

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİK TANILI
HASTALARDA LRBA DEFEKTİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doç. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ

**İmmünoloji Programı
Doktora Tezi**

**ANKARA
2017**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİK TANILI
HASTALARDA LRBA DEFEKTİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doç. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ

**İmmünoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İlhan TEZCAN**

**ANKARA
2017**

**YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİK TANILI HASTALARDA LRBA DEFİKTİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Doç.Dr.DENİZ NAZİRE ÇAĞDAŞ AYVAZ

Bu çalışma 01.06 tarihinde jürimiz tarafından "İmmünoloji Doktora Programı" nda yüksek lisans / doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Fatma Gümrük

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı

(imza)

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İlhan Tezcan

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı

(imza)

Üye: Prof. Dr. Vedat Bulut

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı

(imza)

Üye: Prof. Dr. Fatma Gümrük

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı

(imza)

Üye: Prof. Dr.Cemalettin Aybay

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı

(imza)

Üye: Prof. Dr. Rıza Köksal Özgül

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Metabolizma Bilim Dalı

(imza)

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

Tarih 07 Temmuz 2017


Prof. Dr. Diclehan Orhan

Enstitü Müdürü

YAYINLAMA 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 iznle 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 olduğumu, 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 alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

- Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- Tezimin/Raporumun 01.08.2018 tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi

06/07/2017

Doç. Dr. Deniz Nazire Çağdaş Ayvaz

ETİK BEYAN

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

06/07/2017

Doç. Dr. Deniz Nazire Çağdaş Ayvaz

TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Pediatrik İmmünoloji Bilim Dalı'nda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez danışmanım değerli hocam sayın Prof. Dr. İlhan Tezcan'a, her zaman desteğini hissettiğim hocam sayın Prof. Dr. Özden Sanal'a, çalışmayı gerçekleştirmemizde emekleri olan Dr.Bio. Sevil Oskay Halaçlı ve Bio. Özlem Karapınar'a, Bio. Dr. Çağman Tan'a bölümümüzde çalışan hemşirelerimiz Meliha Erol ve Feride Özkan'a, Pediatrik İmmünoloji Ünitesi tüm çalışanlarına ve çok sevgili eşime, çocuklarıma, anne ve babama teşekkürlerimi sunarım.

Doç. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ

ÖZET

Çağdaş Ayvaz, DN. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik Tanılı Hastalarda LRBA Defektinin Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji Doktora Programı, Doktora Tezi, Ankara, 2017. Primer immün yetmezlikler immün sistemle ilişkili genlerde sık görülen genellikle Mendelyan geçiş sonucunda ortaya çıkan heterojen bir hastalık grubudur. “Yaygın değişken immün yetmezlik” (YDİY) ise primer immün yetmezlikler içerisinde en sık görülen hastalık grubudur. Primer antikor eksikliği ve antikor cevap yokluğu ile karakterizedir. 2012’den sonra tanımlanan LRBA ‘LPS responsive beige-like anchor protein’ gen defekti hipogamaglobulinemi, antikor eksikliği ve özellikle otoimmünite ve inflamatuvar barsak hastalığı benzeri bulgularla başvuran hastalarda düşünülmesi gereken defektlerden biridir. Çalışmamızda amaç, Pediatrik İmmünoloji Ünitesi’ne Eylül 2013 - Eylül 2014 arasında başvuran ve hipogamaglobulinemi, otoimmünite ve lenfoproliferasyon ile seyreden YDİY hastalarında, hastalığın genetik etmeni olabileceği düşünülen LRBA gen mutasyonlarını gen ve protein düzeyinde araştırmaktır. Pediatrik İmmünoloji Ünitesi’ne başvuran ve hipogamaglobulinemi ve otoimmünite klinik bulgularıyla seyreden hastalarımızdan 30’u LRBA gen defekti açısından protein analizi ile tarandı. Üç hastamızda Western Blot analizi ile protein yokluğu, dört hastada da Sanger sekans analizi ile LRBA gen defekti gösterildi. Toplam beş hastada LRBA protein ve/veya gen defekti saptanmıştır. Otuz hastaya ek olarak LRBA gen defekti bilinen bazı hastaların kardeşlerinde ve HLA uyumlu akraba donörlerinde de defekt bölgesi Sanger sekans analizi ile değerlendirildi. Bazı donörler Western blot analizi ile protein düzeyinde de değerlendirildi. Kardeş ve donörlerin bazılarında mutasyonlar heterozigot olarak saptanırken homozigot mutasyona rastlanılmadı. Ayrıca kök hücre nakli yapılan bir hastanın da nakil sonrası LRBA protein ekspresyonu Western Blot analizi ile nakil öncesi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Nakilden sonra ekspresyonun artmış olduğu tespit edildi. Çalışmamızla tanı alan iki hasta ile birlikte toplam beş hastaya Sanger sekans analizi ile defekt olmadığı saptanan HLA uyumlu donörlerinden hematopoietik kök hücre nakli planlanmış, dördüne nakil yapılmıştır, biri izlemde kaybedilmiştir. LRBA defekti tanılı hastaların klinik durumları değerlendirildiğinde hastalığın oldukça ağır, nakil yapılmadığı takdirde fatal seyirli bir tablo olduğu görülmektedir. Bu nedenle YDİY ve ALPS fenotipi olan hastaların bu defekt açısından değerlendirilmesinin hızla gerçekleştirilmesi gerektiği açıktır. Bu çalışma ile hastalıkla ilişkili genotip fenotip karşılaştırmasının doğru yapılabilmesi için, LRBA ile ilişkili olarak yapılan araştırmanın sadece protein düzeyde yapılmasının yanlış sonuçlara götürebileceği görülmektedir. Bu nedenle hem genetik hem de protein düzeyinde araştırma yapılması amaç olmalıdır. Ayrıca Western Blot analizi sırasında LRBA proteininin moleküler ağırlığı büyük bir protein olması nedeniyle degradasyon riski gözönünde bulundurulmalıdır. Çalışmamız sonucunda iki hastada moleküler defekt hem protein analizi hem de sekans analizi ile kesinleşmiştir. Hastalıklarını açıklayacak defekt bulunmayan diğer hastaların da daha ayrıntılı yeni nesil genom dizileme ile yani YDİY hastalığına neden olabilecek genetik defektlerin panel şeklinde çalışılması/ tüm genom analizleri ile değerlendirilmeleri gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: LRBA eksikliği, YDIY

ABSTRACT

Çağdaş Ayvaz, DN. Investigation of LRBA defect in patients with common variable immunodeficiency, Institute of Health Sciences, Program of Immunology, PhD. Thesis, Ankara, 2017. Primary immunodeficiencies are extremely heterogeneous group of disorders generally caused by Mendelian inheritance. "Common Variable Immunodeficiency" (CVID) is considered as one of the most common disease of the primary immune deficiencies. It is characterized by primary antibody deficiency and lack of antibody response. The LRBA defect, which was defined after 2012, is one of the defects to be considered in patients with hypogammaglobulinemia, antibody deficiency and especially those with autoimmune and inflammatory bowel disease-like findings. The aim of our study was to investigate LRBA mutations which are thought to be genetic cause of the disease in gene and protein level, in patients with CVID, who admitted to the Pediatric Immunology Unit with hypogammaglobulinemia and autoimmunity. Thirty patients who were admitted to the Pediatric Immunology Unit and having clinical features of hypogammaglobulinemia, lymphoproliferation and autoimmunity were evaluated for LRBA gene defect. In three patients, by Western blot analysis protein absence is shown and in four patients by Sanger sequence analysis LRBA defect was shown. Totally in five patients LRBA was found to be defective in protein and/or gene level. In addition to thirty patients, the defect site was also assessed by Sanger sequence analysis in the siblings of patients with known LRBA gene defects and in HLA-matched related donors. Some donors were also assessed at the protein level by Western blot analysis. While heterozygosity was detected in some of the siblings and donors, homozygous defects were not found. In addition, post-transplant LRBA protein expression in a patient with stem cell transplantation was compared with pre-transplant expression by Western Blot analysis. It was determined that the expression was increased after the transplantation. A total of five patients, including two which was diagnosed with our study were planned to be treated with hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) from their HLA-compatible donors who were found to have no LRBA defect by our study, HSCT is performed in four, one is diseased in the follow-up. When the clinical status of patients with LRBA defects is evaluated, it is seen that the disease is very severe and fatal when transplantation is not performed. Therefore, it is clear that patients with CVID and ALPS phenotypes should be evaluated rapidly for this defect. In this study, it can be seen that if we want to compare the disease-related genotype phenotype correctly, LRBA-related research only performed at the protein level can lead to incorrect results. For this reason, both genetic and protein level research should be the aim. In addition, the risk of degradation must be predicted during Western Blot analysis as the molecular weight of the LRBA protein is high. As a result of our study, the molecular defects in two patients were confirmed by both protein analysis and sequence analysis. Other patients who have no defects to explain their disease need to be evaluated with next-generation genome sequencing. Genetic defects that may cause CVID disease should be evaluated by gene panels or by whole genome sequencing.

Keywords: LRBA deficiency, CVID

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	vi
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 İmmün Sistem	3
2.1.1 Doğal Bağışıklık	3
2.1.2 Edinsel Bağışıklık	3
2.2. Primer İmmün yetmezlik	5
2.3. B hücre gelişimi	6
2.3.1. Santral B hücre Gelişimi	7
2.3.2. Periferik B hücre Gelişimi	11
2.4. Primer Antikor Eksiklikleri	15
2.5. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik	19
2.5.1. Tarihçe	22
2.5.2. Epidemiyoloji	24
2.5.3. Patogenez	25
2.5.4. Genetik	27
2.5.5. LRBA Defekti	28
2.5.6. Klinik Bulgular	30
2.5.7. Laboratuvar Bulguları	39
2.5.8. Tanıda Kullanılan Genetik Testler	41

	Sayfa
2.5.9. Tedavi	43
3. BİREYLER VE YÖNTEM	44
3.1. Hastalar	44
3.2. Yöntemler	45
3.2.1. LRBA gen defekti düşünölen hastalarda Western blot analizi ile LRBA protein ekspresyon düzeyinin belirlenmesi	45
3.2.2. LRBA genindeki moleköler defektlerin bulunabilmesi amacıyla ekzonik gen bölgelerinin Sanger sekans analizi ile sekanslanması	46
3.3. İstatistiksel analiz	49
4. BULGULAR	50
4.1. YDİY tanılı hastaların klinik özellikleri	50
4.2. YDİY tanılı hastaların Western blot analiz sonuçları	52
4.3. YDİY tanılı hastaların LRBA geni Sanger sekans analiz sonuçları	56
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	66
7. KAYNAKLAR	67
8. EKLER	
EK1. ETİK KURUL İZİNİ	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

APRIL	A proliferation-inducing ligand-Proliferasyon uyaran ligand
BAFF(-R)	B-cell-activating factor-B hücreyi aktive eden faktör (- reseptör)
BCMA	B-cell maturation antigen-B hücre gelişimini sağlayan antijen
BCR	B hücre reseptör
CD40L	CD40 Ligand
ICOS	Inducible costimulator-Uyarıcı kostimülator
IF	İnterferon
IL	İnterlökin
IVIG	İntravenöz immünglobulin
LRBA	LPS responsive beige-like anchor protein
PİY	Primer immün yetmezlikler
TACI	Transmembran activator and calcium-modulator and cyclophilin ligand interactor-Transmembran aktivatörü ve kalsiyum modülator ve siklofilin ligandı interaktörü
TNF	Tümör nekrozis faktör
TNF-R	Tümör nekroz faktör reseptör
YDİY	Yaygın değişken immün yetmezlik

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. B hücre farklılaşması, alt grupları	7
2.2. Santral ve periferik B hücre gelişimi	8
2.3. Pre-B hücre reseptörünün oluşması	9
2.4. Self antijene tolerans gelişiminde önemli mekanizmalar	10
2.5. T hücre bağımlı ve T hücre bağımsız antijen tanınmasında rolü olan B hücre altgrupları	12
2.6 Somatik hipermutasyon	14
2.7 İzotip dönüşümü ve somatik hipermutasyon	14
2.8 Sık görülen primer antikör eksiklik türleri ve bazı moleküler defektler	18
2.9 B lenfosit santral ve periferik gelişim evreleri ve bu evreleri etkileyen moleküler defektler	19
2.10 YDİY nedeni olarak saptanan monogenik genetik defektler	28
3.1 Western Blot tekniği	45
4.1. Western Blot Analiz Sonuçları	53
4.2. Western Blot Analiz Sonuçları	54
4.3. Western Blot Analiz Sonuçları	55
4.5 Western Blot Analiz Sonuçları	56
4.6. Western Blot Analiz Sonuçları	

TABLolar

Tablo	Sayfa
2.1. Doğal ve adaptif immün sistem özellikleri	4
2.2. Primer immün yetmezliklerin sınıflandırılması	5
2.3. Primer antikor eksiklikleri	16
2.4. YDİY tanısı için yeniden düzenlenmiş ESID Kriterleri	20
2.5. Hipogamaglobulineminin ikincil nedenleri	20
2.6. YDİY nedeni olarak saptanan çeşitli genetik defektler	28
3.1. Avrupa İmmün Yetmezlik Topluluğu (ESID) tanı kriterleri	44
3.2. LRBA gen sekanslamasında kullanılan primer dizileri	46
4.1. Hastaların başvuru bulguları	50
4.2. Hastaların izlemdeki klinik özellikleri	51
4.3. Hasta grubunda yapılan Western Blot/ Sanger sekans analizi sonuçları	58

1. GİRİŞ

İmmün sistem, organizmayı enfeksiyon etkenlerine karşı koruyarak sağlıklı yaşam sürmesini sağlayan çok önemli bir yapıdır. Enfeksiyon etkenlerine yanıt verdikten sonra hafızası olan, kendinden olan ve olmayanı ayırdemekte, kendini sınırlayabilmeyi yani homeostazisi sağlayabilmektedir [1]. Bu nedenle immün sistemdeki niceliksel veya niteliksel eksiklikler enfeksiyonlara yatkınlık yanında otoimmünite, inflamatuvar hastalıklar, lenfoproliferasyon ve malignite riskinde artışa neden olabilmektedir [2].

Primer immün yetmezlik hastalıkları (PİY) heterojen bir hastalık grubu olup göreceli olarak daha hafif klinik seyir gösteren veya yaşamı tehdit eden ve ağır seyreden farklı türleri vardır. Genel olarak batı toplumlarında primer immün yetmezliklerin görülme sıklığı (prevalans) 1/10000 ile 1/100000 arasında değişmektedir [3]. Amerika Birleşik Devletleri'nde topuk kanı ile yenidoğan taraması kapsamında olan ağır kombine immün yetmezlik hastalığının sıklığı; akraba evliliği oranının düşük olmasına rağmen 1/58.000 olarak bulunmuştur [4]. Akraba evliliklerinin yaygın olduğu ve doğurganlığın fazla olduğu ülkemizde primer immün yetmezlik hastalıklarının tümünün sıklığının çok daha fazla olduğu düşünülmektedir. Zira Konya'da yapılan bir ön çalışmada sadece ağır kombine immün yetmezlik sıklığı 1/10.000 canlı doğum olarak saptanmıştır.

Primer İmmün yetmezlik hastalıkları konjenital/genetik geçişli hastalıklardır. Genellikle erken çocukluk döneminde başlayıp, morbidite ve mortaliteye yol açmaktadır. Bu hastalıkların çoğu tedavi edilebilir hastalıklardır. Erken tanı, iyi prognoz ve aileye erken genetik danışma verilebilmesi yanında hastanın ve ailesinin yaşam kalitesinin artırılması yönünden önem taşımaktadır. Primer immün yetmezlik hastalıklarının ayırıcı tanıda daha sıklıkla düşünülmesi ve immünolojik değerlendirmenin yapılması, erken tanı alabilmelerini sağlamaktadır. Primer immün yetmezlik tanısı alan hastaların yaklaşık 2/3'ü başlangıçta çocuk hekimi tarafından değerlendirildiği halde, sadece antikor eksikliklerinde tanıdaki gecikme ortalama 2 yıl olarak bulunmuştur [5]. Bu durumun prognozu önemli ölçüde artırdığı göz önüne alınacak olunursa, klinisyenlerde PİY'den şüphelenme oranının artması gerekmektedir.

Primer immün yetmezlik hastalıklarında benzer klinik tablolar farklı genetik defektlerle ortaya çıkabildiği gibi, aynı genetik defekt farklı klinik tablolarla da karşımıza çıkabilmektedir. Son yıllarda yeni nesil dizileme yöntemi gibi moleküler genetik çalışmalar nedeniyle primer immün yetmezliklere neden olan kritik genlerdeki bilinen mutasyonların oranı giderek artmaktadır. Klinik tanı ardından hastalığa neden olan moleküler bozukluğun saptanması, prognozun öngörülerek gerekli durumlarda hematopoietik/mezenkimal kök hücre nakli, enzim ve gen tedavisi de dahil olmak üzere erken ve etkin tedavinin planlanmasına, bunun yanı sıra prenatal tanı ve preimplantasyon genetik çalışmalara olanak sağlayacaktır. Bu hastalıklarda gen analizinin yanısıra eksik proteinin saptanması hızlı bir tanı yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır.

“Yaygın değişken immün yetmezlik” (YDİY) (*Common variable immunodeficiency*-CVID), primer immün yetmezliklerin hipogamaglobulinemi, antikor üretiminde eksiklik, tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar ile seyreden, heterojen (değişken) klinik seyir gösteren ve en sık semptomatik olan türünü oluşturmaktadır [6]. Yaygın değişken immün yetmezlik, monogenik ve poligenik geçişli olup çok farklı klinik bulgularla prezente olmaktadır. Bu nedenle moleküler tanıda problem yaşanmaktadır. Yaygın değişken immün yetmezliğe yol açan bilinen bir proteinin eksikliğinin kısa ve güvenilir bir yöntemle gösterilmesi, erken tedaviyi (kök hücre nakli gibi) sağlayacak ve prognozunu iyi olmasını sağlayacaktır. Bu çalışmada, YDİY tanısı almış hastalarda LRBA proteininin [7] Western Blot yöntemi ile gösterilmesi amaçlanmıştır. Böylece eksikliğinin kısa bir süre içinde tanımlanarak hastaların erken ve temel tedaviye ulaşmaları sağlanacaktır. Tüm LRBA defektif hastalarda protein defekti olmayabileceği gözönüne alınmış, protein defektif hastaların tanınması anlamında daha hızlı şekilde değerlendirilmeleri planlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İmmün Sistem

İmmün sistem, öğrenme, hafıza ve moleküler yapı (patern) tanıma kapasitesi olan [8] belirli yapısal özellikler gerektiren, özellikle belirli özellikte hücreler ve çözünür veya yüzey moleküllerinden oluşan ilkel canlılarda da bulunan bir sistemdir. Karşılaştığı antijenik yapıdaki örgü (patern) denilen moleküler yapılara verdiği yanıtı immün yanıt adı verilir [9]. İmmün cevapta da homeostaz sözkonusudur. Yani, tanıdığı moleküler yapılara yanıt verebilir, vermeyebilir; ancak yanıt verdiğinde de bu yanıt sınırlayabilmektedir.

