablo 4.17.** Yedinci deneydeki bireylerin klinik immünoloji değerlendirmesindeki temel parametreler ve akım sitometrik incelemeye ait ölçümleri

Deney No ve Tarih	Birey No	Bireyin Ait Olduğu Grup	Yaş ve Cinsiyet	Akraba Evliliği	Aile Öyküsü - PİYH	Klinik PİYH Bulguları	Laboratuvar Özellikleri			Aile Öyküsü: Otoimmünite - Otoinflamasyon	Lenfoproliferatif Hastalık Gelişimi	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> CD127 <sup>low</sup> /FoxP3 <sup>+</sup> (%)	CTLA-4 (FI)			LRBA (FI)		
							Kompleman Düşüklüğü	Hipogammaglobulinemi	Diğer				Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış	Ortalama	Ortanca	Ortanca FI üzerinden; Deney Kontrolüne göre Düzeltilme Oranı Uygulanmış
Deney 7 - 16.09.2019	40	Kontrol	25, K	-	-	-	-	-	-	-	5,8	655,00	306,00	1,00000	20387,00	15414,00	1,00000	
	41	Hasta	20, K	-	-	-	-	IgG/M/E normal, IgA 74,6 (139-378)	-	-	-	5,1	1093,00	315,00	1,02941	19496,00	16426,00	1,06565
	42	Hasta	29, K	-	-	-	-	-	-	-	-	4,1	778,00	334,00	1,09150	23845,00	17230,00	1,11781
	43	Hasta	39, E	3. Derece Kuzen	-	-	-	-	-	AML	-	5,3	862,00	393,00	1,28431	23934,00	18865,00	1,22389
	44	Hasta	19, K	-	-	-	-	-	-	-	-	3,3	1018,00	293,00	0,95752	18719,00	15474,00	1,00389
	45	Hasta	21, E	-	-	-	-	-	-	-	-	6,1	826,00	293,00	0,95752	22004,00	17958,00	1,16504
	46	Hasta	43, K	-	-	-	-	-	-	-	-	3,4	578,00	278,00	0,90850	17372,00	13849,00	0,89847
	47	Hasta	21, K	-	-	-	-	-	-	-	-	5,3	174,00	142,00	<b>0,46405</b>	15337,00	13598,00	<b>0,88219</b>
	48	Hasta	39, K	-	-	-	-	-	IgG/M/E normal, IgA 78,3,6 (139-378)	-	-	-	5,2	720,00	447,00	1,46078	20030,00	17422,00

**Kısaltmalar:** CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4, E: Erkek, FI: floresan intensite, K: Kadın, LRBA: lipopolysaccharide (LPS)-responsive and beige-like anchor protein

## 5. TARTIŞMA

İBH ve ÇH erişkin yaş grubundaki bireylerde sık görülen non-infeksiyöz immün aracılı inflamatuvar enteropatilerdir. Her iki hastalığın da gelişimi için bazı tetikleyiciler, risk faktörleri ve birtakım prognostik özellikler tanımlanmış olsa da patogenetik süreç tam olarak aydınlatılmış değildir.

Her iki klinik tablonun da sıklıkla poligenik olarak kalıtıldığı ve multifaktöriyel olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Buna rağmen bu tanılarla izlenen bireylerin oluşturduğu klinik olarak heterojen hastalık kümesi içerisinde immün yetmezlik ve/veya immün disregülasyon bozukluklarının sebep olduğu sıklığı değişken alt grupların var olabileceği bilinmektedir. Özellikle İBH tanısı ile takip edilen çocukluk yaş grubundaki ve erken başlangıçlı İBH olan bireylerde değişen oranlarda monogenik hastalıkların etiolojide yer alabileceği bildirilmektedir (95). Bu klinik alt grupların tespiti prognozun görülmesi, eşlik edebilecek bulgulara karşı hazırlıklı olunması, aile taranması gibi hastalık takibi yanında spesifik bazı tedavi seçeneklerinin kullanılabilmesi açısından önem arz etmektedir.

Bahsi geçen immünolojik bozukluklar için uyarıcı olabilecek aile öyküsü, sık tekrarlayan enfeksiyonlar ile eşlik edebilecek lenfoproliferatif hastalıklar, allerjik yakınmalar, otoinflamatuvar bulgular yada çoklu otoimmün hastalıklar gibi özellikleri nedeniyle sıklıkla pediatri kliniklerinde tanı almaktadır (82). Öte yandan hastaların geç başlangıçlı yada hafif seyirli (müphem) klinik özellikleri ve erişkin doktorları arasındaki artan farkındalık nedeniyle ileri yaşlarda da tanı alan olgular bulunmaktadır. Benzer şekilde, yeni nesil dizileme yöntemleri gibi gelişen tıbbi teknolojik imkanlar; bu hastalıkların tanısının konulması ve doğrulanmasında önemi giderek artan genetik değerlendirme açısından büyük kolaylıklar sağlamaktadır. Yine de bu testlerin sonuçlanması için gerekli uzun süre, yüksek fiyatlar ve yaygın kullanımında olmaması gibi problemler erişilebilirliğini etkilemektedir. Bu durum klinik şüphe olan bireyler arasından genetik değerlendirme yapılması gerekli olanların seçilmesi için erişilebilir, daha ucuz ve hızlı sonuç verebilen tarama yöntemlerine olan ihtiyacı ortaya

koymaktadır (90). Akım sitometrik analiz ile hücre yüzeyindeki yada hücre içindeki protein ifadelerinin incelenmesi buna örnek olarak verilebilir. Kanegane ve ark. ile Gamez-Diaz ve ark. (90, 91) çalışmalarında LRBA başta olmak üzere bir çok primer immün yetmezlik hastalığına ait protein yapıdaki biyolojik belirtecin varlığı ve miktarının değerlendirilmesi tanısal değerlendirilmesinde fikir verebileceğini göstermişlerdir.

Bu araştırmada Hacettepe Üniversitesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda İBH veya ÇH tanıları ile takip edilen ve primer immün yetmezlik hastalıkları açısından değerlendirilmesi gerekli olabilecek 35 hasta ile 13 sağlıklı kontrol kıyaslanarak LRBA eksiliği açısından değerlendirilmeye alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerin LRBA ve CTLA4 proteinlerinin ifadeleri açısından akım sitometrik inceleme ile taranması, şüpheli bulunan bireylerin ileri inceleme için yönlendirilmesi amaçlanmıştır.

Hasta bireylerin sağlıklı kontrollere kıyasla daha düşük ortalama Treg yüzdesine sahip olduğu gözlenmiş olup bu farklılık istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmamaktadır (%5,1'e karşın %5,8,  $p=0,19$ ). İki hastalık grubu ayrı ayrı değerlendirildiğinde; İBH tanısı ile izlenen bireylerin daha düşük ortalama Treg yüzdesine sahip olduğu ve her iki grubun kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmayacak şekilde düşük olduğu saptanmıştır (İBH: %4,5, ÇH: %5,2; sırasıyla  $p=0,30$  ve  $p=0,16$ ).