İmmün sistemin fizyolojik fonksiyonu enfeksiyona neden olan mikroorganizmalara karşı vücudun savunmasıdır. Bu savunma doğal (*innate*) bağışıklık ve edinsel (adaptif) bağışıklık olmak üzere immün sistemin farklı mekanizmaları aracılığıyla gerçekleştirilmektedir [10].

2.1.1. Doğal Bağışıklık

İmmün sistemin aktivasyonu ilk olarak doğal bağışıklık cevabıyla başlamaktadır. Mikroorganizmalara karşı savunmanın erken basamaklarını doğal bağışıklığın bileşenleri oluşturmaktadır. Bu bileşenler epitel doku ve antimikrobiyal ürünler gibi fiziksel ve kimyasal bariyerler, fagositer hücreler, kompleman komponentleri ve sitokinlerdir (Tablo 2.1). Doğal bağışıklık mekanizmaları mikroorganizmaların sahip olduğu patojen ilişkili moleküler yapı (PAMP) (*pathogen associated molecular patterns*) adı verilen moleküler yapılar aracılığıyla tetiklenmektedir. Bu moleküler yapılar patojen tanıyan reseptörler (PRR-*pattern recognition receptors*) tarafından algılanmakta ve immün cevap oluşturulmaktadır. Doğal bağışıklık savunmanın erken dönemini oluşturmakta ve enfeksiyöz ajanlara karşı özgüllüğü ve çeşitliliği edinsel bağışıklığa göre oldukça sınırlı kalmaktadır (4,5).

2.1.2. Edinsel Bağışıklık

İmmün sistemin antijenlere ve karşılaşılan mikroorganizmalara karşı doğal immüniteye göre daha özgül, daha güçlü yanıt veren bileşenine edinsel bağışıklık denmektedir. Edinsel bağışıklığın en önemli özelliği hafıza oluşturabilmesidir. Bu

sayede vücut savunması aynı ajanla tekrar karşılaştığı zaman daha hızlı ve güçlü olarak yanıt verebilmektedir. Edinsel immün yanıt lenfosit adı verilen hücreler ve bu hücrelerce ve bu hücreler tarafından üretilen çeşitli proteinler aracılığıyla oluşturulmaktadır. Lenfositler, yüzeylelerinde bulunan belirli reseptörler aracılığıyla antijen adı verilen molekülleri tanırlar. Antijenler genellikle protein ya da polisakkarit yapıdadır, ancak lipid veya nükleik asit formları da mevcuttur. Antijenlere karşı B lenfositler tarafından üretilen proteinler antikor olarak adlandırılmaktadır. T lenfositler ise ürettikleri sitokinler aracılığıyla ve immün sistemin efektör fagositer hücrelerini uyararak immün yanıt oluşturmakta ve çeşitli alt gruplara ayrılmaktadırlar (4,5). Doğal ve edinsel immün sistemin özellikleri tabloda özetlenmiştir (Tablo 2.1)

Lenfositler milyarlarla ifade edilen sayılarda farklı antijeni tanıma özelliği taşırlar. Bu çeşitlilik özellikleri, VDJ rekombinasyon işlemi gibi kemik iliğinde ve timusta lenfosit gelişimi sırasında gerçekleşen moleküler mekanizmalar ile sağlanır (4).

Tablo 2.1. Doğal ve adaptif immün sistem ve özellikleri.

Doğal İmmün Sistem	Adaptif İmmün Sistem
Makrofaj, nötrofil, NK, dendritik hücreler	T ve B lenfositler, antikorlar
Doğumda hazır	Kazanılır
Maruziyetten sonra erken cevap (Dakika, saatler)	Maruziyetten cevap verene kadar belirli süre ihtiyacı (Günler)
Self-nonsel self ayrımı mevcut	Self-nonsel self ayrımı mevcut
Cevap kısıtlı ve sabit	Cevap çeşitlilik gösterir
Cevap germline olarak kodlanır	Cevap somatik rekombinasyon ve somatik hipermutasyonlarla düzenlenir.
Nonspesifik cevap	Patojen ve aj.e spesifik cevap
Patojen veya hasar ilişkili moleküler paternler	Patojen veya hasar ilişkili moleküler paternlerin spesifik kısımları
Patern tanıma reseptörleri	TCR, BCR
Klonal çoğalma ile cevap yoktur	Klonal çoğalma ile cevap verilir.
Hafıza yoktur	Hafıza mevcuttur

2.2. Primer İmmün Yetmezlikler

İmmün sistemde görev yapan hücrelerin gelişiminde ve işlev görmesinde çeşitli düzeylerde yer alan pek çok molekül kodlayan genlerdeki mutasyonlar primer immün yetmezliklere neden olmaktadır. Primer immün yetmezlikler, Mendelyan geçiş gösteren genetik hastalıklar grubunda yer almaktadır [11]. İlk tanımlanan primer immün yetmezlik 1952 yılında Ogden Bruton tarafından gösterilen X'e bağlı agamaglobulinemidir [12]. Hastalığa neden olan mutasyon ise 1993 yılında Bruton tirozin kinaz (BTK) geninde gösterilmiştir [13]. Bugüne kadar 300'den fazla primer immün yetmezlik tarif edilmiştir.

Primer immün yetmezlikler, çoğu zaman ağır, yaygın ve tekrarlayan enfeksiyonlarla karakterize olup otoimmünite, lenfoproliferasyon, otoinflamasyon, allerjik hastalıklar ile de seyredebilmektedir [14]. Primer immün yetmezliklerdeki fenotipik özellikler etkilenen gendeki defektin tipine, bu genin veya ürününün etkileşimde bulunduğu diğer genlere ve eksozomal etki de denilen çevresel etkilerin tümüne bağlı olarak çeşitlilik gösterir.

İmmün yetmezlikler 2015 yılında İmmün Yetmezlik Uzman Komite tarafından hazırlanan makalede Tablo2.2'deki gibi sınıflandırılmıştır [15].

Tablo 2.2 Primer İmmün Sistem Hastalıklarının Sınıflandırılması

- 1-Kombine İmmün Yetmezlikler
- 2-Sendromik özellikleriyle tanımlanan immün yetmezlikler
- 3-Primer antikor eksiklikleri
- 4-İmmün disregülasyon hastalıkları
- 5-Fagositer hücre hastalıkları
- 6-Doğal bağışıklık hastalıkları
- 7-Otoinflamatuvar hastalıklar
- 8-Kompleman eksiklikleri
- 9-Primer immün yetmezliklerin fenokopileri

Bu sınıflamaya göre araştırma grubumuzda yer alan yaygın değişken immün yetmezlikler 'Primer antikor eksiklikleri' grubunda yer almaktadırlar.

Primer antikor eksikliklerini değerlendirmek için öncelikle B hücre gelişimini gözden geçirmek gereklidir.

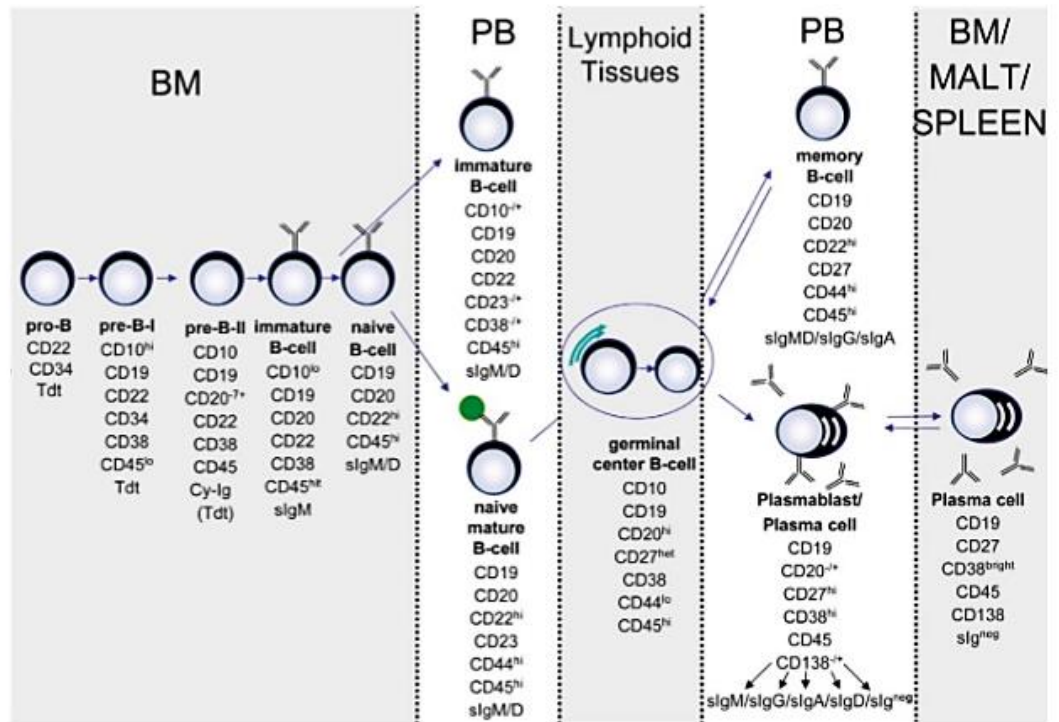
2.3 B Hücre Gelişimi

Embriyoda mezodermden oluşan aort-gonad-mezonefros dokusundan köken alan prekürsör hücreler, fetal karaciğerde hematopoietik kök hücre öncüllerini oluşturur, bu hücreler de kemik iliğine ulaşarak kemik iliği öncüllerini oluşturur.

Hematopoietik kök hücrelerin gelişimi fetal hayatın ilk ayında yolk-sac, ikinci ayda fetal karaciğerde, üçüncü ayda fetal kemik iliğinde başlamaktadır. Gebeliğin yaklaşık 7. ve 8. haftasında pro-B ve pre-B hücrelerine fetal karaciğerde rastlanır. 10. Hafta civarında sIgM⁺sIgD⁻ immatür B hücrelerine, yaklaşık 12. gebelik haftasında da sIgD⁺ matür B hücrelere rastlanır. Fetal karaciğer yaklaşık gebeliğin 30. haftasına kadar kök hücre üretim görevine devam eder. Gebeliğin 12. haftasından itibaren fetal kemik iliği B hücre üretim merkezi olarak görev yapmaktadır ve yaşam boyu da bu görevine devam eder[16].

B hücreleri diğer hematopoietik hücreler gibi pluripotent stem (kök) hücreden gelişmekte, proB, preB, immatür B ve matür B basamakları sonucunda oluşmaktadır. Kök hücreden matür hücreye kadar çeşitli B hücre basamaklarının gelişimi, bir dizi yüzey markerinin kazanılması, kaybedilmesi, immünglobulin genlerinin yeniden düzenlenmesi (rearrangement) ve bu genlerin ekspresyonu ile mümkündür (Şekil .).

B hücre gelişimi, doğum sonrasında kemik iliğinde gerçekleşen antijenden bağımsız veya santral B hücre gelişimi ve sekonder lenfoid organların (lenf nodu, mukoza ilişkili lenfoid doku (MALT), kemik iliği ve dalak) germinal merkezlerinde oluşan antijen bağımlı veya periferik B hücre gelişimi olmak üzere iki kısma ayrılır.

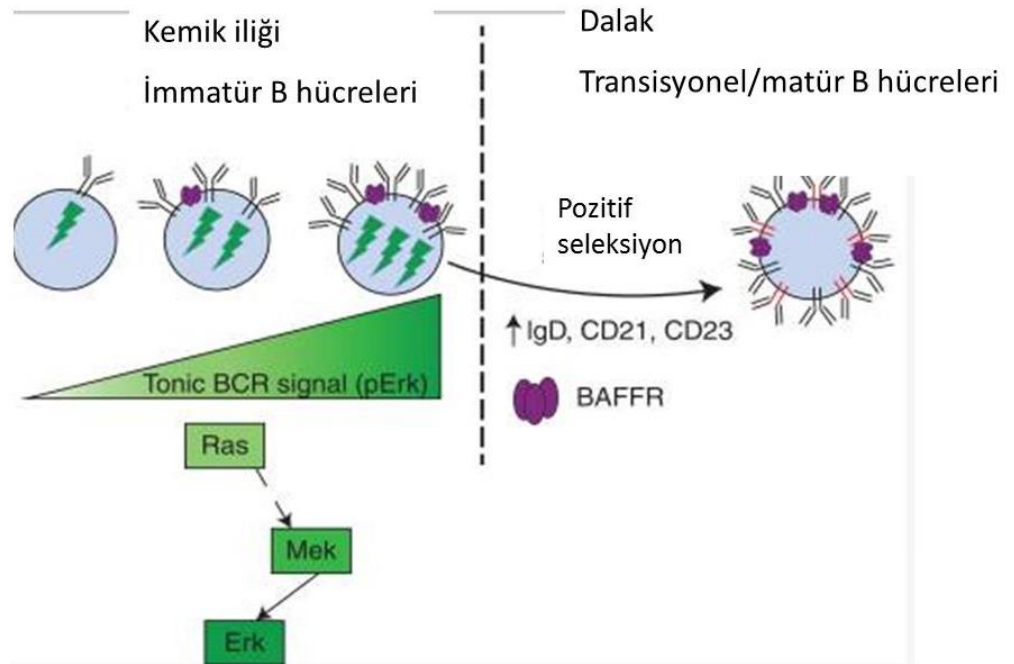


Şekil 2.1. B hücre farklılaşması, algrupları [17]

2.3.1 Santral B hücre gelişimi:

B hücrenin kemik iliğinde diferansiyasyonun devamı için belirli düzeyde BCR ekspresyonu, tonik BCR sinyalinin Ras-Mek-Erk sinyal iletim yolağı ile iletimi, BAFF reseptör ekspresyonu ve sinyal iletimi gereklidir [18].

İmmün sistem, yabancı antijenleri T ve B hücre yüzeylerindeki spesifik reseptörleri ile tanır. B hücre reseptörü (BCR) kodlayan farklı gen segmentleri VDJ rekombinasyon işlemi ile rastgele bir araya getirilerek düzenlenir. Bu yeniden düzenleme her zaman başarılı olmadığından yeterli sayıda olgun hücre oluşabilmesi için proliferasyon da buna eşlik etmelidir. Erken B lenfosit gelişimi antijenden bağımsız yeni gen düzenlenmesi ve hücre proliferasyonu ile karakterizedir.



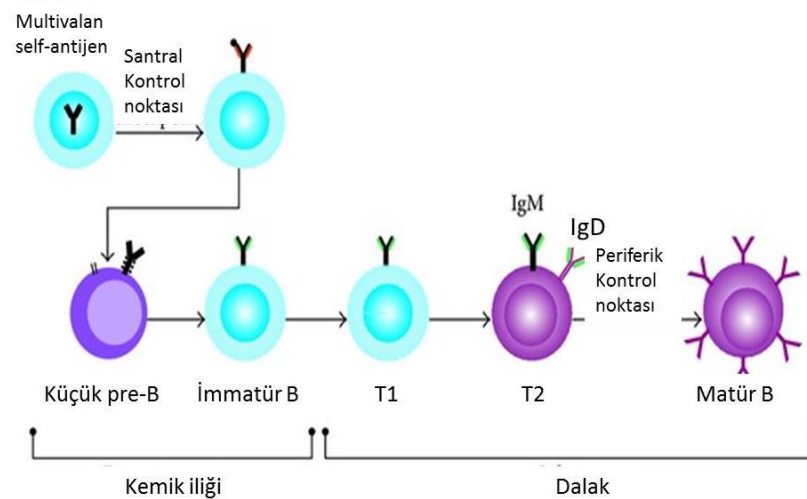
Şekil 2.2. Sanral ve periferik B hücre gelişimi [18]

Başarılı bir düzenleme fonksiyonel bir molekül oluşturur ve bu yolla antijenden bağımsız olarak geniş bir repertuar oluşur. Bu basamaklar sonrasında oluşan immatür lenfositler anti-self ve antijene bağımlı seleksiyona uğrar. İlk Ig gen rekombinasyonu pro B hücrelerde başlar ve Ig ağır zincir sentezlenmeye başlanır. ProB hücrelerinde ağır zincir VH (variable heavy)) geni düzenlenir, DH (diversity heavy) ve daha sonra JH (joining heavy) geni ile birleşir. VDJ rearrangementi ile başarılı VH oluşumu sonunda preB hücreleri ile hücre sitoplazmasında μ ağır zincir proteinini eksprese ederler. Pre B hücre safhasında tüm bireylerde aynı yapıda olan vekil veya yedek (surrogate) hafif zincir, Ig α ve Ig β eksprese edilmeye başlanır. Ig ağır zinciri ile birlikte bu proteinler hücre yüzeyinde pre-B hücre reseptörünü oluşturur. Bu reseptör B hücre gelişiminde önemli bir kontrol noktasıdır. Bu reseptörün ekspresyonunda görev alan proteinlerin (Ig ağır zincir, vekil (surrogate) hafif zincir, Ig α ve Ig β zincir) veya reseptörün sinyal iletiminde rol oynayan moleküllerin (BTK, BLNK, LRRC8) mutasyonlarında B hücreler proliferere ve diferansiye olamazlar, apoptoza uğrarlar ve agamaglobulinemi oluşur.