Treg yüzdeleri ve fonksiyonlarının, özellikle inflamatuvar enteropatisi olan bireylerde IPEX sendromu (Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked) başta olmak üzere bazı primer immün yetmezlik hastalıklarının tanısının konulmasında yol gösterici olabilmektedir (96). Literatürde sayıları yaş gibi bir çok değişkenden etkilenebilen Treg yüzdeleri ve absolüt sayıları için kesin olarak tanımlanmış normal aralıklar bulunmamaktadır. Değişik çalışmalarda, hasta bireyleri normal bireylerle kıyaslarken kullanılan bazı normal aralıklar belirtilmektedir. Fakat yapılan çalışmalarda kullanılan Treg hücrelerinin kapılanması için kullanılan hücresel

belirteçlerin farklılıkları ve farklı TReg alt gruplarının değerlendirilmiş olması bu konudaki standardizasyonu güçleştirmektedir.  $CD4^+CD25^{high}FoxP_3^+$  Treg için yüzde değerlerin yaklaşık olarak ortalama %6 civarında olduğu tanımlanmıştır (97). Bizim çalışmamızda bulununan sağlıklı kontrollere ait sonuçlar bu bilgi ile uyumludur. Bu araştırmada bulunan İBH ve ÇH tanısı mevcut hastalardaki, sağlıklı kontrollere kıyasla azalmış olan periferik kan Treg yüzdelerinin mevcut inflamatuvar hastalığın gelişimiyle uyumlu bir bulgu olabileceğini ilk başta akla getirmektedir. Öte yandan çalışmamızda değerlendirilen hastaların büyük bir kısmı kısmi yada tam remisyonda hastalığa sahip olduğu ve anti-inflamatuvar tedaviler kullandıkları bilinmektedir. Kullanılan tedavilerin yada hastalık aktivitesinin bu sonuçları etkileyebileceği göz önünde bulundurularak sonuçlar yorumlanmalıdır (98). Ayrıca birçok inflamatuvar hastalıkta Treg'lerin inflamasyon bölgesine ve dokuya göç ederek sayısını artırdığı bilindiğinden daha kesin bir çıkarım yapabilmek için mümkünse inflamasyonun olduğu organ ve doku bölgesinden alınacak örneklerden gelecek sonuçlarla bütünleştirerek değerlendirmek sağlıklı olacaktır (99).

CTLA-4, CD80/86 ile etkileşerek negatif kostimülasyona sebep olarak immün aktivitenin kontrolünde önemlidir (85). LRBA proteini hücre içi endositozolik yerleşime sahip olup negatif bir ko-stimülatör olan CTLA4 proteininin hücre yüzeyi ve endositozu arasındaki döngüyü sağlamaktadır (85). Bu nedenle LRBA'nın eksikliği yada fonksiyonel bozukluğu CTLA-4'ün hücre yüzeyine taşınmasını ve dolayısıyla hücre yüzeyindeki ifadesini etkileyeceğinden; negatif kostimülasyon eksikliğine bağlı olarak otoimmüitenin de tetikleneceği düşünülmektedir (9). Bu çalışmada ifadeleri değerlendirilen moleküller olan CTLA-4 ve LRBA proteinlerinden hareketle her iki hasta grubu içinde yer alabilecek potansiyel LRBA eksikliği ile karakterize immün yetmezlik hastalığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada tüm bireylerin uyarım sonrası TReg hücre popülasyonu kapılanmış yüzey CTLA-4 ve hücre için LRBA protein ifadelerine ait floresan intensiteleri akım sitometri yöntemiyle değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeye göre tüm hastalar ve hastalık grupları için ayrı ayrı değerlendirildiğinde hasta bireyler ile sağlıklı kontroller

arasında ortanca FI açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Ayrıca CTLA4 için yapılan değerlendirmede İBH olan hastalarda; sağlıklı kontrollere ve ÇH olan hastalara kıyasla ortanca FI açısından daha düşük değerlere sahip oldukları izlenmiştir. Bu durum CTLA-4'ün İBH gelişiminde riskli gen bölgelerinden biri ve hastalık patogenezinde yer alan negatif ko-sitümülasyon yolaklarından biri olması ile açıklanabilir. Benzer şekilde hem ortanca FI hem de düzeltme oranları üzerinden yapılan korelasyon analizinde (bkz. Şekil 4.3) LRBA ve CTLA-4 proteinin ifadeleri arasında istatistiksel olarak da anlamlı olan bir korelasyon bulunmaktadır. Bu değerler LRBA ve CTLA-4 arasındaki fonksiyonel ilişki ile uyumlu bir bulgudur.

Literatürde ülkemizden ve dünyadan akım sitometriye dayalı protein ekspresyonunun değerlendirilmesi temelli araştırmalarda sağlıklı kontrollerle kıyaslanarak hastalık yüksek doğrulukla öngörülebilmektedir (94). Şüpheli hastalarda genetik ve fonksiyonel çalışmalarla tanı doğrulanmaktadır. Öte yandan bu testlerin yorumlanmasında; temel ve yaygın kullanılan biyokimyasal laboratuvar testlerinde olduğu gibi evreni yansıtan tanımlanmış normal aralıklar bulunmamaktadır. Bunun sebepleri arasında çok yakın bir zaman diliminde kullanıma girmiş olmaları, yaygın kullanılmaması ve büyük oranda nadir hasta gruplarında kullanılıyor olmasıdır. Ayrıca akım sitometrik tekniğinde ölçüme, cihaza ve kullanılan antikor gibi sarf malzemelerine bağlı FI farklılıkları olabileceği bilinmektedir. Bu durumun ortadan kaldırılması ve değerlendirmenin daha standardize yapılabilmesi için çalışmalarda kullanılan bazı indeksler kullanılmaktadır. Ogulur ve ark. çalışmasında kullanılan Delta-MFI bunlara örnek olarak verilebilir (94). Her merkez kendi imkanları, beklentileri ve çalışma koşullarına göre seçeceği benzeri yöntemleri tercih edebilir. Bizim çalışmamızda da her deney seti içerisinde değerlendirilmiş olan her hastanın bu proteinler için tespit edilen ortanca FI değerleri; aynı deney setindeki sağlıklı kontrollere ait aynı değere (veya birden fazla kontrol varsa onların ortalamasına) bölünerek belirlenen bir düzeltme oranı oluşturulmuştur. Bu orana göre tüm deney setleri birlikte değerlendirilerek yapılan incelemede (bkz. Şekil 4.1 ve Şekil 4.2.) sağlıklı kontrollerin dağılımında oluşan alt sınırı altında kalan hastaların (12 Hasta LRBA için, 4 Hasta CTLA-4 için) ileri inceleme için aday olduğu düşünülmüştür. Nitekim



bu hastalar içinden yapılan yeni nesil dizileme analizinde 4 bireyin (25, 33, 36 ve 39. bireyler) birinde (25 nolu birey) LRBA proteinin de heterozigot mutasyon saptanmıştır. Bu bireyde CTLA-4 ifadesinde sağlıklı bireylere kıyasla düzeltme oranıyla anlamlı bir düşüklük saptanmamıştır. Bu durumun diğer sağlıklı alelin LRBA proteini üretilmesinde etkili olması ve CTLA-4 transferini gerçekleştirecek düzeyde fonksiyon görmesinden kaynaklandığını düşündürmektedir.

Bu çalışmada eksikliği araştırılan LRBA proteinine bağlı immün yetmezlik hastalığı otozomal resesif olarak kalıtılmakta olup homozigot mutasyona sahip bireylerde hastalığın gelişmesi beklenmektedir (87). Öte yandan benzeri hastalıklarda OR olarak kalıtılan hastalarda bütün klinik tabloyu tam olarak yansıtmaya da hastalığın bazı bulgularına sebep olabileceği düşünülmektedir.