Pre-B hücre reseptörünün oluşması B hücre gelişiminde önemli bir kontrol noktasıdır (Şekil 2.3). Pre-B hücre reseptörlerinin oluşmasıyla öncül B hücrelerinde iki yeni düzenleme oluşur. İlk olarak doğru rekombinasyon oluşturan ve ağır zincir

üreten allel karşı alleli inhibe eder. Böylece sadece bir tür reseptör ve Ig üreten B hücre klonları oluşur. Bu duruma allel ekartasyonu (allelic exclusion) adı verilir. İkinci düzenleme ise vekil (surrogate) hafif zincir üretiminin sonlanarak, antijen spesifik hafif zincir rekombinasyonu (κ ve λ hafif zincir V genlerinin düzenlenmesi (VL \rightarrow JL)) ve ekspresyonunun başlamasıdır. Oluşan hafif zincir, ağır zincir ile birleşerek antijen spesifik IgM'yi oluşturur. Daha sonra yüzeylerinde IgM taşıyan immatür B hücreleri kemik iliğinden kana geçer [19]. Kemik iliğinden göç eden immatür B hücreleri sekonder lenfoid organlarda olgunlaşarak IgD reseptörü eksprese ederler, daha sonra da matür B hücrelerine geçiş formu olana transisyonel B hücrelerine dönüşür ve CD38 eksprese etmeye başlar. Bu basamaktan sonra oluşan transisyonel (T) hücreler özellikle dalağa göç ederler[20]. Dalakta ilk oluşan T1 B hücreleri, ardından T2 B hücreleridir [20, 21]. Transisyonel tip 1 hücre (T1) olarak adlandırılan immatür hücreler çeşitli gelişim basamaklarından geçerler. BAFF-R ekspresyonu B hücrelerde ilk olarak bu basamakta görülür. Dalakta BAFF ve BAFF-R moleküllerinin düzenleyici etkisiyle T2 B hücreye dönüşürler. T2 B hücreleri BCR ve diğer yüzey reseptörleri aracılığıyla aldıkları sinyallere göre foliküler (FO) ya da marjinal alan (zone) (MZ) B hücrelerine dönüşürler [22]. Diferansiye olduktan sonra matür ve naiv hale gelirler. T2 safhasından sonra yüzeyinde Ig M ve D bulunur.

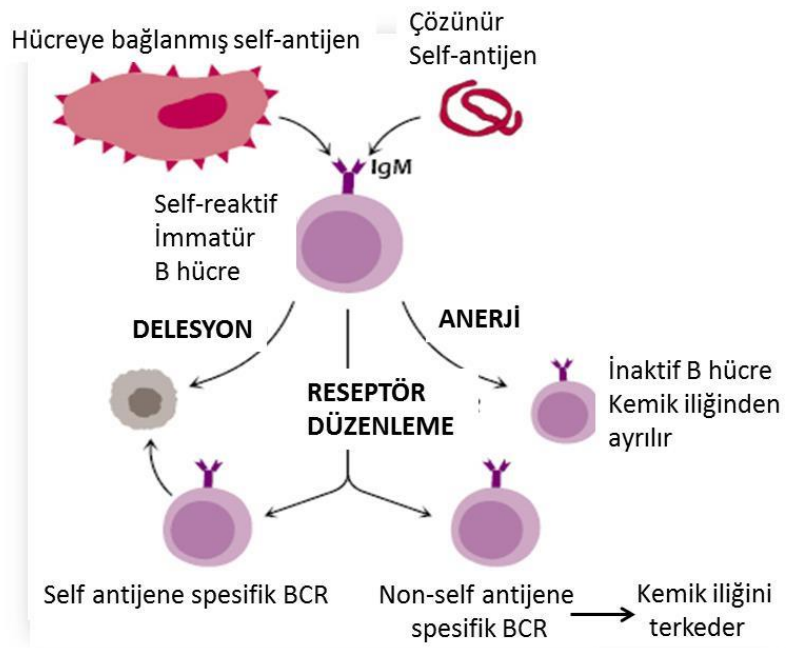
Transisyonel evreden sonra dalakta matür B hücreler foliküler ve marjinal zon B hücreleri olmak üzere iki tip matür B hücre vardır.



Şekil 2.3. Pre-B hücre reseptörünün oluşması

B hücrelerinin diferansiyasyon ve proliferasyon sırasında self antijenlere karşı özgüllük göstermemesi için bazı işlemler gereklidir (Şekil 2.4). Sekonder rearanjman da denem reseptör editing (düzeltme) işlemi bunlardan biridir. Bu işlem sırasında self tanıma sözkonusu olduğunda ağır zincir aynı şekilde kalmakta, hafif zincir değişmektedir. Tek hücrede yapılan PCR analizleri sonucunda sekonder rearanjmanın kemik iliğindeki immatür B hücrelerinin yaklaşık 2/3'ünde gerçekleştiğini göstermektedir. Diğer bir işlem B hücre delesyonudur. Eğer editing yapılamazsa B hücreleri delesyona uğrar. Üçüncü seleksiyon işlemi B hücrede anerji olarak adlandırılır. Eğer gelişen B hücreler self antijenleri zayıf olarak bağlarsa, bu hücreler fonksiyonel olarak anerjik hale gelirler ve kemik iliğini bu şekilde cevapsız olarak terkederler.

Proliferasyon ve diferansiyasyona giden prekürsör B hücrelerin çoğu ara basamaklarda apoptozla kaybolmakta, yaklaşık 1/3'ü ağır ve hafif zincir genlerini başarılı olarak düzenleyebilmektedir. Bu aşamaya ulaşamayan hücreler apoptoz ve kemik iliği makrofajları tarafından ortadan kaldırılır [23]. Kemik iliğinde üretilen immatür hücrelerin sadece %10-20'si dalağa ulaşır, büyük bir kısmı negatif seleksiyona uğrarlar.



Şekil 2.4. Self antijenlere toleransın gelişiminde önemli mekanizmalar

2.3.2 Periferik B hücre gelişimi (Antijen bağımlı B hücre gelişimi)

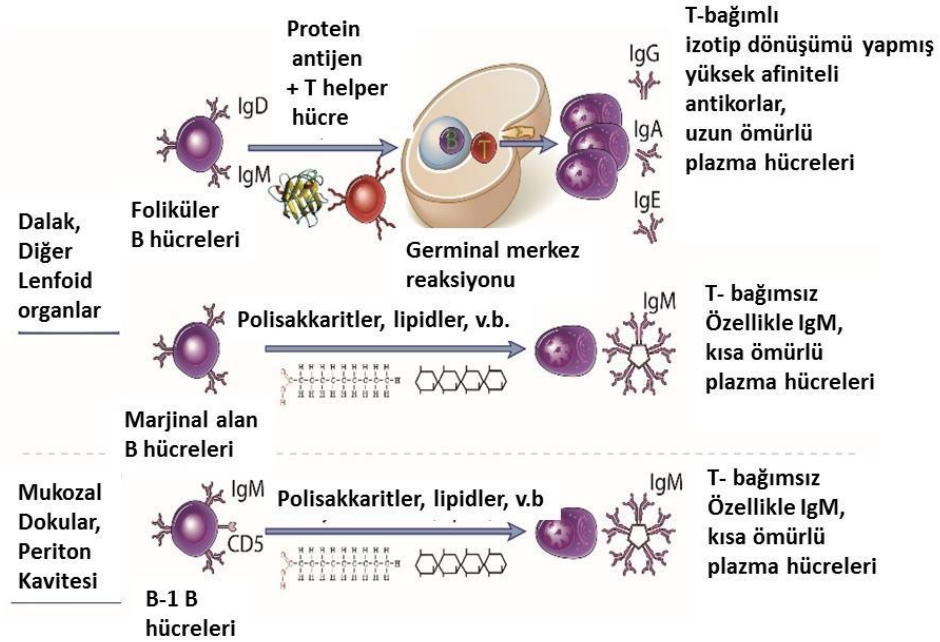
B hücre gelişiminde ikinci aşama antijenle karşılaşma ve B hücre aktivasyonu ile devam eder. Bu nedenle bu evre antijen bağımlı evre olarak adlandırılır. Naiv matür B hücreler kendi özgün antijenlerini bulmak üzere periferik lenfoid organların foliküllerinde dolaşırlar, birkaç gün içinde ölürler [17]. Folikülde B hücrenin hayata kalması B hücre reseptörü ve BAFFR aracılığı ile BAFF (B cell activating factor of the TNF family) ile uyarımına bağlıdır [24]. BAFF ve APRIL sitokini B hücre yüzeyindeki TACI ve BCMA reseptörlerine bağlanır. Bu iki sitokinin oluşturduğu sinyaller B hücre aktivasyonunun B hücre aktivasyonunun devamına ve farklılaşmasına katkıda bulunur.

MHCII yüzey molekülleri sayesinde T hücreden farklı olarak antijeni sunuma gerek olmadan doğrudan tanır. B hücre membranındaki IgM ve D, B hücre reseptörü (BCR) fonksiyonu göreyerek antijeni tanır, Ig α ve Ig β (sırasıyla CD79a ve CD79b olarak da adlandırılır), ve bunların oluşturduğu heterodimer yolu ile hücre içine uyarı iletilir. B hücre aktivasyonunda ayrıca B hücre yüzeyinde eksprese olan kompleman reseptörü olan (CD21), CD19 ve CD81 kompleks oluştur, CD19 sitoplazmik ucundaki ITAM molekülleri aracılığı ile sinyal iletimi gerçekleşir. B hücre aktivasyon veya inhibisyonu için ek uyarılar TLR aracılı uyarılar ile sağlanır. Değişik B hücre altgrupları yüzeylerinde aşdıkları farklı TLR'lere anijen bağlanması ile farklı çeşitlilikte sitokin sekresyonu ile yanıt verirler. Örneğin MZ B hücrelerinin TLR2 ve 4 ile simülasyonu IL-10 ve bir miktar IL-6 salgılamasına neden olurken, FO B hücrelerinin IFN- γ ve IL-6 salgılamasına neden olur [25].

Fetal hayatta karaciğerde oluşan immatür B hücrelerin bir kısmı farede B1 B hücre olarak adlandırılır [26]. Bu hücreler periton, gastrointestinal mukoza gibi bölgelere yerleşerek, mukozal yüzeylerde karşılaştıkları sınırlı sayıda polisakkarit antijenlere ve lipitlere karşı hızlı IgM üreten hücrelere dönüşür, polisakkarit antijen yanıtından sorumludurlar ve fetal karaciğerde TdT eksprese edilmediğinden kısıtlı çeşitlilik potansiyeline sahiptirler [27]. Bu hücrelerin ürettikleri antikorlara 'doğal antikorlar' da denir, çünkü bu antikorlar hiç yabancı antijenle karşılaşmamış bireylerde de bulunur. Bu antikorların gastrointestinal sistemin doğal florasında bulunan bakterilere karşı geliştiği düşünülmektedir. Fetal hayatta kemik iliğinde oluşan B hücrelere ise B2 B hücre adı verilir. B2 B hücreleri dolaşımda yaygın olarak bulunan

foliküler B hücreler ve dalakta bulunan marjinal alan (zone) (MZ) B hücreler olmak üzere iki gruptan oluşur. Foliküler B hücreleri T hücre bağımlı olarak aktive olurken, MZ B hücreler ve B1 B hücreler T hücre bağımsız olarak aktive olurlar [28].

Foliküler B hücreler dalak ve lenf nodlarındaki foliküllere ulaştıktan sonra bu adı alırlar ve kandaki, sekonder lenfoid dokulardaki esas B hücre popülasyonunu temsil ederler. Foliküler hücreler esas olarak dolaşımdaki B hücrelerdir.



Şekil 2.5. T hücre bağımlı ve T hücre bağımsız antijen tanınmasında rolü olan B hücre altgrupları

Marjinal zon B hücreleri, dalakta marjinal sinüste ve periferik kanda bulunur. Marjinal B hücreler dolaşımdaki B hücrelerin %15-25'ini oluştururlar. Dolaşımdaki marjinal B hücre sayısının azlığıyla zayıf pnömokokal polisakkarit aşı cevabı ilişkili bulunmuştur. Bu hücreler pnömokokal polisakkarit antijen cevabından spesifik olarak sorumludurlar. Özellikle *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis* gibi hayatı tehdit eden kapsüllü bakterilere karşı ilk cevapta önemli rol oynar. B1 B hücreleri gibi sınırlı sayıda polisakkarit antijenlere karşı çoğunlukla IgM, az miktarda da IgG üretir. B1 B hücreleri ve MZ B hücreleri, sınırlı sayıda bakteriye T hücre bağımsız yanıt verebilmektedir (Şekil 2.5).

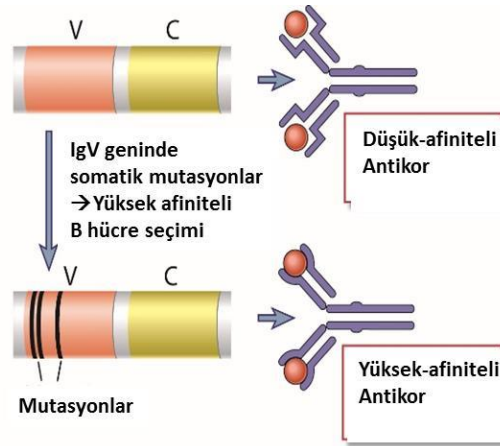
Humoral immün sistemin mikroorganizmalara karşı kalıcı ve asıl cevabı ise T hücre yardımıyla gerçekleşmekte; yüksek afiniteli, uzun süreli antikor yanıtı ile

oluşmaktadır. Bu yanıtı periferik kanda naif B hücre olarak adlandırılan folliküler B hücreler sağlamaktadır. CD27-CD20+CD19+CD38- naif B hücreleri kemik iliğinden çıktıktan sonra periferik kana geçerek lenf noduna yüksek endotelli venüller yoluyla T hücre bölgesine gelir [29, 30]. Eğer özgül antijeni ile karşılaşmazsa lenf nodunu lenfatik kanallar yolu ile terkeder ve periferik kan ve lenfoid dokular arasında dolaşarak birkaç gün içinde ölür. Germinal merkezde B hücreleri hızlı çoğalan koyu alanda 'centroblast' ve açık alanda 'centrocyte' adını alırlar ve devamlı olarak koyu ve açık alan arasında göçederler.

Hızla çoğalan B hücreler (centroblast) folikül merkezinden koyu bölge (dark zone) adı verilen folikülün dış kısmına göç eder ve burada yardımcı T hücreleri ile karşılaşır. Bu şekilde aktive olan T hücrelerin yüzeyinde CD40 ligand ve sitokin reseptörlerinin ekspresyonu artar ve yardımcı T hücreler B hücreleri aktive etmek üzere kemokinler yardımıyla foliküllere doğru yol alır. Germinal merkez cevabında B hücre aktive T hücre etkileşimi B hücre büyüme ve diferansiyasyonu için gerekli sinyali oluşturur. Aktive olan B hücreler folikül merkezine tekrar dönerek burada prolifer olmaya devam eder.

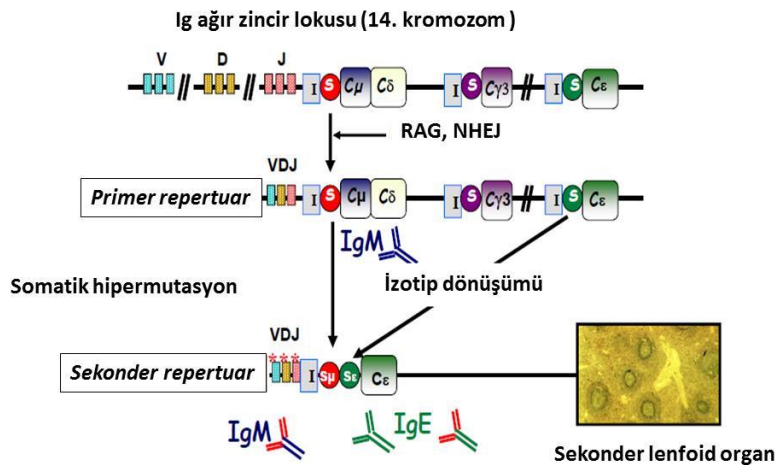
Koyu alanda hücreler hızlı şekilde çoğalır, Ig değişken bölgesinin geninde somatik hipermutasyon ve Ig ağır zincirinde izotip dönüşümü gerçekleşir.

Ig değişken kısmını kodlayan gende (antijen reseptör V geninde) somatik hipermutasyon adı verilen nokta mutasyonları ile, B hücreler nispeten daha yüksek antijen afinitesi gösteren antikor üreten germinal merkez B hücreleri ve antijene daha spesifik ve güçlü bağlanan antikor üretimi gerçekleşir (Şekil 2.6). Açık alanda ise antijenle tekrar karşılaşır ve gelişen olaylar ile antijene karşı BCR afinitesinde artış olup olmadığı (afinite matürasyonu) kontrolü yapılmış olur. Sonuçta antijene karşı yüksek afiniteli BCR aşırı B hücre klonları çoğalmış ve yaşamını devam ettirmiş olur [29, 30]. Bu B hücre klonlarından en yüksek afinite ile antijene bağlanan Ig üreten klon, folliküler dendritik hücreler yardımıyla proliferasyona devam ederken, diğer klonlar apoptoza gider [31].



Şekil 2.6. Somatik hipermutasyon

Yardımcı T (Th) hücrelerden salınan çeşitli sitokinlerin yardımıyla ve Ig sabit kısmını kodlayan bölgenin de üretilen sitokine göre değişik ekspresyonları ile IgM yanında IgA, IgG ve IgE gibi değişik türde antikor üretimi başlar. Bu olaya izotip dönüşümü (class switch recombination) adı verilir. Örneğin yardımcı T hücrelerden $IFN\gamma$ salgılandığında IgG1 ve IgG3; IL4 salgılandığında IgE; TGF β ve IL5 salgılandığında IgA tipinde izotip dönüşümü gerçekleşir [32]. İzotip dönüşümünde rol oynayan başlıca enzimler, sabit zincirin kullanılmayacak bölgelerinin sirküler DNA haline gelerek ayrılmasını sağlayan aktivasyon ile indüklenen sitidin deaminaz (AID) yanında DNA tamir proteinleri olarak görev yapan urasil N glikozilaz (UNG) ve PMS2 enzimleridir [33]. Bu enzimlerin yokluğunda ve CD40 ve CD40 ligand eksikliklerinde izotip dönüşüm defektleri olarak da adlandırılan hiper IgM sendromu gelişmektedir.