Hastalık için belirlenmiş bir sıklık olmayıp literatür bilgisi yeni yeni oluşmaktadır. Ülkemizde geçmişte ve hala akraba evlilikleri önemli bir sorun olarak yer tuttuğundan erişkin popülasyon da dahil olmak üzere bu PİYH ın İBH başta olmak üzere immün aracılı enteropatisi olan bireyler arasında da bulunabileceği öngörülmektedir. Bu nedenle İBH ve ÇH tanısı ile izlenmekte olan hastalarda bu tarz bulgularla prezente olabilen LRBA eksikliği gibi immün yetmezlikler açısından akılda tutulmalıdır. Aile öyküsü ve PİYH yönelik diğer uyarıcı bulgulara dikkat edilmelidir. Hastalarda mutasyonla ve onun meydana getirdiği fonksiyonel değişikliklere göre farklı klinik bulgular meydana gelebileceği gibi tüm olgularda bütün bulgular bir arada bulunmayabilir. Ayrıca literatürde; sık enfeksiyon öyküsü gibi majör PİYH bulguları olmaksızın sadece İBH ile prezente olan olguların tanımlandığı da göz önünde bulundurulmalıdır (88).

Yine de protein ifadesinde tam eksikliğe sebep olmayan, antikorun bağlanmasına olanak verdiği için kantitatif olarak ölçülen fakat fonksiyonu etkilenmiş güdük proteinlere sebep olan mutasyonların olabileceği unutulmamalıdır. LRBA proteinin fonksiyonun yorumlanmasında CTLA-4 ifadesi bir belirteç olabilir (85). Buna rağmen akım sitometrik incelemenin bu kısıtlılığı akılda tutulmalı ve klinik olarak

şüphesi yüksek olan hastalarda genetik inceleme ve ileri değerlendirme yapılmak üzere yönlendirilmesi düşünölmelidir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. En büyük sekonder lenfoid organ olarak kabul edilen intestinal sistemin enteropati durumunda sağlıklı kontroller ve hasta grubu karşılaştırıldığında Treg yüzdesi hasta grubunda daha düşük olarak saptanmıştır (%5,8'e karşın %5,2; p= 0,19). Bu durum immün rregülasyon eksikliğine sebep olabilecek faktörlerden birisi olarak düşünülebilir.
2. Bu çalışma ile sağlıklı bireylerde CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup>/-FoxP3<sup>+</sup> Treg yüzdesi ile CTLA-4 ve LRBA protein ifadeleri araştırılıp, mevcut çalışma içinde optimize edilerek oluşturulan düzeltme oranıyla ortanca ve alt-üst sınırlar belirlenmiştir. Tespit edilen bu aralıkların daha geniş kohortlarda çalışılarak valide edilmesi ve geliştirilmesi önerilmektedir.
3. CTLA-4 ve LRBA ortanca FI'ye göre değerlendirilen ifadelerinin sayısal değerleri sağlıklı kontroller ve hasta grupları arasında istatistiksel önem arz etmeyen farklılıklar göstermektedir. Olgu düzeyinde düzeltilmiş oranlara göre incelendiğinde ise İBH olan hastaların 8'inde (%33,3) ve ÇH olan hastaların 4'ünde (%36,4); sağlıklı bireylerin dağılımının altında LRBA ifadesi saptanmıştır. Bu bulgu özellikle İBH immünolojisi ile ilgili bulgulara ışık tutabileceği gibi tanı, tedavi (abatacept'in alternatif bir biyolojik ilaç olarak kullanılabilmesi gibi) ve izlem açısından önemli olabilir.
4. Elde edilen veriler ışığında; LRBA ve CTLA-4 moleküllerinin hücre ifadelerinin ortanca FI ve düzeltilmiş oranlara göre dağılımlarının istatistiksel olarak anlamlı lineer korelasyon gösterdiği belirlenmiş olup iki molekülün fonksiyonel ilişkisi ile açıklanabilir. Ayrıca, hasta bireylerin izleminde uygulanan tedavilerin etkinliği açısından bir parametre olup olmadığını incelemek faydalı olabilir.
5. LRBA ifadesinin kontrollere göre düşük saptandığı 4 hastada immün yetmezlik paneli, yeni nesil dizileme analizi, yapılabilmiş olup 1 hastada (%25) LRBA geninde heterozigot kalıtılan yeni bir patojenik varyant saptanmış olup Sanger dizileme analizi ile doğrulanması ve ileri incelenmesi yapılması planlanmıştır. Ayrıca diğer 8 olgunun da genetik ve immünolojik açıdan incelenmesi

planlanmaktadır. Özellikle IBH ile izlenen bireyleri içeren daha geniş hasta serilerinde yapılacak LRBA ve CTLA-4 protein ifadesi çalışmaları tanı ve etiyoloji açısından önemli bilgiler verebileceği gibi tedavi planlanmasına da katkıda bulunabilir.

6. İBH ve ÇH farklı klinik bulgularla kliniğe yansıyabilen, kendi içlerinde heterojen gruplardan oluşan ve göreceli olarak erişkin yaş grubunda nadir görülmeyen hastalıklardır. Hastaların doğru teşhisi, uygun ve erken tedavileri yaşam kalitesini artırmakta ve hastalık ilişkili komplikasyonları önleyebilmektedir.
7. PİYH sadece çocukluk çağının hastalıkları olmayıp erişkin yaşta da görülebilen klinik durumlardır. Tanımlanabilmeleri için farkındalık önemli olup, klinikte her zaman öne çıkan tek bulgu enfeksiyona yatkınlık olmamaktadır. Aile öyküsü, erken yaşta başlangıç, çoklu-otoimmünite, benign ve malign lenfoproliferatif durumlar immün yetmezlik açısından uyarıcı olmalıdır. Ülkemizde akraba evliliğinin yaygın olduğu göz önünde bulundurulduğunda LRBA eksikliği gibi immün yetmezliklerin sık görülebileceği akılda tutulmalıdır.
8. Akım sitometrik inceleme uygun bir tarama testi olarak kullanılabilir. Genetik değerlendirme tanıda altın standart olsa da her merkezde bulunmaması, test sonuçlarının değerlendirilmesindeki zorluklar ve maliyeti nedeniyle erişilebilirliği kısıtlıdır. Tanısal genetik değerlendirmeler öncesinde; tedaviye dirençli İBH, İBH ve diğer otoimmün hastalık birlikteliği ya da PİYH açısından şüphelendirici bulguların varlığında LRBA ve CTLA-4 proteinlerinin akım sitometri ile değerlendirilmesi uygun bir tarama testi olarak kullanılabilir.
9. Bu çalışmada değerlendirilen sağlıklı kontrollere ait  $CD4^+CD25^{high}CD127^{low/-}$  FoxP3<sup>+</sup> Treg yüzdeleri literatürdeki yüzdeler ile uyumlu olsa da protein ifadeleri açısından ve düzeltme oranı için yaygın kullanılan aralıklar ve yöntemler bulunmamaktadır. Bu çalışmada sağlıklı kontroller üzerinden tespit edilen düzeltme oranı ve tespit edilen aralık daha geniş kapsamlı çalışmalarda teyit edilmelidir.
10. Bu çalışmada LRBA eksikliğinden şüphelenilen 12 hastanın 4'üne bütçe imkanları dahilinde yeni nesil dizileme analizi yapılmış; 1 hastada LRBA

geninde heterozigot mutasyon saptanmıştır. Otozomal resesif kalıtılan LRBA eksikliğinde; heterozigot taşıyıcılık durumunda da belirgin bir LRBA eksikliği ile karakterize immün yetmelik tablosu ortaya çıkmasa da bazı klinik bulguların ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir. Bulgunun doğrulanması için daha kapsamlı incelemeler yapılması gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Sairenji T, Collins KL, Evans DV. An Update on Inflammatory Bowel Disease. *Prim Care*. 2017;44(4):673-92.
2. Lebwohl B, Sanders DS, Green PHR. Coeliac disease. *Lancet*. 2018;391(10115):70-81.
3. Smart BA, Ochs HD. The molecular basis and treatment of primary immunodeficiency disorders. *Curr Opin Pediatr*. 1997;9(6):570-6.
4. Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, Al-Herz W, Ailal F, Chatila T, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification. *J Clin Immunol*. 2020;40(1):66-81.
5. Allenspach E, Torgerson TR. Autoimmunity and Primary Immunodeficiency Disorders. *J Clin Immunol*. 2016;36 Suppl 1:57-67.
6. Schwimmer D, Glover S. Primary Immunodeficiency and the Gut. *Gastroenterol Clin North Am*. 2019;48(2):199-220.
7. Lundin KE, Wijmenga C. Coeliac disease and autoimmune disease-genetic overlap and screening. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;12(9):507-15.
8. Martinez Jaramillo C, Trujillo-Vargas CM. LRBA in the endomembrane system. *Colomb Med (Cali)*. 2018;49(3):236-43.
9. Lopez-Herrera G, Tampella G, Pan-Hammarstrom Q, Herholz P, Trujillo-Vargas CM, Phadwal K, et al. Deleterious mutations in LRBA are associated with a syndrome of immune deficiency and autoimmunity. *Am J Hum Genet*. 2012;90(6):986-1001.
10. Vatn MH, Sandvik AK. Inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2015;50(6):748-62.
11. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, et al. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut*. 1996;39(5):690-7.
12. Bernstein CN, Blanchard JF, Rawsthorne P, Wajda A. Epidemiology of Crohn's disease and ulcerative colitis in a central Canadian province: a population-based study. *Am J Epidemiol*. 1999;149(10):916-24.
13. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*. 2012;142(1):46-54 e42; quiz e30.
14. Langholz E. Current trends in inflammatory bowel disease: the natural history. *Therap Adv Gastroenterol*. 2010;3(2):77-86.

15. Orholm M, Munkholm P, Langholz E, Nielsen OH, Sorensen TI, Binder V. Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 1991;324(2):84-8.
16. Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 2009;361(21):2066-78.
17. Vernier-Massouille G, Balde M, Salleron J, Turck D, Dupas JL, Mouterde O, et al. Natural history of pediatric Crohn's disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology.* 2008;135(4):1106-13.
18. Glick SR, Carvalho RS. Inflammatory bowel disease. *Pediatr Rev.* 2011;32(1):14-24; quiz 5.
19. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature.* 2001;411(6837):603-6.
20. Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, et al. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem.* 2003;278(8):5509-12.
21. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature.* 2012;491(7422):119-24.
22. Brand S. Crohn's disease: Th1, Th17 or both? The change of a paradigm: new immunological and genetic insights implicate Th17 cells in the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut.* 2009;58(8):1152-67.
23. Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD, et al. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet.* 2011;43(3):246-52.
24. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2014;20(1):91-9.
25. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 2002;347(6):417-29.
26. Cosnes J. Tobacco and IBD: relevance in the understanding of disease mechanisms and clinical practice. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2004;18(3):481-96.
27. Andersson RE, Olaison G, Tysk C, Ekblom A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. *N Engl J Med.* 2001;344(11):808-14.
28. Evans JM, McMahon AD, Murray FE, McDevitt DG, MacDonald TM. Non-steroidal anti-inflammatory drugs are associated with emergency admission to hospital for colitis due to inflammatory bowel disease. *Gut.* 1997;40(5):619-22.

29. Davenport ER, Sanders JG, Song SJ, Amato KR, Clark AG, Knight R. The human microbiome in evolution. *BMC Biol.* 2017;15(1):127.
30. Sheehan D, Shanahan F. The Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2017;46(1):143-54.
31. Cadwell K, Liu JY, Brown SL, Miyoshi H, Loh J, Lennerz JK, et al. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature.* 2008;456(7219):259-63.
32. Burakoff R. Indeterminate colitis: clinical spectrum of disease. *J Clin Gastroenterol.* 2004;38(5 Suppl 1):S41-3.
33. Picchianti-Diamanti A, Lorenzetti R, Chimenti MS, Luchetti MM, Conigliaro P, Canofari C, et al. Enteropathic spondyloarthritis: Results from a large nationwide database analysis. *Autoimmun Rev.* 2020;19(2):102457.
34. Vavricka SR, Schoepfer A, Scharl M, Lakatos PL, Navarini A, Rogler G. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2015;21(8):1982-92.
35. Present DH, Korelitz BI, Wisch N, Glass JL, Sachar DB, Pasternack BS. Treatment of Crohn's disease with 6-mercaptopurine. A long-term, randomized, double-blind study. *N Engl J Med.* 1980;302(18):981-7.
36. Bouhnik Y, Lemann M, Mary JY, Scemama G, Tai R, Matuchansky C, et al. Long-term follow-up of patients with Crohn's disease treated with azathioprine or 6-mercaptopurine. *Lancet.* 1996;347(8996):215-9.
37. Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui CH, Yee SW, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for thiopurine methyltransferase genotype and thiopurine dosing: 2013 update. *Clin Pharmacol Ther.* 2013;93(4):324-5.
38. Feagan BG, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, et al. A comparison of methotrexate with placebo for the maintenance of remission in Crohn's disease. North American Crohn's Study Group Investigators. *N Engl J Med.* 2000;342(22):1627-32.
39. Lichtiger S, Present DH, Kornbluth A, Gelernt I, Bauer J, Galler G, et al. Cyclosporine in severe ulcerative colitis refractory to steroid therapy. *N Engl J Med.* 1994;330(26):1841-5.
40. Macaluso FS, Maida M, Renna S, Orlando E, Affronti M, Sapienza C, et al. Mycophenolate mofetil is a valid option in patients with inflammatory bowel disease resistant to TNF-alpha inhibitors and conventional immunosuppressants. *Dig Liver Dis.* 2017;49(2):157-62.



41. Lichtenstein GR, Loftus EV, Isaacs KL, Regueiro MD, Gerson LB, Sands BE. ACG Clinical Guideline: Management of Crohn's Disease in Adults. *Am J Gastroenterol*. 2018;113(4):481-517.
42. Selinger CP, Carbery I, Al-Asiry J. The role of biologics in the treatment of patients with inflammatory bowel disease. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2018;79(12):686-93.
43. Rubin DT, Ananthakrishnan AN, Siegel CA, Sauer BG, Long MD. ACG Clinical Guideline: Ulcerative Colitis in Adults. *Am J Gastroenterol*. 2019;114(3):384-413.
44. Juillerat P, Wasan SK, Fowler SA, Friedman S, Pabby VK, Coukas JA, et al. Efficacy and safety of natalizumab in Crohn's disease patients treated at 6 Boston academic hospitals. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(11):2457-63.
45. Feagan BG, Rutgeerts P, Sands BE, Hanauer S, Colombel JF, Sandborn WJ, et al. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med*. 2013;369(8):699-710.
46. Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE, et al. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2013;369(8):711-21.
47. Sands BE, Sandborn WJ, Panaccione R, O'Brien CD, Zhang H, Johans J, et al. Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis. *N Engl J Med*. 2019;381(13):1201-14.
48. Li K, Friedman JR, Chan D, Pollack P, Yang F, Jacobstein D, et al. Effects of Ustekinumab on Histologic Disease Activity in Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2019;157(4):1019-31 e7.
49. Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Janus kinases in immune cell signaling. *Immunol Rev*. 2009;228(1):273-87.
50. Riese RJ, Krishnaswami S, Kremer J. Inhibition of JAK kinases in patients with rheumatoid arthritis: scientific rationale and clinical outcomes. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2010;24(4):513-26.
51. Sandborn WJ, Su C, Sands BE, D'Haens GR, Vermeire S, Schreiber S, et al. Tofacitinib as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis. *N Engl J Med*. 2017;376(18):1723-36.
52. Hedin C, Whelan K, Lindsay JO. Evidence for the use of probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: a review of clinical trials. *Proc Nutr Soc*. 2007;66(3):307-15.
53. Lindfors K, Ciacci C, Kurppa K, Lundin KEA, Makharia GK, Mearin ML, et al. Coeliac disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(1):3.