Şekil 2.7 İzotip dönüşümü ve somatik hipermutasyon

İzotip dönüşümü ve somatik hipermutasyon sonucu yüksek afiniteli antikor üreten B hücre klonundaki bazı hücreler Ig salgılayan plazma hücrelerine dönüşürken, bir kısım hücre de tekrar antijen ile karşılaştığında vücudun daha hızlı yanıt vermesine neden olan hafıza B hücrelerine dönüşür (Şekil 2.7).

Çocukluk çağından itibaren de hafıza B hücre sayısı giderek artmaktadır. Erişkin yaşta dolaşımdaki B hücrelerin %60-70 kadarı IgD⁺, CD27⁻ naif B hücre iken, geri kalanı IgD⁻, CD27⁺ hafıza B hücrelerdir [34].

2.4 Primer Antikor Eksiklikleri

Primer antikor eksiklikleri serum immünglobulin düzeylerinde düşüklük veya yokluğa ilaveten aşılama yanıtta yetersizlik ile karakterizedir [35]. Bu eksikliklerinin önemli bir bölümü B hücre gelişimi ve plazma hücrelerine farklılaşmayı etkileyen moleküler eksiklikler sonucu ortaya çıkmaktadır. B hücrelerinin antikor sentezi T hücre bağımlı ve T hücre bağımsız olarak gerçekleşebilmekte, ardından B hücreleri plazma hücrelerine dönüşerek antikor salgılamaktadır. Bu nedenle primer antikor eksikliklerinin bir kısmı kısmi T hücre eksiklikleri sonucu gelişmektedir. Primer antikor eksiklikleri nedenlerine göre üç grup altında incelenmektedir [36].

A. B hücre intrinsik defektleri

1. *B hücre gelişim defektleri*
2. *B hücre 'survival' (yaşamını sürdürmesi ile ilgili) defektleri*
3. *B hücre aktivasyon defektleri*
4. *İmmünglobulin izotip dönüşümündeki defektler*

B. B hücre extrinsic defektleri

1. *T hücre gelişim ve aktivasyon defektleri*
2. *'Innate' (Doğal) immün sistem defektleri*

C. Etiyolojisi bilinmeyen defektler

Primer antikor eksikliği sendromlarında ortak bulgu immünglobulin düşüklüğü olsa da klinik bulgular heterojendir (Tablo 2.3). Bu hastalar, genel olarak kliniklere en sık *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae* ile oluşan, tekrarlayan otit,

sinüzit ve akciğer enfeksiyonu ile başvururlar. Diğer sık görülen yakınmalar ise otoimmün hastalıklar, inflamatuvar hastalıklar, malignite ve lenfoproliferatif hastalıklardır.

Tablo 2.3 Primer antikor eksiklikleri[37]

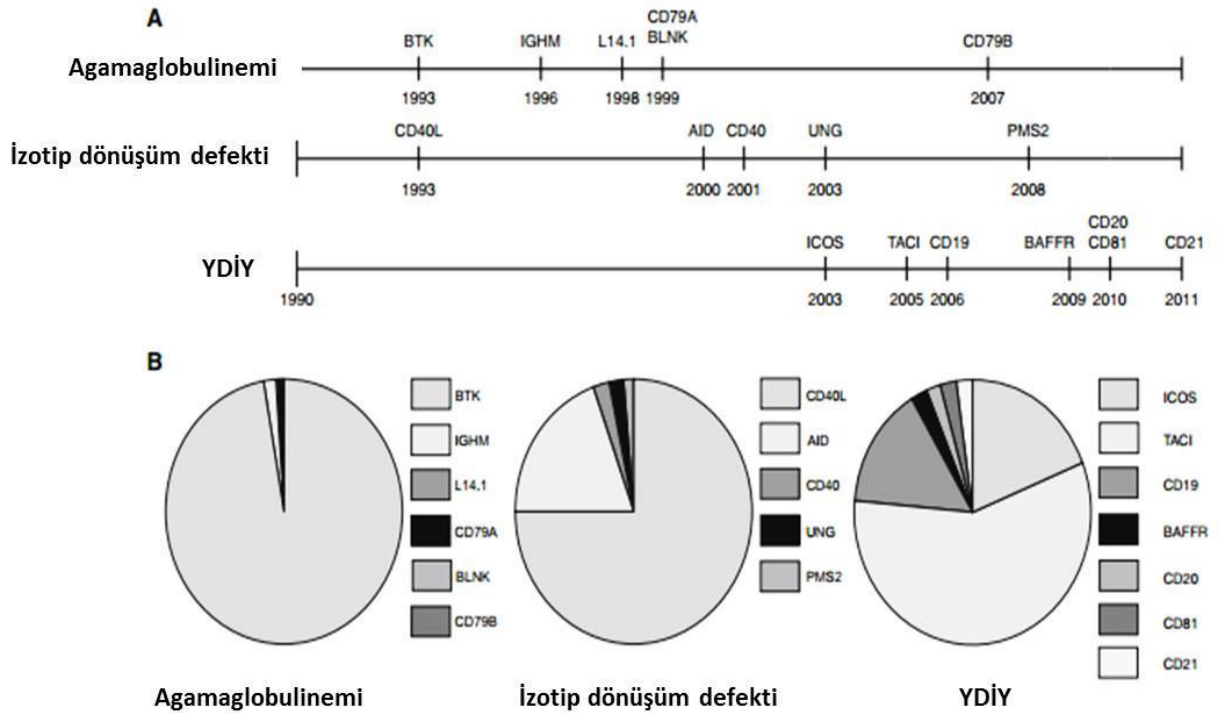
Hastalık	Laboratuvar Bulguları	Klinik Bulgular	Moleküler Defekt
Agamaglobulinemi (X'e bağlı ve otozomal resesif)	-Agamaglobulinemi -Periferdeki B hücre sayısının %2'nin altında olması -Spesifik antikor cevabı yoktur.	-Tekrarlayan ağır bakteriyel ve enteroviral enfeksiyonlar -Lenfoid dokunun yokluğu -Otoimmün ve malign hastalıklar	-X'e bağlı resesif (BTK mutasyonu) -Otozomal resesif (μ ağır zincir, Ig α , Ig β , BLNK, LRRC8) - %5-10'unda ise moleküler defekt bilinmemektedir.
İzotip dönüşüm defektleri veya hiper IgM sendromu	-Düşük IgG ve IgA seviyeleri -Normal veya artmış IgM -Normal B hücre sayısı -Antikor yanıtında bozukluk -CD40/CD40L eksikliğinde azalmış T hücre cevabı	-Tekrarlayan ağır bakteriyel ve fırsatçı enfeksiyonlar - CD40/CD40L eksikliğinde karaciğer hastalığı -AID/UNG mutasyonunda lenfoid hiperplazi, otoimmün ve malign hastalıklar	-İntrinsik B hücre defektleri (AID, UNG mutasyonları) -Kombine immün yetmezlik (CD40, CD40L eksikliği)
Yaygın değişken immün yetmezlik	-Düşük IgG ve düşük IgA ve IgM -Normal veya azalmış B hücre sayısı -Bozulmuş spesifik antikor yanıtları - Azalmış T hücre yanıtı görülebilir.	-Tekrarlayan ağır bakteriyel enfeksiyonlar -Otoimmün ve malign hastalıklar -Lenfoproliferatif ve granüloamatöz hastalık -Gastrointestinal bozukluklar	-TACI, ICOS, CD19 defektleri -%90 hastada moleküler defekt bilinmemektedir.
Selektif IgA eksikliği	-IgA seviyesinin 7 mg/dl'nin altındadır. -IgM ve IgG ve B hücre sayıları normaldir. -Spesifik antikor yanıtları normaldir.	Genellikle semptomları yoktur, bir kısım hastada atopi, otoimmünite ve gastrointestinal bozukluklar görülebilir.	Bilinmemektedir.
IgG alt grup eksikliği	Total IgG, IgA, IgM düzeyleri normalken, bir veya birden çok IgG alt grubunda düşüklük saptanır. B hücre sayıları normaldir.	Genellikle semptomları yoktur, bir kısım hastada atopi ve otoimmünite görülebilir.	Bilinmemektedir.

Spesifik antikor eksikliği	IgG, IgA ve IgM seviyeleri ve B hücre sayıları normalden, özellikle polisakkarit antijenlerine karşı spesifik antikor yanıtında bozukluk vardır.	Tekrarlayan üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları görülür.	Bilinmemektedir.
Süt çocukluğunun geçici hipogamaglobulinemisi	IgG düşüklüğüne IgAve/veya IgM düşüklüğü eşlik eder. Spesifik antikor yanıtları büyük çoğunluğunda normaldir. Lenfosit alt grupları CD19 B hücre sayıları da normaldir.	Tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonu, otit, gastroenterit gibi genellikle iyi huylu enfeksiyonlarla seyreder. Menenjit, sepsis, osteomyelit sistemik enfeksiyonlar ve kronik enfeksiyonlar görülmez.	Bilinmemektedir.

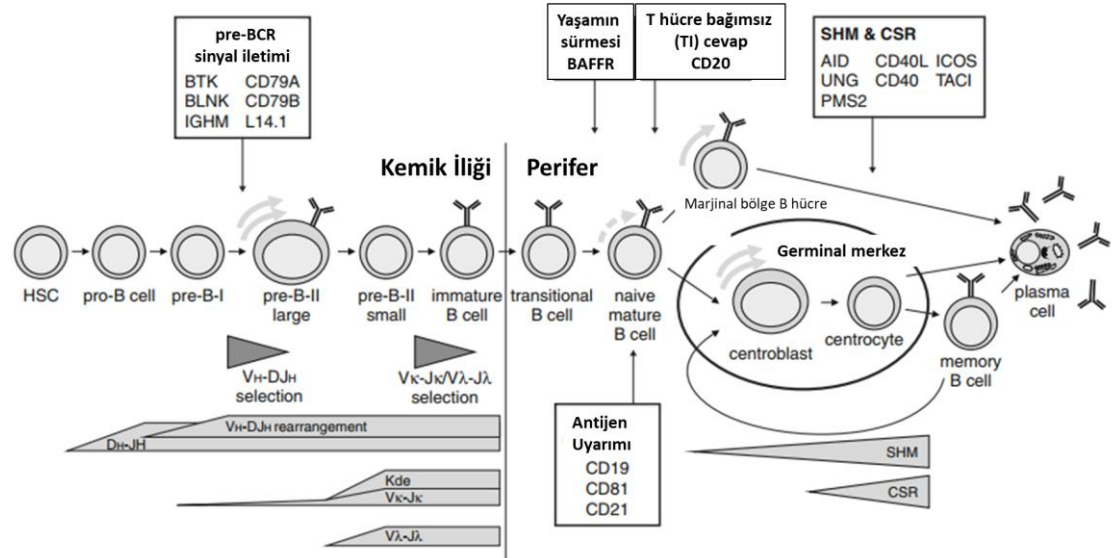
Agamaglobulinemiler, erken B hücre gelişimi sırasındaki defektler sonucu oluşan antikor eksiklikleri grubudur. Periferik kanda B lenfosit yokluğu veya çok düşük oluşu, Ig izotiplerinde düşüklük ve tekrarlayan enfeksiyonlar ile karakterizedir. En sık görülen form BTK mutasyonuna bağlı gelişen X'e bağlı agamaglobulinemi, daha nadir olarak otozomal resesif agamaglobulinemiler görülmektedir.

X'e bağlı agamaglobulinemi (Bruton agamaglobulinemisi) ilk kez 1952 yılında Ogden Bruton tarafından tanımlanmıştır. Bruton'un tekrarlayan enfeksiyonları olan bir erkek çocuğunda elektroforezde gamaglobulin fraksiyonun olmadığını fark etmesi ile hastalığın nedeni ortaya konmuş, 1993 yılında iki ayrı araştırmacı grubu [38, 39] hastalıktan sorumlu geni bulmuşlar ve BTK adını vermişlerdir. Bruton tirozin kinaz geni X kromozomunun Xq22 pozisyonunda bulunmaktadır. Bruton tirozin kinaz, sitoplazmik bir tirozin kinaz olup, pre-BCR ve BCR'ün fonksiyonunda kritik rol oynamaktadır. BTK mutasyonu sonucu B hücre gelişiminde iki evrede; pre B hücreden immatür B hücreye geçişte ve tranzisyonel B hücre evresinden matür B hücre evresine geçişte duraklama olmaktadır.

Bruton tirozin kinaz molekülünün tanımlanması primer antikor eksikliklerinde önemli bir aşama olmuş, daha sonraki yıllarda çok sayıda defektif gen tespit edilmiştir [35]. Özellikle agamaglobulinemi, izotip dönüşüm defekleri ve yaygın immün yetmezlik grubunda anımlanmış olan genetik defektler Tablo'da verilmiştir. Bu genetik defektlerden bazıları B hücreden kaynaklanan 'intrinsic' defektlerken, bir kısmı T hücre yüzeyinde eksprese olan reseptör veya ligandlardan kaynaklanmaktadır [40]. Bu defektlerden B hücre matürasyon ve diferansiyasyonunu etkileyenler Tablo'da gösterilmiştir. Son zamanlarda modifiye edici genetik faktörlerin, hastanın yaşının, çevresel ve diğer faktörlerin hastalığın klinik çeşitliliğinde rol oynayabileceği netleşmiştir [41, 42].



Şekil 2.8 Sık görülen primer antikor eksiklik türleri ve bazı moleküler defektler [35].



Şekil 2.9 B lenfosit santral ve periferik gelişim evreleri ve bu evreleri etkileyen moleküler defektler [35]

2.5 Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik

“Yaygın değişken immün yetmezlik” (YDİY), (Common variable immunodeficiency) 2015 immün yetmezlik sınıflamasında antikor eksiklikleri grubunda yer alan bir hastalıktır [43]. Kazanılmış hipogamaglobulinemi, erişkin dönemde başlayan hipogamaglobulinemi, ya da disgamaglobulinemi olarak da adlandırılır.

Yaygın değişken immün yetmezlik (YDİY, ‘CVID’-‘Common variable immunodeficiency’), immünglobulin ve koruyucu antikor üretiminde yetersizlik, bunun sonucunda görülen semptomlarla ve sıklıkla tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlarla karakterize, moleküler ve genetik temeli tam olarak aydınlatılamamış, heterojen bir hastalık grubudur [44]. Bu hastalık grubunda genel olarak, B hücrelerin varlığına, T hücre immünitesinin normal veya normale yakın olmasına rağmen patojenlere karşı yetersiz antikor cevabı ortaya çıkar [45]. Hastalığın ‘değişken’ olarak tanımlanmasının sebebi erişkinlerdeki geç başlangıçlı olan sınıflandırılmayan hipogamaglobulinemilerin, çocuklarda bulunan kalıtsal formda olan agamaglobulinemiden yani X’e bağlı geçişli agamaglobulinemi (XLA)’den ayrımı içindir [46].

Avrupa İmmün Yetmezlik Topluluğu (ESID) tarafından 2014 yılında belirlenen YDİY tanı kriteri Tablo 2.4’te verilmiştir [47].

Tablo 2.4 YDİY tanısı için yeniden düzenlenmiş ESID Kriterleri (2014)

Aşağıdakilerden en az birinin bulunması:

Enfeksiyonlara duyarlılık

Otoimmün bulgular

Granümatöz hastalık

Açıklanmamış poliklonal lenfoproliferasyon

Antikor eksikliği nedeniyle etkilenmiş bir aile bireyi oluşu

VE serum IgG ve IgA düzeyinde belirgin düşüklük. Serum IgM düzeyinde düşüklük olabilir, olmayabilir (En az iki kere ölçülmüş yaşa göre iki standart deviasyon (SD) altında değerler)**VE** aşağıdakilerden en az biri:

Aşılarla düşük antikor cevabı (ve/veya izohemaglutininlerin yokluğu)

Düşük 'Switched memory' B hücreleri (Yaşa bağlı değer %70'inden düşük)

VE diğer ikincil hipogamaglobulinemi sebeplerinin dışlanmış olması**VE** semptomlar daha erken başlasa da tanı 4 yaşından sonra konulmalıdır**VE** belirgin T hücre eksikliğinin eşlik etmemesi (Bu durum aşağıdakilerden iki tanesinin varlığı ile anımlanmıştır)

CD4 sayısı/µl: 2-6 yaş <300, 6-12 yaş <250, >12 yaş <200.

Naive CD4 oranı : 2-6 yaş <%25, 6-16 yaş <%20, >16 yaş <%10.

T hücre proliferasyonunun yetersiz olması

Hipogamaglobulinemi sekonder nedenleri ile ayırıcı tanı yapılmalıdır:

Tablo 2.5 Hipogamaglobulineminin ikincil nedenleri

İlaca bağlı nedenlerAntimalaryal ajanlar
KaptoprilKarbamazepin, fenitoin
GlukokortikoidlerFeklofenak
Altın tuzları

Penisilamin

Genetik BozukluklarAtaksi Telenjiektazi
SCID (Şiddetli Kombine İmmün Yetmezlik)
otozomal geçişX'e bağlı geçişli SCID
Transkobalamin II eksikliği ve
hipogamaglobulinemiX'e bağlı geçişli agamaglobulinemi
X'e bağlı geçişli lenfoproliferatif hastalık (EBV ilişkili)Hiper IgM sendromu
Kromozom 18 q delesyonu, Monozomi 22,
Trizomi 8, Trizomi 21**Enfeksiyöz Hastalıklar**HIV
Konjenital Rubella
Konjenital CMV enfeksiyonu
Konjenital Toxoplazma enfeksiyonu
Epstein-Barr Virus enfeksiyonu**Malignansiler**Kronik lenfositik lösemi
Timoma ile eşlik eden immün yetmezlikler
Non Hodgkin's lenfoma
B hücre malignansileri**Sistemik Hastalıklar**

İmmünglobulinlerin aşırı katabolizmasına bağlı (distrofik miyotoni tip 1-2, proksimal miyotoni miyopati) gelişen immün yetmezlikler

İmmünglobulinlerin aşırı kaybına bağlı (nefrotik sendrom, ciddi yanıklar, lenfanjiektazi, şiddetli ishal) gelişen immün yetmezlikler

Ayırıcı tanıda öncelikle diğer primer antikor yapım bozuklukları ve ilaç, enfeksiyon, malignite gibi durumlara sekonder immün yetmezlikler göz önüne alınmalıdır. Özellikle antikonvülzan ilaç kullanan, vitamin B12 düzeylerinde düşüklük saptanan, protein kaybettiren enteropati, nefrotik sendromu olan ve lenfoproliferatif hastalığa sahip kişilerde akılda tutulmalıdır. Antikor cevabında yetersizlik, immünoglobulin seviyelerinde azalma ile seyreden daha ciddi enfeksiyonlarla karakterize olabilen kombine immün yetmezliklerle de ayırıcı tanısı ivedilikle yapılmalıdır. İki yaşın altındaki çocuklarda, X'e bağlı agamaglobulinemi ve bebeklik döneminin geçici hipogamaglobulinemisinden ayırım zor olabilmektedir. Ancak, tanı konulması prognoz, sağkalım, tedavi ve genetik danışma açısından önemlidir. X'e bağlı kalıtımı düşündüren aile öyküsü olan, tonsiller doku ve periferik kanda matür B hücreleri bulunmayan vakalarda tanı, XLA lehinedir. Genç ve erkek hastalarda ayırımı zor olduğundan, Bruton tirozin kinaz genindeki mutasyon gösterilerek vakalarda XLA tanısı kesinleştirilir. Bebeklik çağının geçici hipogamaglobulinemisinde ise, aşılamaya karşı fonksiyonel antikor yanıtları normaldir. İmmünoglobulin seviyeleri düşük ancak IgM düzeyleri yüksek olan vakalarda, hiper IgM sendromu mutlaka ekarte edilmelidir. Tekrarlayan, bakteriyel üst ve alt solunum yolları enfeksiyonları olan bir hastada YDIY'den şüphelenilmelidir. YDIY'li çocuklarda, primer kombine immün yetmezliklerin ve HIV enfeksiyonunun aksine, gelişme geriliği olmayabilir. Enfeksiyonlara predispozisyon yaratabilecek alerji, anatomik bozukluklar, kompleman eksiklikleri, silier fonksiyon bozuklukları ve kistik fibrozis gibi durumlar değerlendirilmelidir. Selektif IgG alt grup eksikliği veya polisakkaritlere karşı spesifik antikor yanıtı bozukluklarında da tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları gelişebilir ancak bu hastalarda total IgG düzeyleri genellikle normaldir. Hümorale immün sistemin laboratuvar değerlendirilmesi, serum IgG, IgM, IgA ve IgE düzeylerinin ölçümü ve bu düzeylerin yaşa uygun referans değerleriyle karşılaştırılmasıyla başlamalıdır. Ayrıca, spesifik antijenlere karşı antikor yapabilme kapasitesi araştırılmalıdır. İzohemaglutininlerin ölçümü ile, bir yaşın üzerindeki hastalarda spesifik IgM yapabilme kapasitesi değerlendirilebilir. Difteri ve tetanoz toksoidi ve polivalan pnömokok aşılamalarından sonra antikor düzeylerinin ölçülmesiyle protein ve polisakkarit antijenlerine karşı fonksiyonel yanıt saptanabilir [48].

2.5.1.Tarihçe

Yayınlanan ilk vaka olan 39 yaşındaki kadın hastanın bronşiektazi, tekrarlayan akciğer enfeksiyonları, sinüzit, otit ve *Haemophilus influenza* 'ya bağlı bir kez gelişen menenjitisi olduğu tarif edilmiştir. Serum proteinlerini gösterecek elektroforez çalışması yapılamamasına rağmen serum izohemaglutininlerinin eksikliği ve gamaglobulin replasman tedavisi sonrası tekrarlayan enfeksiyonların remisyonuyla hipogamaglobulinemi tanısı konulmuştur. Sonrasında diğer vakalar tanımlanmaya devam edilmiştir. 1955 yılında Rosecan ve arkadaşları tarafından 2 erkek hastada hipogamaglobulinemi ve splenomegali birlikteliği tarif edilmiş, aynı yılda yine Wall ve Sasla tarafından 2 erişkin hastada hipogamaglobulinemi ve tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar bildirilmiştir [49, 50]. Wollheim ise 1961 yılında İsveç'in iki farklı bölgesinde birçok kadın hastada tekrarlayan enfeksiyonlarla ilişkili hipogamaglobulinemi tarif etmiş ve bu hastalığın kalıtsal bir doğası olabileceğini öne sürmüştür [51]. 1967 yılında Kirkpatrick ve Schimke, hipogamaglobulinemisi olan hastalarda çok düşük düzeylerde Ig M olduğunu bildirmiştir [52]. Kamin ve arkadaşları tarafından 1968 yılında hipogamaglobulinemisi olan hastaların T hücreleri"phytohemagglutinin"ile in vitro uyardıklarında proliferasyonunda yetersizlik olduğu gösterilince, bu hastalığın düşük antikor düzeyleri yanında, defektif hümmoral cevapla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [53]. Cooper ve arkadaşları tarafından 1971 yılında hipogamaglobulinemisi olan hastaların perifer kanında yüzey immunoglobulinlerini taşıyan B lenfositlerin normal seviyede oldukları gösterilmiştir. Bunun yanında B lenfositlerin plazma hücrelerine farklılaşmasındaki aksaklık nedeniyle hastalığa neden olduğuna dair fikirler üretilmiştir. Hastaların doğasındaki değişkenliği ilk belirten ve bunun hastalığın karakteristik, tamamlayıcı bir parçası olduğunu literatürdeki ilk belirten Cooper ve arkadaşlarıdır [54]. Farklı olarak "Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik" terimi o dönemde çeşitli dergilerde farklı isimlerle yayınlanmış olsa da, ilk olarak Douglas ve Geha tarafından 1974 yılında bağımsız olarak kullanılmıştır [55, 56]. Bugün ise hastalığın nedeninin şimdiye kadar birçoğu tanımlanmış, çoklu gen defektleri nedeniyle geliştiğini bilmekteyiz.

Hastalığın uluslararası tanımlanmasının bir mütâbakata varılıp kabul edilmesi 1990 yıllarına uzanmıştır ve o yıla kadar araştırma yazılarında kullanılan çeşitli

tanımlamalar kargaşa yaratmış olup antikör eksikliğine neden olan ikincil nedenlerin dışlanması ihtiyacı duyulmuştur. Yeterli görüşmeler sonrasında, European Society for Immunodeficiency (ESID) ve Pan-American Group for Immunodeficiency (PAGID) tarafından 1999 yılında tanı kriterleri yayınlanmıştır [57]. Hastalığın tanımlandığı dönemlerdeki esas önemli olan, CVID tanısında antikör eksikliğinin 'primer' nedenlerini teyit edebilmek ve diğer neden olan durumları dışlamaktır.

CVID veya selektif IgA eksikliği olan bireylerin aynı aile içinde saptanmış olması, bu iki hümmoral immün yetmezliğin genetik olarak ilişkili olduğunu ve aynı hastalık spektrumunun kutuplarını temsil ettiğini düşündürmüştür. CVID ve IgA eksikliği olan hastaların çoğunda bazı HLA haplotiplerinin ortak olduğu saptanmıştır [58]. İki immün yetmezlikte de duyarlılık genlerinin 6. kromozomun MHC bölgesinde olduğu, muhtemel iki genden birinin DQ lokusunda bulunup DQ β zincirinin 57. pozisyonunda nötral bir aminoasiti kodladığı, diğerinin ise bir klas III MHC geni, ve muhtemelen, etkilenmiş kişilerde sıklıkla delesyonu görülen C4A geni olduğu ileri sürülmüştür [59]. DQ β zincirinin 57. pozisyonunda alanin veya valin gibi nötral bir aminoasitin olmasının IgA eksikliğine karşı duyarlılığı arttırdığı, negatif yüklü bir aminoasitin olmasının ise IgA eksikliği için koruyucu olduğu düşünülmüştür [60]. Ancak aynı MHC haplotipini taşıyan kişilerde immün yetmezliğin her zaman mevcut olmaması hastalığın genetik temeline ulaşmayı zorlaştırmıştır. Yakın zamanda yayınlanan araştırmalarda MHC II ve MHC III üzerindeki bölgelerde bu iki hastalıktaki genetik yatkınlığa neden olan esas öğelerin olduğunu ispatlayacak yönde sonuçlar çıkmıştır [61]. Çevresel faktörlerin de, özellikle fenitoin gibi ilaçlar ve enfeksiyonların, genetik olarak yatkınlığı olan kişilerde dengeyi immünglobulin eksikliği lehine bozabileceği ileri sürülmüştür.

Son dönemde YDİY hastalığıyla ilişkili olan genetik etmenlerin aydınlatılması için büyük çaba sarfedilmektedir, ancak hastalığın ortaya çıkışına yol açan genlerle ilgili bilgiler kısıtlıdır. YDİY ile ilişkisi olduğu bildirilen belirli genler arasında TACI (transmembrane activator andcalcium-modulator and cyclophilin ligand interactor), ICOS (Inducible Costimulator), CD19, CD20, CD21, CD81 BAFFR (B Cell Activating Factor Receptor) gibi genler yer almaktadır. YDİY klinik parametreleri ile

bu genlerdeki mutasyonların birlikteliği gerek hastalığın sınıflandırılmasında gerekse ayırıcı tanıda önem arz etmektedir. Bu genlerden özellikle TACI ve ICOS, B hücre gelişimi ile yakından ilgilidir. TACI, B hücreleri üzerinde eksprese edilen ve hücre reseptörü olarak işlev gören bir proteindir. TACI'nin aktivasyonu sonrasında, izotip dönüşümü ve immünoglobulin maturasyonunda önemli olan faktörler aktive edilir. Bu bakımdan TACI'deki mutasyonlar YDİY hastalığının bir nedeni olarak kabul edilmektedir. TACI'deki genetik değişiklikler ve bu değişikliklerin YDIY ile ilişkisi tam olarak anlaşılmasa da, bu hastaların % 8-10'unun, en az bir TACI allelinde mutasyon taşıyıcısı oldukları saptanmıştır [62, 63]. ICOS da bir hücre yüzey reseptörüdür, ancak TACI'den farklı olarak T hücrelerinde eksprese edilmektedir. Fonksiyonel olarak ICOS, hafıza B hücrelerinin ve plazma hücrelerinin oluşumu için gerekli olan, IL-10 (Interleukin 10) üretiminde rol almaktadır. Otozomal resesif geçiş gösteren YDİY hastalığıyla ICOS'un homozigot delesyonu paralellik göstermektedir. ICOS'un ligandı ile etkileşimi, B hücre farklılaşması, immünoglobulin izotip dönüşümünde önemlidir. Böylece, bu gendeki mutasyonların da, hastalıkla ilişkili olduğunu göstermektedir.

2.5.2. Epidemiyoloji

İnsidansı 10000-50.000'de 1'dir [64, 65]. Klinik bulgular en sık 2-5 yaş ve 16-20 yaş arasında ortaya çıkmakla birlikte beşinci-altıncı dekatta da görülebilmektedir. Hastalık her iki cinsten eşit sıklıkta görülmekte olup, klinik seyir her iki cinsten de benzerdir. YDİY'li vakaların çoğunda hastalık sporadik gelişmekle birlikte, yaklaşık %10-20'sinde otozomal dominant veya otozomal resesif türde ailesel geçiş görülmektedir. Akriba evliliği oranının düşük olduğu Batı toplumlarında otozomal dominant form otozomal resesif forma göre daha sık gözlenmektedir [66].

Hastalığın belirtileri herhangi bir yaşta ortaya çıkabilmekle birlikte, klinik bulgular vakaların çoğunda yaşamın ikinci veya üçüncü dekadına kadar belirgin olmamaktadır [45]. Hastalık iki birinci ve üçüncü dekatlar olmak üzere iki ayrı pik göstermektedir. Bu nedenle enfeksiyonların başlama yaşı ile tanı konulması arasında 4 ila 9 yıl gibi mühim bir gecikme olduğu bildirilmektedir [67]. Tek merkezli yapılan bir çalışmada ise hastaların yaklaşık dörtte biri bir dekad sonrasında tanı almıştır [68]. COVID, erkek ve kadınlarda genellikle eşit oranda görülür ve vakaların çoğu

sporadik olmasına rağmen yaklaşık %10 hastada ailesel geçiş bildirilmiştir [69]. Ülkemizde COVID vakalarının tutulduğu toplu veri kayıtları bulunmadığından sıklığına ait oran verilememektedir. Şu ana kadar güvenilir serilerden hesaplanan en sık vaka sayısı 1:30,000 olarak Norveç'ten bildirilmiştir [70]. Diğer bazı ülkelerdeki son 2 dekada ait veriler ise şu şekilde bildirilmiştir: İsveç'te bildirilen primer antikor eksikliği vakaları 1:230 sıklığında olup, diğer serilerde bulunmayan selektif IgA eksikliği ve IgG subgrup eksiklikleri bu ülkedeki seriye dahil edilmiştir. Diğer serilerden Brezilya'da bu oran 1:79,000 iken, İspanya'da 1:117,000 olarak belirtildiği üzere ülkeler arası farklılıklar göze çarpmaktadır [71].

2.5.3. Patogenez

Hastalığın patogenezini henüz net olarak bilinmemektedir. YDİY hastalarının yaklaşık %90'ında genetik defekt bulunamamasının yanında doğal ve adaptif immüniteyi etkileyen çeşitli anormallikler vardır. İmmünitedeki bu anormalliklerin hastalığa neden olan faktörlerden çok eşlik eden bulgular olduğu ortaya konmaktadır.

Doğal immünite disfonksiyonu:

Yapılan çalışmalarda YDİY hastalarında monositlerde anormallikler tanımlanmıştır [72]. Daha yakın zamanda yapılan in vitro çalışmalarda ise monosit kökenli dendritik hücrelerde anormallikler çeşitliliğe sahip olsa da gösterilmiştir [73]. Ardından da miyeloid ve plazma hücre kökenli dendritik hücre sayılarının azaldığı, Toll-like reseptör 7 ve 9 yolağındaki sinyal defektleri rapor edilmiştir [74].

Dendritik hücreler T hücre cevaplarını uyarabilen en etkili antijen sunan hücrelerdir. Ayrıca T hücre yardımı olmaksızın TLR ve BAFF/APRIL aracılığıyla B lenfositlerin terminal diferansiyasyon ve izotip dönüşümünü de kontrol etmektedirler. Rundles ve ark. COVID'li hastalarda dendritik hücre fonksiyonlarının bozuk olduğunu ve yetersiz IL-12 ürettiklerini göstermişlerdir. Diğer çalışmalarda da dendritik hücre sayısının bu hastalarda azaldığı ve dendritik hücre sayısı düşük olan hastalarda granülomatoz hastalık, otoimmünite ve splenomegalinin daha sık olduğu gözlenmiştir. Dendritik hücre sayısı düşük olan hastaların izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre

sayısı da düşük saptanmıştır. Ayrıca COVID’li hastalarda B hücre TLR-9 ekspresyonu defektiftir.

Adaptif immünite disfonksiyonu: Belirgin olarak adaptif immünite ile daha fazla anormallikler tanımlanmıştır. Antijen ve mitojenlerin stimülasyonu sonrası azalmış proliferasyonu kapsayan çeşitli T hücre defektleri [45], sitokin üretiminde azalma [75], aşılama sonrasında antijen spesifik T hücre üretiminde yetersizlik [76], hücre yüzey markerları ekspresyonunda azalma (CD40L, atraktin) [77], T hücre apoptoz oranlarında artışlar tanımlanmıştır. Son zamanlarda lenfosit proliferasyonu dengesinde rol oynayan sitokinlerden IL-7 serum seviyesinin artması bazı YDİY hasta gruplarında artmış CD8+ T hücre sayıları ve azalmış apoptoz ile birlikte gösterilmiştir [78]. Splenomegali ve otoimmünitenin yüksek insidansa sahip olduğu bu hastalarda in vitro olarak IL-7 cevabı zayıftır ki, bu da IL-7 feedback döngüsü bozukluğu lehinedir.

Son yıllarda T hücre reseptör sinyalizasyonunda yapılan çalışmalarda Rho-ailesi GTPaz’larından olan Vav molekülünde defektler saptanmış ve azalmış Vav1 mRNA düzeyleri sonucu f-aktin polimerizasyonun ve CD28/T hücre reseptörü upregülasyonunda aksaklıklar ortaya konmuştur [79].

T lenfosit sinyal iletiminde, T-helper lenfosit fonksiyonunda, sitokin üretiminde, kostimülatör molekül CD40 ekspresyonunda defektler, artmış supresör T lenfosit fonksiyonu, T lenfosit sayı ve fonksiyonundaki anormallikleri içermektedir.

Total B lenfosit sayısı COVID’li hastaların çoğunda normal olmasına karşın, düşük veya yüksek de bulunabilmektedir. B hücre sayısı yüksek olan hastalarda otoimmünite ve poliklonal lenfositik infiltrasyon daha sık gözlenmektedir. Ancak bazı çalışmalarda da B hücre sayısının düşük oluşu kötü klinik gidiş ve kötü prognoz ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Ayrıca hastaların B lenfositlerinin fonksiyonel çalışmalarında kostimülatör molekül CD70, CD86’nın ekspresyonunda defektler olduğu saptanmıştır .