54. Singh P, Arora A, Strand TA, Leffler DA, Catassi C, Green PH, et al. Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16(6):823-36 e2.
55. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, Fabiani E, Heier M, McMillan S, et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med*. 2010;42(8):587-95.
56. Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, Laurila K, Collin P, Rissanen H, et al. Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;26(9):1217-25.
57. Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F, et al. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology*. 2009;137(1):88-93.
58. Fasano A, Catassi C. Clinical practice. Celiac disease. *N Engl J Med*. 2012;367(25):2419-26.
59. Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*. 2002;297(5590):2275-9.
60. Visser J, Rozing J, Sapone A, Lammers K, Fasano A. Tight junctions, intestinal permeability, and autoimmunity: celiac disease and type 1 diabetes paradigms. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1165:195-205.
61. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med*. 1997;3(7):797-801.
62. Molberg O, McAdam SN, Korner R, Quarsten H, Kristiansen C, Madsen L, et al. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nat Med*. 1998;4(6):713-7.
63. Taylor TB, Schmidt LA, Meyer LJ, Zone JJ. Transglutaminase 3 present in the IgA aggregates in dermatitis herpetiformis skin is enzymatically active and binds soluble fibrinogen. *J Invest Dermatol*. 2015;135(2):623-5.
64. Hadjivassiliou M, Aeschlimann P, Sanders DS, Maki M, Kaukinen K, Grunewald RA, et al. Transglutaminase 6 antibodies in the diagnosis of gluten ataxia. *Neurology*. 2013;80(19):1740-5.
65. Abadie V, Discepolo V, Jabri B. Intraepithelial lymphocytes in celiac disease immunopathology. *Semin Immunopathol*. 2012;34(4):551-66.
66. Abadie V, Jabri B. IL-15: a central regulator of celiac disease immunopathology. *Immunol Rev*. 2014;260(1):221-34.

67. Galipeau HJ, McCarville JL, Huebener S, Litwin O, Meisel M, Jabri B, et al. Intestinal microbiota modulates gluten-induced immunopathology in humanized mice. *Am J Pathol.* 2015;185(11):2969-82.
68. Olivares M, Neef A, Castillejo G, Palma GD, Varea V, Capilla A, et al. The HLA-DQ2 genotype selects for early intestinal microbiota composition in infants at high risk of developing coeliac disease. *Gut.* 2015;64(3):406-17.
69. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, Pulvirenti A, Tonutti E, Amarri S, et al. Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. *N Engl J Med.* 2014;371(14):1295-303.
70. Kemppainen KM, Lynch KF, Liu E, Lonrot M, Simell V, Briese T, et al. Factors That Increase Risk of Celiac Disease Autoimmunity After a Gastrointestinal Infection in Early Life. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2017;15(5):694-702 e5.
71. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut.* 2013;62(1):43-52.
72. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA, American College of G. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(5):656-76; quiz 77.
73. Hopper AD, Hadjivassiliou M, Hurlstone DP, Lobo AJ, McAlindon ME, Egnér W, et al. What is the role of serologic testing in celiac disease? A prospective, biopsy-confirmed study with economic analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008;6(3):314-20.
74. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, et al. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(2):229-41.
75. Volta U, Caio G, Boschetti E, Giancola F, Rhoden KJ, Ruggeri E, et al. Seronegative celiac disease: Shedding light on an obscure clinical entity. *Dig Liver Dis.* 2016;48(9):1018-22.
76. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1999;11(10):1185-94.
77. Caio G, Volta U, Sapone A, Leffler DA, De Giorgio R, Catassi C, et al. Celiac disease: a comprehensive current review. *BMC Med.* 2019;17(1):142.
78. Sattler S. The Role of the Immune System Beyond the Fight Against Infection. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1003:3-14.
79. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *Lancet.* 2001;357(9270):1777-89.

80. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med*. 2000;343(1):37-49.
81. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med*. 2000;343(2):108-17.
82. Devonshire AL, Makhija M. Approach to primary immunodeficiency. *Allergy Asthma Proc*. 2019;40(6):465-9.
83. Picard C, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, et al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2018;38(1):96-128.
84. Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, Ailal F, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, et al. The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol*. 2018;38(1):129-43.
85. Takahashi T, Tagami T, Yamazaki S, Uede T, Shimizu J, Sakaguchi N, et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med*. 2000;192(2):303-10.
86. Charbonnier LM, Janssen E, Chou J, Ohsumi TK, Keles S, Hsu JT, et al. Regulatory T-cell deficiency and immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked-like disorder caused by loss-of-function mutations in LRBA. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(1):217-27.
87. Gamez-Diaz L, August D, Stepensky P, Revel-Vilk S, Seidel MG, Noriko M, et al. The extended phenotype of LPS-responsive beige-like anchor protein (LRBA) deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(1):223-30.
88. Serwas NK, Kansu A, Santos-Valente E, Kuloglu Z, Demir A, Yaman A, et al. Atypical manifestation of LRBA deficiency with predominant IBD-like phenotype. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(1):40-7.
89. Cagdas D, Halacli SO, Tan C, Lo B, Cetinkaya PG, Esenboga S, et al. A Spectrum of Clinical Findings from ALPS to CVID: Several Novel LRBA Defects. *J Clin Immunol*. 2019;39(7):726-38.
90. Kanegane H, Hoshino A, Okano T, Yasumi T, Wada T, Takada H, et al. Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases. *Allergol Int*. 2018;67(1):43-54.
91. Gamez-Diaz L, Sigmund EC, Reiser V, Vach W, Jung S, Grimbacher B. Rapid Flow Cytometry-Based Test for the Diagnosis of Lipopolysaccharide Responsive Beige-Like Anchor (LRBA) Deficiency. *Front Immunol*. 2018;9:720.

92. Kiykim A, Ogulur I, Dursun E, Charbonnier LM, Nain E, Cekic S, et al. Abatacept as a Long-Term Targeted Therapy for LRBA Deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019;7(8):2790-800 e15.
93. McKinnon KM. Flow Cytometry: An Overview. *Curr Protoc Immunol.* 2018;120:5 1 -5 1 11.
94. Ogulur I, Kiykim A, Nain E, Somer A, Guven A, Baris S, et al. Protein Expression in the Diagnosis of LRBA Deficiency by Flow Cytometer. *Asthma Allergy Immunol.* 2017(15):123-8.
95. Kelsen JR, Russo P, Sullivan KE. Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2019;39(1):63-79.
96. Bacchetta R, Barzaghi F, Roncarolo MG. From IPEX syndrome to FOXP3 mutation: a lesson on immune dysregulation. *Ann N Y Acad Sci.* 2018;1417(1):5-22.
97. Niedzwiecki M, Budzilo O, Adamkiewicz-Drozynska E, Pawlik-Gwozdecka D, Zielinski M, Maciejka-Kemblowska L, et al. CD4(+)CD25(high)CD127(low/-)FoxP3 (+) Regulatory T-Cell Population in Acute Leukemias: A Review of the Literature. *J Immunol Res.* 2019;2019:2816498.
98. Guidi L, Felice C, Procoli A, Bonanno G, Martinelli E, Marzo M, et al. FOXP3(+) T regulatory cell modifications in inflammatory bowel disease patients treated with anti-TNFalpha agents. *Biomed Res Int.* 2013;2013:286368.
99. Jiao Z, Wang W, Jia R, Li J, You H, Chen L, et al. Accumulation of FoxP3-expressing CD4+CD25+ T cells with distinct chemokine receptors in synovial fluid of patients with active rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2007;36(6):428-33.

## 8. EKLER

### 8.1 EK-1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzinleri



T.C.  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557—1308

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

**Toplantı Tarihi** : 27 EYLÜL 2017 ÇARŞAMBA  
**Toplantı No** : 2017/21  
**Proje No** : GO 17/761 (Değerlendirme Tarihi: 27.09.2017)  
**Karar No** : GO 17/761-27

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. F. İlhan TEZCAN' ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Taylan KAV, Dr. Çağman TAN ile birlikte çalışacakları ve Arş. Gör. Dr. Ertuğrul Çağrı BÖLEK' in yüksek lisans tezi olan, GO 17/761 kayıt numaralı, *"Erişkinlerde İnflamatuvar Barsak Hastalığı ve Çölyak Hastalığı Tanıları ile İzlenen Hastalarda LRBA (LPS-Responsive Beige-Like Anchor) Eksikliği ile İlişkili Primer İmmün Yetmezlik Varlığının Araştırılması"* başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- |   |  |
|---|--|
| 1. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Başkan)     | 10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye)      |
| 2. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU (Üye)   | 11 Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ (Üye)          |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım SAĞLAM (Üye)   | IZINLI                                     |
| 4. Prof. Dr. Necdet SAGLAM (Üye)        | 12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye)            |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye) | IZINLI                                     |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye)      | 13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye)        |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye)      | 14. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye)           |
| IZINLI                                  | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye) |
| 8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN (Üye)    | 16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye)         |
| IZINLI                                  | 17. Öğr. Gör. Dr. Meltem ŞENGELEN (Üye)    |
| 9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye)  | 18. Av. Meltem ONURLU (Üye)                |



**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 22/3

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

**Toplantı Tarihi** : 11 ARALIK 2018 SALI  
**Toplantı No** : 2018/29  
**Proje No** : GO 17/761 (Onay Tarihi: 27.09.2017)  
**Karar No** : GO 17/761-03

Kurulumuzun 27.09.2017 tarihli toplantısında GO 17/761 kayıt numarası ile onaylanmış olan Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. F. İlhan TEZCAN'ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Taylan KAV, Dr. Çağman TAN ile birlikte çalışacakları ve Arş. Gör. Dr. Ertuğrul Çağrı BÖLEK' in yüksek lisans tezi olan, GO 17/761 kayıt numaralı, "*Erişkinlerde İnflamatuvar Barsak Hastalığı ve Çölyak Hastalığı Tanıları ile İzlenen Hastalarda LRBA (LPS-Responsive Beige-Like Anchor) Eksikliği ile İlişkili Primer İmmün Yetmezlik Varlığının Araştırılması*" başlıklı projeniz için vermiş olduğunuz 22.11.2018 tarihli dilekçeniz Kurulumuzun 11.12.2018 tarihli toplantısında değerlendirilmiş ve **uygun bulunmuştur**. Araştırma ekibine yardımcı araştırmacı olarak Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim elemanlarından Öğr. Gör. Dr. Sevil Oskay HALAÇLI dahil edilmiş ve kayıtlarımıza eklenmiştir. Proje yeni sonlanım tarihi 01 Ocak 2020 olarak belirlenmiştir.

1. Prof. Dr. Nürten AKARSU (Başkan) 10. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye)

2. Prof. Dr. Sevdâ F. MÜFTÜOĞLU (Üye) 11. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye)

3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARILCI (Üye) 12. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye)

4. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM (Üye) 13. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye)

İZİNLİ 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye) İZİNLİ 14. Dr. Öğr. Üyesi Özay GÖKÖZ (Üye)

İZİNLİ 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye) 15. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR (Üye)

7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye) 16. Öğr. Gör. Dr. Meltem ŞENGELEN (Üye)

8. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye) 17. Av. Meltem ONURLU (Üye)

9. Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye)



**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557-238

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

**Toplantı Tarihi** : 05 ŞUBAT 2019 SALI  
**Toplantı No** : 2019/04  
**Proje No** : GO 17/761 (Onay Tarihi: 27.09.2017)  
**Karar No** : 2019/04-02

Kurulumuzun 27.09.2017 tarihli toplantısında GO 17/761 kayıt numarası ile onaylanmış olan Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. F. İlhan TEZCAN'ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Taylan KAV, Dr. Çağman TAN, Öğr. Gör. Dr. Sevil Oskay HALAÇLI ile birlikte çalışacakları ve Arş. Gör. Dr. Ertuğrul Çağrı BÖLEK' in yüksek lisans tezi olan, GO 17/761 kayıt numaralı, "*Erişkinlerde İnflamatuvar Barsak Hastalığı ve Çölyak Hastalığı Tanımları ile İzlenen Hastalarda LRBA (LPS-Responsive Beige-Like Anchor) Eksikliği ile İlişkili Primer İmmün Yetmezlik Varlığını Araştırılması*" başlıklı projeniz için vermiş olduğunuz 21.01.2019 tarihli araştırmacı revizyonu dilekçeniz Kurulumuzun 05.02.2019 tarihli toplantısında değerlendirilmiş ve **uygun bulunmuştur**. Proje yardımcı araştırmacısı Prof. Dr. Taylan KAV'ın proje ekibinden çıkarılması ve Üniversitemiz Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim elemanlarından Uzm. Dr. Cem ŞİMŞEK'in yardımcı araştırmacı olarak proje ekibine dahil edilmesi uygun bulunmuş ve kayıtlarımıza eklenmiştir. Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğinin Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

- |                                  |          |                                   |       |
|----------------------------------|----------|-----------------------------------|-------|
| 1. Prof. Dr. Nurten AKARSU       | (Başkan) | 9 Doç. Dr. Gözde GİRGİN           | (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU  | (Üye)    | 10 Doç. Dr. Fatma Visal OKUR      | (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARAYCI | (Üye)    | İZİNLİ                            |       |
| 4. Prof. Dr. Nedret SAĞLAM       | (Üye)    | 11. Doç. Dr. Can Ebru KURT        | (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN     | (Üye)    | 12. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL   | (Üye) |
| İZİNLİ                           |          | 13. Dr. Öğr. Üyesi Özay GÖKÖZ     | (Üye) |
| 6. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL | (Üye)    | 14. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR     | (Üye) |
| İZİNLİ                           |          | 15. Öğr. Gör. Dr. Meltem ŞENGELEN | (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU  | (Üye)    | 16. Av. Meltem ONURLU             | (Üye) |
| 8. Doç. Dr. M. Özgür UYANIK      | (Üye)    |                                   |       |



## 8.2 EK-2: Tez Çalışması Orijinallik Raporu



## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Ertuğrul Çağrı Bölek  
Ödev başlığı: ERİŞKİNLERDE İNFLAMATUVAR B...  
Gönderi Başlığı: ERİŞKİNLERDE İNFLAMATUVAR B...  
Dosya adı: combinepdf.pdf  
Dosya boyutu: 3.67M  
Sayfa sayısı: 105  
Kelime sayısı: 18,429  
Karakter sayısı: 119,089  
Gönderim Tarihi: 15-Ara-2020 05:05PM (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1475762168

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ERİŞKİNLERDE İNFLAMATUVAR BARKER HASTALIK VE ÇÖZÜM  
HASTALIK TANIILARI İLE İZLENEN HASTALARDA LİPİD  
LİPİD-RESPONSİVE BİRİKİMİ (LIPID ANKOR) EKİNLİĞİ İLE İLGİLİ  
PİRAMİT İNMEZİN YETİMLİĞİ VAM LİPİDİN ARAŞTIRILMASI