COVID’li hastalarda, B lenfositin terminal farklılaşma sürecindeki en önemli defektin izotip dönüşümünde olduğu düşünülmektedir. Antijenle ilk karşılaşmada öncelikle IgM yapısında antikor oluşturan B lenfositler, izotip dönüşümü ile daha sonra IgA, IgG ve IgE yapısındaki antikorları üretebilmektedir. İzotip dönüşüm için

dört sinyal gerekmektedir. İlk sinyal C_H gen transkripsiyonunda rol oynayan IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 sitokinleriyle olmaktadır. T hücre aracılıklı antikor cevabı söz konusu olduğunda aktive T lenfositlerde eksprese olan CD40L (CD154) ile B lenfosit yüzeyinde bulunan CD40 molekülü arasında etkileşim ikinci sinyaldir. Kostimülatör ICOS (inducible costimulator)-ICOS-L etkileşimi gerekli üçüncü sinyali oluşturmaktadır. Dördüncü sinyal ise tümör nekrozis faktör süper ailesi (TNF) üyelerinden BAFF (B cell activating factor) ve APRIL'in (a proliferation-inducing ligand) reseptörleri BCMA (B cell maturation antigen), BAFF-R (B cell activating factor receptor) ve TACI ile etkileşimleridir. BAFF ve APRIL monosit, makrofaj ve dendritik hücrede eksprese olurken, BAFF ayrıca nötrofilde, APRIL ise aktive T lenfositte de eksprese olmaktadır. Her ikisi de, homotrimer hem de heteromer yapısında olup, tip II membran proteini olarak eksprese olur. BAFF, B lenfosit yüzeyinde BAFF-R, BCMA ve TACI'ye bağlanırken, APRIL, TACI, BCMA ve membran proteoglikanlarına bağlanabilmektedir. BAFF ve BAFF-R izotip dönüşümün yanı sıra, matur folliküler B lenfositin yaşamının sürdürülmesinde önemli rol oynamaktadır. Diğer bir BAFF reseptörü olan BCMA ise kemik iliğindeki uzun ömürlü plazma hücrelerinin yaşamlarını sürdürmesi için gereklidir. İzotip dönüşümde rol oynayan sinyallerden; öncelikle, ICOS'un ICOS-L ile etkileşimi, BAFF ve APRIL'in reseptörü TACI ile etkileşimindeki bazı defektlerin, CVID ve/veya IgA eksikliği kliniğine yol açtığı düşünülmektedir.

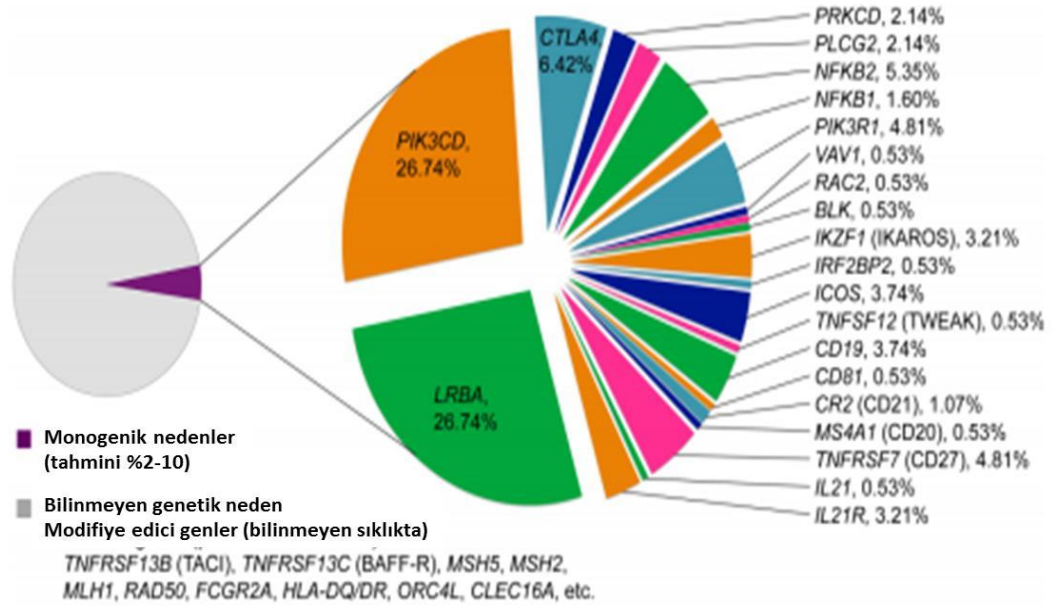
2.5.4. Genetik

YDİY hastalarındaki devam eden yoğun araştırmalar genetik defektleri aydınlatmaya yönelik olarak hızla devam etmektedir. Yaygın değişken immün yetmezlik hastalığında vakaların çoğu sporadik olarak görülmektedir [80]. Şu ana kadar hastalıkta monogenik neden %2-10 arasında saptanabilmiştir[81]. Yeni nesil dizileme adı verilen genetik tanı testleri sayesinde hastalıkta son yıllarda birçok yeni gen saptanmıştır. Hastalıkta sık görülen çeşitli defektler ve sıklıkları ile Şekil 2.10'da [66] tanımlanma tarihleri ve kalıtım şekilleri ile Tablo 2.6'da [65] gösterilmiştir.

Tablo 2.6 YDİY nedeni olarak saptanan çeşitli genetik defektler[65]

Gen defekti	Yıl	Defektif molekül, görevi	Kalıtım
<i>ICOS</i>	2002	Mutation in <i>ICOS</i> (inducible co-stimulator), expressed on T cells	AR
<i>TACI</i>	2005	Mutations in <i>TNFRSF13B</i> , a receptor for BAFF and APRIL	AD /AR or complex
<i>CD19</i>	2006	Mutation in <i>CD19</i> , involved in BCR signaling	AR
<i>CXCR4 (GOF)</i>	2008	WHIM syndrome, mutation in <i>CXCR4</i> , the receptor for <i>CXCL12</i>	AD
<i>BAFFR</i>	2009	Mutations in <i>TNFRSF13C</i> , receptor for <i>BAFF</i>	AR
<i>CD20</i>	2010	Mutations in <i>CD20</i> , involved in B cell development & plasma cell differentiation	AR
<i>CD81</i>	2010	Mutations in <i>CD81</i> , involved in BCR signaling	AR
<i>CD21</i>	2012	Mutations in <i>CD21</i> (Complement receptor 2), involved in BCR signaling with <i>CD19</i>	AR
<i>LRBA</i>	2012	Mutation in <i>LRBA</i> (Lipopolysaccharide responsive beige-like anchor protein)	AR
<i>NFKB2</i>	2013	Mutations in <i>NFKB2</i> , component of the non-canonical NFκB pathway	AD
<i>TWEAK</i>	2013	Mutation in <i>TWEAK</i>	AD

GOF, fonksiyon kazanımı; AR, otozomal resesif; AD, otozomal dominant



Şekil 2.10 YDIY nedeni olarak saptanan monogenik genetik defektler [66]

Tablo'da görülen genetik defektlerden en sık görüleni ve araştırmamızın konusu olan LRBA Defekti aşağıda özetlenmiştir :

2.5.5 Lipopolysaccharide Responsive Beige-like Anchor protein (LRBA) Defekti

ICOS ve TACI dışında YDIY'in ortaya çıkışına neden olan genetik defektlerin bir kısmı yeni yeni tanımlanmaktadır. Aday gen taramaları ile 2012 yılından sonra YDIY ile ilişkili olabileceği düşünülen bir gen tanımlanmıştır. Bu gen LRBA

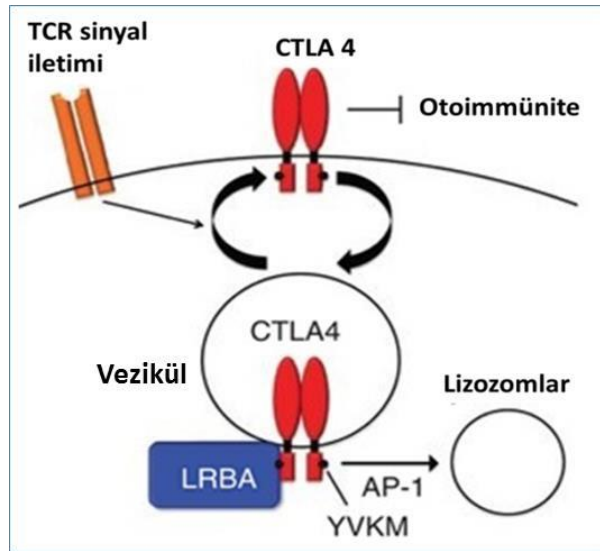
(Lipopolysaccharide Responsive Beige-like Anchor protein) genidir. LRBA geni, 4. kromozomunda yer alır, 58 ekzonu olan en büyük hücre içi proteinlerden biri olan LRBA proteinini kodlar [82]. LRBA eksikliği, LRBA geninde biallelik fonksiyon kaybı mutasyonlarından kaynaklanır. LRBA fonksiyon kaybı mutasyonları olan hastalarda LRBA proteinini azdır veya yoktur. LRBA proteini, "beige ve CHS" veya BEACH etki alanını (domain) izleyen tekrarlanan WD40 etki alanları (domain)'nin karboksi terminalinde bulunduğu ayrı bir protein alt-ailesine dahildir. Bu BEACH içeren proteinlerin, hücre içi veziküllerin trafiğini düzenlediği, lizozom ile ilişkili organel büyüklüğü ve taşınması ile ilgili olduğu bulunmuştur. WD40 protein-protein ve DNA-protein etkileşiminde önemli bir domaindir. Böylelikle, sinyal iletimi, veziküler trafik, hücre iskeletinin yapısı, hücre döngüsü, apoptozis, kromatin dinamikleri ve transkripsiyonel düzenlemede önemli görevleri olduğu bilinmektedir [82].

2015 yılında Lenardo ve ark.'nın çalışması ile LRBA'nın (Resim 2.11 ve Resim 2.12) sitotoksik T lenfosit-ilişkili protein 4'ün (CTLA4) ekspresyonunda, fonksiyonunda ve trafiğinde önemli bir immün düzenleyici rol oynadığı bildirilmiştir. CTLA4, bağışıklık yanıtı için inhibitör kontrol noktası görevi gören bir moleküldür. CTLA4, T hücresi reseptör uyarımından sonra salınan ve hücre yüzeyine mobilize olan regülatör T hücrelerinin (Treg'ler) hücre içi veziküllerinde (endozomlar) bulunur. LRBA proteini eksikliğinin, post-translasyonel CTLA4 ekspresyonunu ciddi şekilde bozduğu varsayılmaktadır, zira hastalarda CTLA4 proteininin yüzey ekspresyonu normalden anlamlı derecede düşüktür. Normal hücrelerdeki LRBA geninin susturulması da CTLA4 proteininin posttranslasyonel olarak kaybına yol açar. İmmünopresipitasyon çalışmaları, LRBA'nın CTLA4'ün sitoplazmik kuyruğuna bağlandığını; daha sonra onun yıkım için lizozoma gidişini engelleyerek yıkımını engellediğini ve düzenlediğini göstermiştir

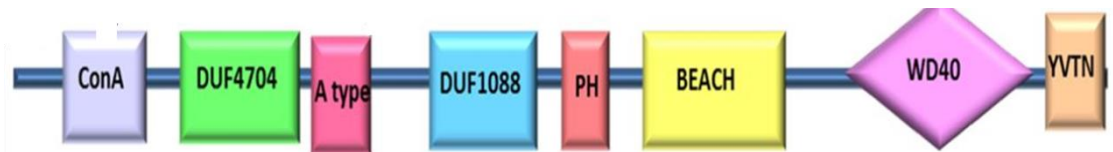
LRBA birçok dokuda eksprese edilmektedir, ancak T ve B hücrelerinde daha yüksek düzeyde eksprese edilmektedir. LRBA'nın homozigot mutasyonları B hücrelerinde, otofajinin azalmasına ve bunun sonucunda organellerde anormal akümülyasyona neden olmaktadır. Bu durum B hücrelerinin apoptozise duyarlı olmasını sağlamaktadır. Otoimmün hastalıklarda otofaji ve apoptozisin defektif

olduğu bildirilmektedir. LRBA otoimmüniteye sebebiyet veren X'e bağlı miyopatide de önemli rol oynamaktadır [83].

LRBA gen defektleri, ağır hipogamaglobulinemi ve otoimmünitenin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [82]. Ayrıca, YDİY tablosu ile kronik diareye neden olan inflamatuvar bağırsak hastalığı ve otoimmün sitopeni ile karakterize olan yeni tanımlanmış bir kombine immün yetmezlik hastasında da LRBA'nın "null" mutasyonları saptanmıştır [7]. Bundan başka, hipogamaglobulinemisi bulunmayan ancak otoimmünite gösteren Pakistanlı bir hastada LRBA gen delesyonu tespit edilmiştir [84].



Resim 2.11 . LRBA ve CTLA-4 ilişkisi



Resim 2.12 LRBA proteini etki alanları (domain)

2.5.6. Klinik Bulgular

Enfeksiyonlar

YDİY hastalarında sinopulmoner enfeksiyonlar bu hastalığın spektrumundaki en sık görülen klinik bulgulardan olup [85], ABD'de yayınlanan serilerden birinde

hastaların tamamına yakınında tekrarlayan bronşit, sinüzit, otit ve hastaların üçte ikisinde pnömoni saptanmıştır [45]. Yine İngiltere'den yayınlanan seride hastaların %75-90'ının üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu bulgularıyla başvurduğu belirtilmiştir [44]. Özellikle *Hemophilus influenza* (kapsülsüz suşları), *Streptococcus pneumoniae* ve *Moraxella catharralis* gibi bakterilerin neden olduğu sinüzit, otitis media, bronşit ve pnömoni gibi solunum yolu enfeksiyonu etkenlerine ek olarak çocuklarda *Bordetella pertussis* enfeksiyonu da önemli bir neden olarak karşımıza çıkmaktadır [86]. Pediatrik popülasyonda farklı olarak sinüzit en sık görülen başlangıç bulgusudur, otitis media ve pnömoni sonrasında gelir [87].

YDİY tanılı hastalar hayatlarında en az bir kere pnömoni geçirmektedir [65]. YDİY hastaları; pnömoni ve artrite neden olan *Mycoplasma pneumoniae*, tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *Mycoplasma hominis* ve *Ureoplasma urealyticum*, meningoensefalit ve dermatomiyozite neden olan enterovirüsler, gastrointestinal enfeksiyonlara neden olan *Salmonella* türleri, *Campylobacter jejuni*, *rotavirus*, *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia*, *E. Coli* gibi mikroorganizmalara karşı da hassastırlar [67]. Ayrıca *Pneumocystis jiroveci* ve atipik mikobakterilerin, *Herpes zoster*, *Human papilloma virüs*, *Candidiasis*, *Toxoplasmosis* ve *Cytomegalovirus*'ün neden olduğu fırsatçı enfeksiyonlar nadir olmakla birlikte görülebilirler [88]. YDİY'li hastalarda enfeksiyon etkenleri enfeksiyon tipleri ve enfeksiyon etkenleri Tablo 2.6'da verilmiştir.

Hastaların yaklaşık %40'ında rekürren ve kronik diyare görülmektedir [65]. Hastaların bir kısmında tekrarlayan ishal ve malabsorbsiyon ile karakterize, gastrointestinal sistem *Giardia lamblia*, *Salmonella* ve *Campylobacter jejuni* enfeksiyonları görülmektedir. Çocukluk çağı YDİY'li hastalarda tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar ve gastrointestinal semptomlar büyüme ve gelişme geriliğinin en önemli sebebidir.

Tablo 2.6 YDİY'li hastalarda enfeksiyon etkenleri enfeksiyon tipleri ve enfeksiyon etkenleri

Enfeksiyon tipi	Etken
Sinüzit, otit	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catharralis</i>
Bronşit	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catharralis</i>
Pnömoni	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catharralis</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Menenjit	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> Enterovirus (ECHO)
Sepsis	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Artrit	<i>Mycoplasma</i> suşları
Gastrointestinal sistem	<i>Giardia lamblia</i> <i>Salmonella</i>

Mycobacterium tuberculosis veya atipik mikobakteriler ile enfeksiyonlar ve/veya reaktivasyon veya *Pneumocytis jirovecii* pnömonisi gibi fırsatçı enfeksiyonlar bu hastalarda çok nadir görülmektedir. Sıklıkla CD4+ T hücre lenfopenisi olan veya YDİY tanısı konulamayıp immünsupresif alan hastalarda iyatrojenik olarak geliştiği gözlenmiştir. Nadiren *Herpes zoster* epizodları, patojenik olmayan *Mycoplasma* suşlarının neden olduğu artrit ve üriner sistem enfeksiyonları, özellikle echovirus ile gelişen santral sinir sistemi enteroviral enfeksiyonları da bildirilmiştir.

Pulmoner komplikasyonlar

Akciğerleri inhale edilen partiküllerden ve organizmalardan koruma mekanizmalarından biri olan hümmoral immünitenin en belirgin ürünlerinden IgG ve doğal immünitenin en belirgin sekreteruar rolü olan ürünü IgA'nın eksiklikleri patogeneizde rol oynamaktadır. Yine YDİY hastalarındaki düşük sayıdaki IgM hafıza memory hücre ve antipnömokok polisakkarit IgM antikor sayılarının düşüklüğü tekrarlayan pnömoni ve bronşiektazi gelişimi riskini artırmakta olduğu bilinmektedir. Üst solunum yollarındaki tekrarlayan enfeksiyonlar sonucu kronik sinüzit, işitme kaybı, alt solunum yollarındaki tekrarlayan enfeksiyonlar sonucu da bronş duvarında

kalınlaşma, bronşiektazi, parankimal ve interstisiyel lezyonlar, lenfoproliferatif hastalıklar, solunum yetmezliği ve erişkinlerde kor pulmonale ile sonuçlanır ki, bronşiektazi YDİY hastalarının en sık başlangıç bulgularından biridir [89]. Bronşiektazi ve bronş duvar kalınlığının YDİY hastalarındaki sıklığı %17-68 olarak [45], pulmoner komplikasyonların YDİY hastalarında tanı anındaki sıklığı ise %18-38 olarak belirtilmiştir [44]. YDİY hastalarının XLA hastaları ile karşılaştırıldığı yakın zamanda yayınlanan bir seride, HRCT (Yüksek Rezonanslı Bilgisayarlı Tomografi) ile saptanan bronşiektazi oranının YDİY hastalarında %47, XLA hastalarında ise %23 olduğu bildirilmiş ve bu farka da tanı için geçen sürenin uzamasının neden olduğu şeklinde yorumlanmıştır [90]. Diğer bir seride ise bronşiektazinin tekrarlayan orta şiddette akciğer enfeksiyonlarına nazaran, pnömoni/sepsis gibi ciddi geçirilmiş enfeksiyonlara bağlı geliştiği ifade edilmiş olup, bu veriler doğrultusunda geçirilen ciddi enfeksiyonlar sonucu akciğer yıkım sürecinin başladığı ve Ig G seviyelerindeki düşüklüğün, tanı konmasındaki gecikmenin, tanı sonrasındaki hastalık süresinin ve sigara içmenin tek başına bu süreçte rol oynamadığı belirtilmiştir [91]. YDİY hastalarında bronşiektazi ve akciğer fibrozisi gelişiminde mannoz bağlayıcı lektin polimorfizminin muhtemel etkileri olduğu da bilinmektedir [92]. Tedavi yöntemlerindeki gelişmeler sonrasında YDİY hastalarında sağkalım oranının daha önce yapılan çalışmalara göre tanı sonrasındaki 15 yıllık sağkalım oranı %25 iken, Chapel tarafından bu oran tanı sonrası 30 yıl için %25 olarak bildirilmiştir [91]. Yine aynı çalışmada başvuru anındaki bronşiektazi derecesinin hastaların sağkalım oranı ile korele olduğu belirtilmiştir. IgM memory B hücreleri ve/veya izotip dönüşümü olan memory B hücrelerinin seviyesinde düşüklük saptanan hastaların solunum yollarında sekel oluşması açısından yüksek riskli grup olduğu ortaya konmuştur [93]. Kronik ve tekrarlayan solunum sistemi enfeksiyonları akciğerlerde geri dönüşü olmayan değişikliklere yol açmakta, bronşiektazi, fibroz, amfizem gelişmektedir.