Uzm. Dr. Ertuğrul Çağrı BÖLEK

İnternetteki Program  
YÖNERGE LİPİD TİZİ

ANKARA  
2020

**Tezin Tam Başlığı:** Erişkinlerde İnflamatuvar Barsak Hastalığı Ve Çölyak Hastalığı Tanıları İle İzlenen Hastalarda Lrba (Lps-Responsive Beige-Like Anchor) Eksikliği İle İlişkili Primer İmmün Yetmezlik Varlığının Araştırılması

**Öğrencinin Adı Soyadı:** Ertuğrul Çağrı Bölek

**Dosyanın Toplam Sayfa Sayısı:** 105

## ERİŞKİNLERDE İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIĞI VE ÇÖLYAK HASTALIĞI TANILARI İLE İZLENEN HASTALARDA LRBA (LPS-RESPONSIVE BEIGE-LIKE ANCHOR) EKSİKLİĞİ İLE İLİŞKİLİ PRİMER İMMÜN YETMEZLİK VARLIĞININ ARAŞTIRI

### ORIJINALLIK RAPORU

% <b>10</b>	% <b>9</b>	% <b>6</b>	% <b>2</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>avesis.hacettepe.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>2</b>	<b>openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>3</b>	<b>www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>4</b>	<b>acrabstracts.org</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>5</b>	<b>Submitted to Hacettepe University</b> Öğrenci Ödevi	<% <b>1</b>
<b>6</b>	<b>tel.archives-ouvertes.fr</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>7</b>	<b>etd.adm.unipi.it</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>

## 9. ÖZGEÇMİŞ

### I. Kişisel Bilgiler:

**İsim:** Ertuğrul Çağrı

**Soyisim:** Bölek

**Ünvanı:** Uzm. Dr.

**Görev:** Tıp Doktoru, Yan Dal Araştırma Görevlisi

### İletişim Bilgisi:

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı

Altındağ, 06100, Ankara, Türkiye

Tel: 0 (312) 305 13 48 / 0 (312) 305 26 52

E-Posta: ertugrulcagri@hotmail.com / ertugrulcagri@hacettepe.edu.tr

### II. Eğitim Bilgileri:

**Üniversite:** Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi (2013)

**Tıpta Uzmanlık:** Hacettepe Üniversitesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı (2018)

**Tıpta Yan Dal Uzmanlık:** Hacettepe Üniversitesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı (2018-Halen)

**Yüksek Lisans:** Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İmmünoloji Programı, Tezli Yüksek Lisans (2020)

### Uzmanlık Sonrası Yurtdışı Eğitim ve Deneyim:

Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Ulusal Sağlık Enstitüleri (National Institutes of Health: NIH), NIAMS, Translational Vasculitis Research Program (Aralık 2020'de başlayacaktır)

### III. Mesleki Deneyim:

1. Intern Doktor, Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri, Ankara, Türkiye, TEM 2012  
- HAZ 2013

2. Genel Tıbbi Pratisyen, Acil Servis, Elazığ Harput Devlet Hastanesi, Elazığ, Türkiye, EYL 2013 - ARA 2013
3. İç Hastalıkları Araştırma Görevlisi – Tıp Doktoru, Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri, Ankara, Türkiye, ARA 2013 - TEM 2018
4. Romatoloji Yan Dal Araştırma Görevlisi – Tıp Doktoru (İç Hastalıkları Uzmanı), Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri, Ankara, Türkiye, TEM 2018 – HALEN

#### **IV. Bilimsel Endekli Yayınlar:**


1. Bolek, E.C., Sari, A., Kilic, L., Kalyoncu, U., Kurne, A., Oguz, K.K., Topcuoglu, M.A., Ertenli, I., Karadag, O., 2019. Clinical features and disease course of neurological involvement in Behcet's disease: HUVAC experience. Multiple sclerosis and related disorders 38, 101512-101512.
2. Bolek, E.C., Sari, A., Kilic, L., Karadag, O., Interferon alpha might be an alternative therapeutic choice for refractory Neuro-Behcet's disease. Multiple Sclerosis and Related Disorders.
3. Bilgin, E., Ozarli, İ., Kılıç, L., Bölek, E.Ç., Yardımcı, G.K., Karadağ, Ö., 2018. Some concerns from Turkey. Annals of the rheumatic diseases, annrheumdis-2018-214739.
4. Bolek, E.C., Erden, A., Kulekci, C., Kalyoncu, U., Karadag, O., 2017. Rare occupational cause of nasal septum perforation: nickel exposure. International journal of occupational medicine and environmental health 30(6), 963-967.
5. KARADAĞ, Ö., Erden, A., Ayhan, E.A., BÖLEK, E.Ç., Kalyoncu, U., ARMAĞAN, B., Sari, A., Kilic, L., AKDOĞAN, A., Hazirolan, T., 2017. The clinical features and outcomes of Turkish patients with IgG4-related disease: a single-center experience. Turkish journal of medical sciences 47(5), 1307-1314.
6. Ilbay, A., Erden, A., Sari, A., Armagan, B., Aktas, B.Y., Bolek, E.C., Kalyoncu, U., Karadag, O., 2018. Successful Treatment of Amyloid A–Type Amyloidosis Due to Behçet Disease With Tocilizumab. JCR: Journal of Clinical Rheumatology.

7. Erden A, Bolek EC, Yardimci KG, Kilic L, Bilgen SA, Karadag O. Do ANCA-associated vasculitides and IgG4-related disease really overlap or not?. *Int J Rheum Dis*. 2019;22(10):1926–1932. doi:10.1111/1756-185X.13693
8. Oral F, Bilgin E, Bölek EÇ, Yardımcı GK, Kılıç L. Comment on: Intravenous cyclophosphamide vs rituximab for the treatment of early diffuse scleroderma lung disease: open label, randomized, controlled trial. *Rheumatology (Oxford)*. 2019;58(5):925. doi:10.1093/rheumatology/kez033
9. Şener YZ, Okşul M, Bölek EÇ. Iron deficiency and heart failure [published online ahead of print, 2020 Jan 10]. *Acta Cardiol*. 2020;1. doi:10.1080/00015385.2019.1707433
10. Akdoğan N, Demircan C, Bolek EC, Gokoz O, Karaduman A. Indeterminate cell histiocytosis in a patient with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibody syndrome: an unusual association. *Lupus*. 2020;29(1):74–78. doi:10.1177/0961203319890675
11. Bilgin E, Farisoğulları B, Armağan B, Sarı A, Yardımcı GK, Bölek EÇ, Kılıç L, Akdoğan A, Bilgen ŞA, Karadağ Ö, Ertenli Aİ, Kiraz S, Kalyoncu U. Predictors of drug retention and treatment response in axial spondyloarthritis patients treated with certolizumab: real-life results from the HURBIO registry. *Clin Exp Rheumatol*. 2019 Aug 14.
12. Metan, G., Zarakolu, P., Otlı, B., Tekin, I., Aytac, H., Bolek, E.C., Metin, B.C., Arsava, E.M., Unal, S., 2019. Emergence of colistin and carbapenem-resistant *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* (CCR-Acb) complex in a neurological intensive care unit followed by successful control of the outbreak. *J Infect Public Health*.

#### V. **Endekslenen Uluslararası Bilimsel Kongre Bildirileri**

1. Bölek EC, Demir S, Sari A, et al SAT0233 VALIDATION OF A NOVEL DISEASE CLASSIFICATION IN HACETTEPE TAKAYASU ARTERITIS COHORT *Annals of the Rheumatic Diseases* 2019;78:1192.