Hastalar kronik akciğer komplikasyonları açısından aralıklı olarak yüksek rezolüsyonlu tomografi ile izlenmelidir. Pulmoner komplikasyonları saptamak için kullanılacak görüntü teknikleri karşılaştırıldığında HRCT'nin en sensitif metod olduğu belirtilmiş [94], ancak YDİY hastalarının artmış radyosensitiviteye sahip olmasının da bilinmesi nedeniyle düşük dozda uygulanması gerektiği özellikle belirtilmiştir [95]. Kronik akciğer hastalığı YDİY'li hastaların en önemli mortalite ve morbidite

sebebidir. Dolayısıyla hastalığın erken dönemde tanısı ve takibi, uzun dönemde gelişebilecek komplikasyonları önlemede önemlidir.

Granümatöz ve lenfositik interstisyel akciğer hastalıklar

Hastaların yaklaşık %10-30'unda kötü prognoz ile ilişkili olan granümatöz ve lenfositik interstisyel akciğer hastalığı (GLILD) difüz parankimal akciğer hastalığı klinik bulguları görülmektedir [65]. Akciğerlerde human herpes virüs tip 8, gastrointestinal sistemde sitomegalovirüse bağlı kronik viral enfeksiyonlar sonucunda granümatöz lezyonların oluştuğu görüşleri şu an itibarıyla varolsa da etyolojik açıdan hala net bilgiler bulunmamaktadır [96].

YDİY hastalarında komplikasyon sonucu ortaya çıkan enfeksiyöz olmayan difüz akciğer hastalıkları granümatöz lezyonlar dışında lenfositik interstisyel pnömoni (LIP), lenfoid hiperplazi, foliküler bronşit/bronşiolit, lenfoma gibi lenfoproliferatif özellikler taşıyabilirler. Histopatolojik olarak hem granümatöz hem de lenfoproliferatif patern taşıyan bu lezyonlar granümatöz lenfositik interstisyel akciğer hastalığı (GLILD) olarak tanımlanmıştır. Granümatöz lezyonların tedavisinde düşük doz oral kortikosteroidler T hücre infiltrasyonunu tersine çevirse de post-mortem çalışmalar bu tedaviyi alan hastaların akciğerlerinde son dönem fibrozisin geliştiğini göstermektedir [71]. Bu konu her ne kadar tartışmalı ise de steroid tedavisi uluslararası kabul görmüş olan ilk basamak tedavi seçeneği olarak yerini korumaktadır [97]. Her ne kadar son dönemlerde azotiyopürin, 6-merkaptopürin, siklosporin A, mikofenolat mofetil, metotreksat, hidroksiklorokin, anti-TNF antagonistler gibi ajanlar kullanılmaya başlansa da lezyona sahip olan hastaların azlığı bu çalışmalarda güvenilirliği azaltmaktadır [71]. Radyolojik olarak ayıramadığımız, her zaman doku tanısı gerektiren bu lezyonların varlığı da sağkalımı belirgin derecede azaltmaktadır [98].

Otoimmün Hastalıklar:

Hastaların yaklaşık %20-30'unda tanı sırasında veya izlemde bir veya daha fazla otoimmün fenomen ve/veya otoimmün hastalık bulunabilmektedir [65]. Hastalığa eşlik eden otoimmün bulgular Tablo 2.7'de özetlenmiştir. Birlikteliği erken dönemde mortaliteyi artırmaktadır. En sık görülen otoimmün hastalık idiopatik

trombositopenik purpura ve otoimmün hemolitik anemi, daha nadir olarak otoimmün nütropeni olup tüm YDİY'li hastaların %5-8'inde görülmektedir. Sitopeni oranı erkeklerde kadınlara göre iki kat daha fazladır. Bazı YDİY'li hastalarda otoimmün trombositopeni, antikor eksikliği kliniği ortaya çıkmadan önce görülebilmekte ve hastalar daha sonra YDİY tanısı alabilmektedir. Otoimmün trombositopeninin, yayımlanan bir seride hipogamaglobulinemisi olan hastaların %62'sinde geliştiği bildirilmiştir [99]. Bu nedenle ki, otoimmün trombositopeni saptanan hastaların ayırıcı tanısında YDİY muhakkak düşünülmelidir. Yine aynı çalışmada immünoglobulin replasman tedavisi trombositopeni gelişimini önlememekte, standart tedavi olarak, steroid tedavisi ve splenektomi etkin görülmektedir [100].

Ayrıca pernisiyöz anemi, sistemik lupus eritematozus, juvenil idiyopatik artrit, Sjögren sendromu, Hashimoto tiroiditi, tip I diyabet ve vitiligo diğer görülen otoimmün hastalıklardır. Otoimmün hastalıklar kadınlarda ve granülomatoz hastalığın eşlik ettiği vakalarda daha sık görülmektedir. Serum IgM seviyesi yüksek olan hastalarda, otoimmün hastalıkların daha sık geliştiği gösterilmiştir. Ayrıca TACI (*Transmembran activator and calcium-modulator and cyclophilin ligand interactor*) mutasyonu olan hastalarda da otoimmün hastalıklar sık görülmektedir.

Diğer otoimmün durumlardan romatoid artrit, juvenil romatoid artrit, insülin bağımlı diyabet, hipertroidizm, diskoid lupus, psöriazis, sicca sendromu, üveit, pernisiyöz anemi ve serum lupus eritematozus gibi hastalıklar da vakalarda tanımlanmışsa da topluma göre artmış bir sıklık bildirilmemiştir [101].

Tablo 2.7 YDİY hastalığında görülen otoimmün hastalıklar [65]

Hematolojik	Romatolojik
Otoimmün hemolitik anemi	Sjögren Sendromu
Pernisiyöz anemi	Sistemik lupus eritematozus
Otoimmün trombositopeni	Seronegatif romatoid artrit
Otoimmün nötrojeni	Kronik juvenil romatoid artrit
Evans Sendromu	Vaskülit
Gastrointestinal	Endokrin
Atrofik gastrit	Hashimoto tiroiditi
Çölyak hastalığı	Tip I diabetes mellitus
Primer biliyer siroz	Addison hastalığı
İnflamatuvar barsak hastalığı	Dermatolojik
Nörolojik	Vitiligo
Guillain Barre Sendromu	Alopesi

Gastrointestinal Hastalıklar

Gastrointestinal hastalıklar YDİY’li hastaların yaklaşık %20-60’ında görülür. En sık klinik prezentasyon şekli malabsorbsiyonun eşlik ettiği kronik ishaldir. Kronik malabsorbsiyon ile ilişkili olarak steatore, laktöz intoleransı, jeneralize disakkaridaz eksikliği, protein kaybettiren enteropati görülebilir. İnflamatuvar barsak hastalığı sıklığı da bu hastalarda artmıştır. Bazı hastalar enflamatuvar barsak hastalığı kliniği ile başvurabilmektedir, bu klinik tablo ‘YDİY ilişkili kolit’ olarak adlandırılır. Histolojik olarak kript-destrüktif kolit (ülseratif kolit, Crohn hastalığı), non-kript-destrüktif kolit (lenfositik kolit, kollajenöz kolit) ve graft versus host hastalığına benzer özellikler gösteren kolit şeklinde sınıflandırılmaktadır. *Helicobacter pylori* ile aktif kronik gastrit ve gastrik metaplazi de bu hastalarda görülebilmektedir.

Helicobacter pylori enfeksiyonu YDİY hastalarında sıklıkla bulunmaktadır ve bu hastalarda yüksek sıklıkta rastlanan kronik gastritin en büyük nedenlerindedir [102]. YDİY hastalarının yaklaşık %20’sinde enfeksiyöz etkenler haricinde gelişen gastrointestinal şikayetler mevcuttur. Enteropatiye bağlı şikayetler karında şişlik, ishalden şiddetli ishal, malabsorbsiyon ve kilo kaybına kadar şiddetlenebilir. YDİY hastalarında gastrointestinal inflamasyon bulgularına asemptomatik hastalarda rastlanılmakta, ishal sıklığı zamanla birlikte bu hastalarda artmakta ve bu da

göstermektedir ki enteropati YDİY zemininde ilerleyici olarak devam etmektedir. Başlangıçta, hastalardaki sık sulu ishale eşlik eden sistemik bulgular yoktur. İki tipte enteropati tanımlanmış olup biri öncelikle kolonu, diğeri de öncelikle ince barsağı etkilemektedir [103]. İnce barsağı etkileyen tip daha şiddetli seyredir, çünkü malabsorbsiyon ve kilo kaybı belirgindir. İntestinal granümatöz hastalıklar, intestinal parazitik, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, Crohn hastalığı, çöliak hastalığı ve intestinal lenfanjiyektazi YDİY hastalarında görülebilen diğer tanılardandır. İleum bu hastalarda sıklıkla tutulmuş olduğundan ve striktürler gelişebildiğinden, bazen Crohn hastalığı olarak değerlendirilebilir. İnce barsak biopsisinde villüs atrofi, kript hiperplazisi gibi çöliak hastalığına benzer bulgular görülebilese de, glutensiz diyetten asla fayda görmezler. Enteropatisi olan hastalarda budenosid ve steroid tedavisine yanıt alınabilir ancak dirençli vakalarda ise rituximab, mesalazine tedavisi denenmektedir.

Granümatöz Hastalıklar

Çeşitli ülkelerde yapılan kohort çalışmalarda farklı sonuçlar alınsa da hastaların yaklaşık %8-12'sinde granümatöz hastalık gelişmektedir ve önemli bir mortalite ve morbidite sebebidir. Multisistemik granülomlar YDİY hastalarında mortalite ve morbiditeyi artıran ve en iyi gösterilebilen nedenlerdendir; ilk sırada akciğerler, lenf nodları ve dalak olmak üzere, karaciğer, deri, kemik iliği, böbrekler, gastrointestinal sistem ve beyini de tutabilirler [104]. YDİY hastalarının yaklaşık %10-22'sini etkileyebilir ve başlangıç yaşı ortalama 18-34 yıldır [98]. Granülomlar daha çok erişkinlerde görülse de çocukluk yaş grubunun yaklaşık üçte birinde ortaya çıkmaktadır. YDİY hastalarında kazeifiye olmayan granülomlar histolojik olarak sarkoidoza benzemektedir ve bazı hastalarda anjiyotensin dönüştürücü enzim konsantrasyonları yüksek bulunabilmektedir [105].

Granümatöz hastalık, histopatolojik inceleme ile kazeifikasyon nekrozunun görülmediği, sarkoidoza benzer lezyonlar olarak tarif edilmiştir. T hücre defekti, splenomegali, otoimmün hastalığı olan hastalarda granülomlar daha sık görülmektedir. Histopatolojik inceleme ile granülomların, mikobakteri veya fungal granülomlardan ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Granümatöz hastalığın etyopatogenezi henüz tam olarak bilinmemektedir.

Lenfoproliferatif Komplikasyonlar ve Malignite

YDİY’li hastalarda malign olmayan lenfoproliferasyon, splenomegali, lenfadenopati ve ince barsak, mide ve kolonda nodüler lenfoid hiperplazi ile kendini göstermektedir. Nodüler lenfoid hiperplazi intestinal sistemde giardia veya diğer enfeksiyöz etkenlerle ilişkili olduğu düşünülen, histopatolojik incelemede lamina propriyada germinal merkezleri geniş lenfoid folliküler ile karakterizedir. Endoskopik incelemede bu geniş lenfoid agregatlar noduler ya da polipoid görünüme sebep olmaktadır. Nodüler lenfoid hiperplazisi olan hastalarda maligniteye yatkınlık da artmıştır.

Lenfoproliferatif infiltrasyon YDİY hastalarında sık olmakla birlikte, dalakta ve lenf nodlarında en sık olmak üzere karaciğer veya böbrek gibi diğer organlarda da tutulum gösterip lenfoid hiperplaziye neden olur [106]. Bu lenfoid doku değişikliği poliklonal olduğundan malignite potansiyeli de taşımaktadır. Splenomegali, YDİY hastalarında %30 sıklıkta olup, hepatomegali, infiltrasyon, sitopeni ve dirençli enfeksiyonlara karşı aşırı makrofaj aktivasyonu nedeniyle oluşabilmektedir. Hepatomegali ise enfeksiyon ve alkol gibi ekstrinsik ajanlardan başka, otoimmün kaynaklı veya metastaza bağlı gelişebilmektedir. Poliklonal lenfositik infiltrasyonu olan YDİY’li hastalarda lenfoid malignite gelişme riski beş kat artmıştır.

Primer immün yetmezlikli hastalarda maligniteler özellikle de malign lenfomalar olmak üzere hematolojik ve solid tümörler sıklıkla görülmektedir. Bir çok çalışmada lenfoma ve gastrik adenokanserin en sık görülen kanser türü olduğu gösterilmiştir. YDİY hastalarında özellikle gastrik kanser ve non-Hodgkin lenfoma sıklığı sırayla 16 ve 18 kat artmaktadır [102]. Kolorektal kanser, multiple myeloma, meme, over kanseri, Waldenstrom makroglobulinemisi de çalışma gruplarındaki hasta sayılarının az olması nedeniyle topluma oranla gerçek bir artışı yansıttığını kabul etmek açısından tartışmalı da olsa görülebilmektedirler. Lenfomalar genelde B hücre kaynaklı olup, çoğu vakada B hücreler iyi diferansiye ve EBV negatif olarak bulunmaktadır [107]. Genellikle 6 ve 7. dekatlarda görülse de genç vakalar rapor edilmektedir. Lenfomaların tamamına yakını ektranodal yerleşimli olup, mukozal bölgelere yerleşmektedir [108]. Kadınlardaki sıklığının erkeklerdekine nazaran belirgin olduğuna bazı çalışmalarda dikkat çekilmiştir [109].

2.5.7. Laboratuvar Bulguları

Serum immünglobulin düzeylerinin ölçümü çalışılan metoda, ırka, cinse ve yaşa göre değişiklik gösterdiğinden, her yaş grubu için, normal aralıklar olarak tanımlanan 97,5 persentil (2 SD) üzerindeki değerler belirlenmiştir. YDİY için serum Ig G düzeyinin o yaş grubu için minimum seviyesinin, yani normale göre 2,5 persentil altındaki dilimde veya ortalama yaşa göre normal değer 2 SD altında olması gerektiği bildirilmiştir. Ig G seviyelerindeki bu geniş aralığın olmasına rağmen hastaların büyük kısmının tanı aldıkları andaki Ig G düzeylerinin <4,5 g/l olduğu gösterilmiştir [45, 91]. Bu bilgiye göre YDİY tanısından dışlanan düşük orandaki hasta popülasyonunu 'Olası YDİY' olarak sınıflandırmak mümkün olmuştur. Ig M düzeyleri de düşük veya yüksek seyrederek değişkenlik göstermektedir. Tanı anındaki Ig M düzeyleri, prognozu belirlemede ayrı bir öneme sahiptir. Artmış orandaki Ig M düzeyleri ile poliklonal lenfositik infiltrasyon veya lenfoid malignite gelişme ihtimali arasında anlamlı bir korelasyon gösterilmiştir ki bu ilişki hiper Ig-M sendromunda da mevcut bulunmuştur [91]. YDİY hastalarının B hücre sayıları da yüksek oranda değişkenlik göstermektedir, yaklaşık %12'sinde B hücre saptanmamış, %12'sinde azalmış, %54 hastada normal aralıkta, %19 hastada hafif artmış, %5 hastada belirgin oranda artmış B hücre sayıları saptanmıştır[91]. YDİY hastalarının, en göze çarpan özelliklerden bir tanesi, diğer uluslararası sınıflandırmalarda belirtildiği gibi IUIS (International Union of Immunological Societies) tanımına da dahil olan, bilinen ajana yönelik bağışıklama sonrası antikor üretiminde yetersizliktir [110]. Bu değerlendirmeyi yaparken de aşılardaki immünojenlerin bir hiyerarşisinin olduğu anlaşılmıştır, örneğin tetanoz toksoidi, kızamık ve su çiçeği aşılı güçlü immünojeniteye sahipken, difteri toksoidi göreceli olarak daha zayıf yapıdadır [111]. Antikor üretimi için kabul edilen minimum kriter, 2 veya daha fazla protein antijeniyle aşılama sonrası yeterli koruyucu spesifik Ig G düzeylerinin gösterilmesi olarak kabul edilmiştir [112]. Yine YDİY hastalarında tanı için gösterilmesi gerekli unsurlardan biri enfeksiyon belirtileridir. Serum immünglobulin seviyeleri düşük olan hastaların büyük çoğunluğu tekrarlayan akut, olağandışı, dirençli veya ciddi enfeksiyonlar geçirmiş olsa da, belirgin derecede düşük serum immünglobulin seviyesine sahip hastaların yaklaşık %10'unda enfeksiyonlar görülmeyebilir. Bu hastalar idiyopatik trombositopenik purpura, otoimmün hemolitik anemi, sarkoidoz benzeri Tablo, minör enfeksiyonlarla

veya enfeksiyonlar olmadan seyredebilirler. Benzer grup hastada önemli olan spesifik antikor yanıtlarını kontrol edebilmek ve antikor üretimi olan hastaları immünglobulin tedavisine gerek olmadığından diğerlerinden ayırtedebilmektir.