2. Bolek, E.C., Demir, S., Sari, A., Akca, U.K., Kilic, L., Akdogan, A., Kiraz, S., Ozen, S., Karadag, O., 2019. 317. Pediatric to adult rheumatology care transition programme of hacettepe university: vasculitides perspective. *Rheumatology* 58(Supplement\_2), kez063. 041.
3. Bolek, E.C., Demir, B.S., Sari, A., Akca, U.K., Kilic, L., Akdogan, A., Kiraz, S., Karadag, O., Özen, S., 2019. 146. Are childhood-onset and adult-onset takayasu arteritis similar in terms of clinical features and disease course? *Rheumatology* 58(Supplement\_2), kez059. 023.
4. Karadag O, Furuta S, Hocevar A, Gazel U, Hinojosa-Azaola A, Ugurlu S, Gopaluni S, Bolek E, Armagan B, Alibaz-Oner F, Tomšič M, Ayan G, Yazici A, Martin-Nares E, Sánchez-Cubías S, Nedim Tas M, Cefle A, Aksu K, Kono H, Kawakami T, Abe Y, Kaşifoğlu T, Tezcan M, Gercik O, Kilickap S, Direskeneli H, Ozen S, Ertenli A, Jayne D. Target Organ Associations in Polyarteritis Nodosa (PAN): Results of a Worldwide Collaboration Study [abstract]. *Arthritis Rheumatol.* 2019; 71 (suppl 10).
5. Bolek E, Erul E, Yardımcı G, Kilic L, Akdoğan A, Karadag O. Amyloidosis in Behcet's Disease: Experience of a Vasculitis Centre at Silk Road [abstract]. *Arthritis Rheumatol.* 2019; 71 (suppl 10).
6. Yardımcı G, Farisoğulları B, Sarı A, Kilic L, Armagan B, Bilgin E, Bolek E, Karadag O, Akdoğan A, Apras Bilgen ◆, Ertenli A, Kiraz S, Kalyoncu U. Retention Rates and Response of Anti-TNF Treatments in the Enteropathic Spondylitis: HUR-BIO Real Life Results [abstract]. *Arthritis Rheumatol.* 2019; 71 (suppl 10).
7. Ekici M, Sarı A, Baytar Y, Bolek E, Armagan B, Bilgin E, Farisoğulları B, Karadag O, Ertenli A, Kiraz S, Apras Bilgen ◆, Kilic L, Akdoğan A, durhan G, arıyürek M, Kalyoncu U. Mortality Ratio and Risk Factors in CT Confirmed Rheumatoid Arthritis Related Lung Disease: UIP, Pleural Effusion and the Time of Diagnosis of Rheumatoid Arthritis – Lung Disease [abstract]. *Arthritis Rheumatol.* 2019; 71 (suppl 10).
8. Yardımcı G, Sarı A, Erden A, Bolek E, Farisoğulları B, Kilic L, Armagan B, Kalyoncu U, Hazırolan T, Ertenli A, Karadag O. Periaortitis and Coronary

- Arteritis in IgG4-Related Disease: Eastern Mediterranean Experience [abstract]. *Arthritis Rheumatol.* 2019; 71 (suppl 10).
9. Farisoğulları B, Yardımcı G, Sarı A, Armagan B, Bilgin E, Bolek E, Kilic L, Karadag O, Akdoğan A, Apras Bilgen , Ertenli A, Kiraz S, Kalyoncu U. Temporal Relationship Between Enteropathic Spondylitis Symptoms/diagnosis and Inflammatory Bowel Diseases Diagnosis: HUR-BIO Real Life Results [abstract]. *Arthritis Rheumatol.* 2019; 71 (suppl 10).
  10. Sari, A., Bolek, E.C., Kilic, L., Arsava, E.M., Topcuoglu, M.A., Kalyoncu, U., Akdogan, A., Kiraz, S., Karadag, O., 2019. 147. Cerebrovascular event can be the presenting feature of takayasu arteritis: results of a prospective vasculitis center. *Rheumatology* 58(Supplement\_2), kez059. 024.
  11. Armagan B, Bölek EÇ, Sarı A, et al THU0287 ANEURYSM IN BEHÇET'S DISEASE: MANAGEMENT, PROGNOSIS AND MORTALITY *Annals of the Rheumatic Diseases* 2019;78:422.
  12. Armagan B, Bölek EÇ, Sarı A, et al SAT0214 CLINICAL FEATURES OF ANEURYSMAL BEHÇET DISEASE *Annals of the Rheumatic Diseases* 2019;78:1182.
  13. Erden A, Bölek EÇ, Yardımcı GK, et al FRI0589 IS THERE AN OVERLAP OF ANTINEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODY-ASSOCIATED VASCULITIDES WITH IGG4-RELATED DISEASE OR NOT? *Annals of the Rheumatic Diseases* 2019;78:990.
  14. Bolek, E.C., Sari, A., Agan, B.A., Erden, A., Kilic, L., Kalyoncu, U., Tuncer, M.A., Kiraz, S., Karadag, O., 2018a. Clinical Features and Disease Course of Neurologic Involvement in Behcet's Disease, *ARTHRITIS & RHEUMATOLOGY*. WILEY 111 RIVER ST, HOBOKEN 07030-5774, NJ USA.
  15. Bolek, E.C., Sari, A., Kilic, L., Akdogan, A., Tuncer, M.A., Karadag, O., 2018b. Spinal Cord Involvement in Behcet's Disease-Experience of a Vasculitis Centre at Silk Road, *ARTHRITIS & RHEUMATOLOGY*. WILEY 111 RIVER ST, HOBOKEN 07030-5774, NJ USA.

16. Yardımcı GK, Farisoğulları B, Sarı A, Kilic L, Armagan B., Bilgin B. Bolek EC. et al THU0387 ENTEROPATHIC ARTHRITIS PATIENTS UNDER BDMARD TREATMENTS HAD FREQUENTLY RADIOGRAPHIC SACROILIITIS: HUR-BIO REAL LIFE RESULTS *Annals of the Rheumatic Diseases* 2019;78:478.
17. Okay, M., Malkan, U. Y., Bolek, E. C., Sayinalp, N., Buyukasik, Y., & Haznedaroglu, I. C. (2019). Thrombosis and Bleeding in Philadelphia Negative Myeloproliferative Neoplasia: Incidences and Risk Factors. *Acta Medica*, 50(2), 1-7.
18. Karadag, O., Erden, A., Ayhan, A., Bolek, E., Kalyoncu, U., Armagan, B., Sari, A., Kilic, L., Akdogan, A., Hazirolan, T., 2017a. FRI0612 IGG4-related disease in eastern mediterranean: clinical features and outcomes of a large cohort. *Annals of the Rheumatic Diseases* 76, 720.
19. Karadag, O., Erden, A., Batu, E., Bilgin, E., Uyaroglu, A., Seyhoglu, E., Bolek, E., Firat, E., Sonmez, H., Arici, S., 2017b. FRI0342 Distribution of vasculitides in eastern mediterranean: results of a prospective cohort. *Annals of the Rheumatic Diseases* 76, 616.
20. Karadag, O., Erden, A., Bilgin, E., Batu, E., Armagan, B., Sari, A., Firat, E., Arici, Z., Uyaroglu, A., Seyhoglu, E., E.C. Bolek, U. Kalyoncu, A. Akdog'an, S.A. Bilgen, S. Kiraz, I. Ertenli, S. Ozen. 2016. AB0562 Demographic Characteristics and Distribution of The Vasculitides Frequencies: A Real-Life Experience of Vasculitis Center from Eastern Mediterranean. *Annals of the Rheumatic Diseases* 75, 1096.