Serum immünglobulin seviyeleri agamglobulinemili hastalardan daha yüksek olmakla birlikte, IgG seviyesi nadiren 300 mg/dl'yi geçer. Serum IgG düşüklüğüne genellikle serum IgA ve IgM düşüklüğü eşlik eder. Protein ve polisakkarit yapıdaki antijenlere karşı, antikor yapımı bozuktur. İzohemaglutinin titreleri ve spesifik antikor düzeyleri çok düşük veya yoktur. Periferik kan lenfosit alt grupları genellikle normaldir. Ancak hastaların bir kısmında CD4⁺T hücre sayısında düşüklük, CD8⁺T hücre sayısında düşüklük veya yükseklik, T lenfositlerin in vitro mitojen ve antijenlere proliferatif cevabında azalma bulunabilmektedir. Total B lenfosit sayısı çoğu YDİY'li hastada normal olmasına karşın bir kısım hastada düşük veya yüksek olabilmektedir. En önemli B lenfosit bulgusu izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre (IgM⁻, IgD⁻, CD27⁺) sayısının düşük oluşudur.

Sık görülen değişken immün yetmezlik hastaları klinik özelliklerine, T hücre fenotiplerine ve B hücre fenotiplerine göre sınıflandırılarak patogenez, klinik özellikler ve prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Bu sınıflandırmaların günümüzde en sık kullanılanı B hücre alt gruplarına göre yapılan sınıflandırmadır. B lenfosit alt gruplarına göre, 2002'de Freiburg, 2003'de Paris ve 2008'de EURO ('European consensus classification for CVID') sınıflamaları oluşturulmuştur. Bu sınıflamaların en detaylısı 2008'de Avrupa'dan sekiz merkezin katıldığı EURO sınıflamasıdır. Bu sınıflamada en göze çarpan bulgu, hastaların çoğunluğunda 'switch memory' B hücre (IgM⁻, IgD⁻, CD27⁺) sayısının düşük (hastaların %58'inde düşük bulunmuş, %3.3'ünde hiç tespit edilememiştir) olmasıdır. Ayrıca Ig M⁻CD38⁺⁺⁺ 'class-switch memory' plasmoblast sayısı da hastalarda belirgin olarak düşük saptanmıştır. Switch memory B hücre sayısı düşük ve CD21^{low} B hücre sayısı yüksek olan grupta splenomegali ve granülomatoz hastalık anlamlı oranda yüksek tespit edilmiştir. Ayrıca switch memory B hücresi olmayıp, tranzisyonel B lenfositleri (IgM⁺ CD38^{hi}) yüksek olan hastalarda lenfadenopati daha sık görülmüştür. Ancak bu klasifikasyon sisteminde otoimmünite ile gruplar arasında ilişki saptanmamıştır. Çocukluk çağı

YDİY'li hastalarda switch memory B lenfosit sayısının erişkinlerden daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

2.5.8. Tanıda Kullanılan Genetik Testler

Hastanın klinik durumuna göre saptanan aday genlerde klasik yöntemlerle dizileme yapılması en temel yaklaşımdır. Klasik Sanger dizileme çalışması için genomik DNA'nın izolasyonu ve amplifikasyonu gerekmektedir.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu Kary Mullis tarafından 1985 yılında geliştirilen, DNA'nın belirli bir bölgesinin in-vitro olarak çoğaltılması esasına dayanan, hızlı ve basit bir yöntemdir [113]. Belirli miktarda DNA'nın tüp içinde gerçekleşen 3 basamaktan oluşan reaksiyonu sözkonusudur. Belirlenen DNA alanının çoğaltılması için, o bölgeye karşılık gelen bir çift oligonükleotid olan primer dizisi ve bu primerden sentezi sağlayan DNA polimeraz enzimi gerekmektedir. Reaksiyonlarda *Thermus aquaticus* bakterisinden sağlanan ısıya dayanıklı Taq polimeraz enzimi kullanılır. Polimeraz zincir reaksiyonun birinci basamağı denatürasyon basamağı olup, bu basamak 95 °C' de DNA çift sarmalının açılmasıdır. Daha sonra karşılık gelen tamamlayıcı dizinin DNA'nın belirlenen bölgesi ile bağlanması sağlanır. Bu ikinci basamak primer yapısına göre farklı sıcaklıkta gerçekleşir (annealing). Üçüncü basamakta Taq polimerazın primer diziden başlayarak DNA sentezi yapması, belirlenen bölgeyi uzatmasından oluşur (elongation). Uzatma işlemi 70-75°C'ta gerçekleşir. Taq polimeraz için bu değer 72 °C'dir [114, 115].

DNA Dizi Analizi

DNA dizi analizi bir DNA parçasındaki nükleotid dizilerinin belirlenmesini sağlayan yöntemdir. İki farklı grup tarafından geliştirilmiştir. DNA'nın kimyasal modifikasyonu ve enzimatik olarak bazların kesilmesi esasına dayanır [116]. Sanger tarafından geliştirilen metotta ise zincir sonlandırma yöntemi kullanılmaktadır [117]. Sanger dizileme yöntemi bugün tüm dünyada tercih edilen modeldir. Bu yöntem DNA polimeraz reaksiyonunun zincir sonlandırıcı 3'OH grubuna sahip olmayan dideoksinükleotidlerin (ddNTP) eklenmesiyle sonlandırılmasına dayanır. DNA

sentezi radyoizotop ile işaretlenmiş primerler kullanılarak bir uçtan başlatılır, her bir sentez için 4 ayrı baz içeren (A,C,G,T) ddNTP'lerle, her bir baz için 4 farklı reaksiyon gerçekleşir. DNA sentezi ilerlerken bir ddNTP'nin senteze katılmasıyla reaksiyon durur. Sonuçta her bir reaksiyonda reaksiyonu durduran ddNTP ile sonlanan, bir dizi farklı büyüklükte işaretli DNA parçacığı oluşur. Jel elektroforezi ile oluşan parçacıklar birbirinden ayrılır ve görüntülenir. Dizi analizlerinde günümüzde radyoaktif parçalar yerine floresan boyalarla işaretlenmiş primerler kullanılmakta, otomatik sistemler ile görüntü alınmaktadır.

Genetik Haritalama

Aynı kromozomda bulunan birbirine yakın allellerin mayoz bölünme sırasında birlikte aktarılması esas alınmaktadır. İki ayrı genin aktarılırken bağlantılı olup olmadığı bağlantı (linkage) analizi ile saptanmaktadır [118]. Bağlantı analizlerinin yapılabilmesi için aynı ailede aynı hastalıktan etkilenen birden çok kişi araştırılmalıdır. Bu yöntemde aday genin bulunduğu kromozomal bölge istatistiksel olarak saptandıktan sonra bu bölgedeki gen listesi belirlenmektedir. 2012 yılında LRBA gen defekti bu yöntem ile tanımlanmıştır [82]. 81 farklı genin bulunduğu kromozomal bölgenin saptanması ile hastalığın sorumlu gen bulunabilmiştir.

Otozomal resesif geçişli hastalıklarda, sorumlu genin bulunduğu bölgenin saptanması için homozigotluk haritalaması sıklıkla kullanılmaktadır [119]. Akraba evliliği olan ailelerin çocuklarında sorumlu genin aynı homozigot bölgede bulunma ihtimali oldukça yüksektir.

Yeni Nesil Dizileme

Yeni nesil dizileme yöntemlerinin geliştirilmesiyle [120] çok yüksek hacimde DNA dizileri değerlendirilebilmektedir. Tüm genom ve tüm ekzom dizileme nadir hastalıklara neden olan genetik defektlerin tanısında kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde temel, DNA'nın enzimatik reaksiyonlarla kesilmesi, çok sayıda DNA parçasıyla bir kütüphane oluşturulması, kütüphaneyi oluşturan DNA parçalarını amplifikasyona uygun hale getirmektir [121]. Günümüzde tüm dünyada Illumina, Pacific Bioscience gibi kuruluşların geliştirdiği yaygın olarak kullanılan farklı yeni nesil dizileme

platformları vardır. Bu farklı platformlar ile farklı dizileme yöntemleri kullanılarak yüksek verimli okuma yapılmaktadır.

Son zamanlarda, belirli sayıda genin hedeflendiği, belirli DNA bölgelerinin dizilemesini yapan ‘*targeting whole-exome*’ teknolojileri kullanılmaya başlamıştır. Bu yeni nesil teknolojilerde amplifikasyon sadece belirlenen bölgeler için gerçekleştirilmektedir. Özellikle nadir görülen primer immün yetmezlikler gibi hastalıklarda belirli sayıda geni içeren ‘hedef bölge’ temelli platformlar oluşturulmaktadır [122].

PRimer immün yetmezlik hastalıklarının tanısında yeni nesil moleküler tekniklerin kullanımı yeni genlerin tanımlanmasına olanak sağlamıştır.

2.5.9. Tedavi

Tedavide temel amaç, en önemli mortalite ve morbidite sebebi olan tekrarlayan enfeksiyonların önlenmesidir. Diğer primer antikor eksikliklerinde olduğu gibi IVIG, YDİY’li hastalarda da tedavinin temelini oluşturmaktadır. IVIG ile ciddi bakteriyel enfeksiyonlar ve pnömoni insidansı azalmakta, kronik akciğer hastalığı ve enteroviral meningoensefalit gelişimi önlenmektedir. IVIG, serum IgG seviyesi 5 g/l üzerinde tutmak üzere 3-4 haftada bir 300-400 mg/kg uygulanmaktadır. Haftada bir 100 mg/kg uygulanan subkütan immünglobulin, IVIG tedavisine alternatiftir. Akut enfeksiyonlar sırasında antibakteriyel tedavi, IVIG tedavisi yanı sıra amoksisilin, makrolid, kinolon veya kotrimoksazol profilaksisi, endikasyonu olan hastalarda önerilmektedir. Otoimmün bulguları olan hastalarda immünsüpresif tedaviler (steroid, siklosporin, anti TNF alfa, anti CD20) kullanılmaktadır. Granülomatoz hastalık da immünsüpresif tedavi ile kontrol altına alınabilmektedir. İmmünsüpresif tedavi sırasında özellikle fırsatçı enfeksiyonlara yatkınlık nedeniyle hastalar yakın takip edilmelidir. Son yayınlarda T hücre yetmezliği bulguları olan YDİY hastalarının da hematopoetik kök hücre nakli için aday olduğu belirtilmektedir. Ancak daha geç yaşta tanı almaları ve tanı alana kadar doku ve organ komplikasyonlarının gelişmiş olması kök hücre naklinde başarıyı azaltan faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır.

3. HASTALAR VE YÖNTEMLER

3.1 HASTALAR

Pediyatrik İmmünoloji Ünitesi'ne başvuran ve klinik olarak hipogamaglobulinemi ve otoimmünite ile seyreden YDİY hastalarında (Avrupa İmmün Yetmezlik Topluluğu (ESID) tanı kriterlerine göre tanı konulmuştur (Tablo 1)).

Tablo 3.1. Avrupa İmmün Yetmezlik Topluluğu (ESID) tanı kriterleri [123]

Muhtemel

IgG'de belirgin düşüklük (yaşın ortalamasının en az 2 SD altında) ve IgM veya IgA'dan en az birinde belirgin düşüklük olan aşağıdaki kriterlerin tümünü karşılayan erkek veya kadın hasta.

- 1) İmmün yetmezlik klinik bulgularının 2 yaşından sonra başlaması
- 2) İzohemaglutininlerin negatif olması ve/veya aşılara cevapsızlık
- 3) Tanımlanmış hipogamaglobulinemi nedenleri hariç tutulmuştur (aşağıda verilmiştir)

Mümkün

IgM, IgG ve IgA birinde belirgin düşüklük (yaş ortalamasının en az 2 SD altında) olan aşağıdaki kriterlerden herhangi birini karşılayan erkek veya kadın hasta.

- 1) İmmün yetmezlik klinik bulgularının 2 yaşından sonra başlaması
- 2) İzohemaglutininlerin negatif olması ve/veya aşılara cevapsızlık
- 3) Tanımlanmış hipogamaglobulinemi nedenleri hariç tutulmuştur (aşağıda verilmiştir)

YDİY hastalığı tanımlı lenfoproliferasyon, otoimmünite, inflamatuvar barsak hastalığı düşünülen hastalarda LRBA mutasyonlarının belirlenmesi ile birlikte hastalığa klinikte kesin tanı konulması, aile bireylerinin taranması ve genetik danışma verilebilmesi, hastalığın klinik-laboratuvar-moleküler farklı bulgularının tanımlanması amaçlanmıştır. Bu amaçla hastalığın genetik etmeni olabileceği düşünülen LRBA mutasyonlarını önce protein (Western Blot) düzeyinde sonra da gen düzeyinde araştırılması hedeflenmiştir. Western Blot yönteminin LRBA defekti düşünülen hastalarda ön değerlendirme için kullanılması planlanmıştır. Protein defektif hastaların hızlı şekilde değerlendirmeleri hedeflenmiştir.

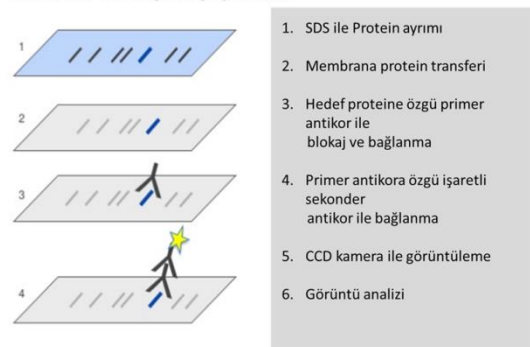
Hasta ve ebeveynlerine çalışma ile ilgili bilgiler verilmiş ve onam formları alınmıştır. Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan gerekli izin belgesi GO 13/228-15 karar numarası ile alınmıştır.

3.2 YÖNTEMLER

3.2.1. LRBA gen defekti düşünülen hastalarda Western blot analizi ile LRBA protein ekspresyon düzeyinin belirlenmesi

1. Hastalardan EDTA'lı tüplere alınan kanlardan gradiyent ayırma yöntemi aracılığıyla lökositler toplandı.
2. PHA ile lökositlerin 48 saat boyunca çoğaltılması sağlandı.
3. Çoğaltılan lökositler protein lizis buffer ile muamele edilerek protein eldesi gerçekleştirildi.
4. Protein miktarının tayini Bradford metodu ile yapıldı.
5. Protein miktarları tayin edildikten sonra SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) jel yükleme tamponu ile muamele edilip 95 °C' da 5 dk inaktive edildi.
6. % 10 SDS içeren jelde yürütülen proteinler ıslak transfer yöntemi ile 0,45 um'lik PVDF (Polyvinylidene flüoride) membrana aktarıldı.
7. Memrana aktarılan proteinler tavşanda üretilen LRBA primer antikoru ile +4 °C' de 1 gece ve 'Horse radish peroxidase' (HRP)-işaretli anti -tavşan sekonder antikor ile oda ısısında 1 saat inkübe edildi.
8. Kemiluminesan yöntemle CCD (charged couped device) kamera altında protein bantları tayin edildi.
9. Protein ekspresyonunun Beta aktin proteini ekspresyonuna göre normalizasyonu aynı membranda beta aktin primerleri ve sekonder antikor ile işaretleme yapılarak görüntü elde edildi.
10. Belirteç olarak PageRuler Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Scientific) kullanıldı.

Western Blot İş Akışı Şeması



Şekil 3.1 Western Blot tekniği

LRBA gen mutasyonu olan hipogamaglobulinemili hastalarda protein ekspresyonunun olmadığı daha önce Alangari ve ark. tarafından gösterilmiştir [124]. Bu nedenle YDİY hastalarında protein bantları görülmeyen hastalarda LRBA mutasyonu olduğu öngörülebilir.

3.2.2. LRBA genindeki moleküler defektlerin bulunabilmesi amacıyla ekzonik gen bölgelerinin Sanger sekans analizi ile sekanslanması

LRBA geni ekzonik mutasyon ve/veya mutasyonlarının tespiti planlanmıştır.

LRBA gen sekanslaması için uygulanan protokol;

1. PCR yöntemi ile genin 56 adet ekson bölgesi çoğaltıldı. PCR koşulları; 1 döngü başlangıç denatürasyonu: 95 °C 5 dk, 35 döngü: 95 °C 1 dk, 58 °C 1 dk, 72 °C 1 dk 1 döngü final uzatması: 72 °C 10 dk
2. Exo-Sap yöntemi ile elde edilen PCR ürününün pürifikasyonu gerçekleştirildi.
3. Pürifikasyonun ardından ekzon bölgesi tek bir primer ile tek yönlü olarak çoğaltıldı ve elde edilen bu ikinci PCR ürünü de Sephadex ile pürifiye edildi.
4. Elde edilen sekans PCR ürünü DNA sekans cihazında okundu.
5. Cromas programıyla sekansa ilişkin değerlendirmeler yapıldıktan sonra mutasyon olduğu düşünülen sonuçlar Aceview ve Ensemble veri tabanları kullanılarak tarandı.

LRBA geninin sekanslanmasında kullanılan primerler Tablo 2' de sunulmaktadır.

Tablo 3. 2. LRBA gen sekanslamasında kullanılan primer dizileri

EKZONLAR	FORWARD (5'-3')	REVERSE (5'-3')
2	Ttctgtttgcattgcgtgt	Gtgggtggggaacaagatc
3	tgatgtggaggaagaatgtgag	Tccaagccttaataagcaca
4	gaacttagtgccaagccctt	Gctactcgtgccatacttg
5	cctaataggccctacagcatt	Aaagtacagccctgtgaaca

6	Gccccgcctcagatatt	Ttctgctcattttgttgagg
7	catggcttagaatggatcctg	Aggtacatgatcttcttgagtca
8	tatcagttgaaaggcccatga	Atttggctagcatgtaatagaact
9	gatttgatctagggtgttggt	Ttgatttgaaggtgggttatacat
10	ttagaagtaaacgaggggtcc	Ttcattcaccacatgcactc
11	cattcaccacatgcactcat	Ttggctgtgagggttaattc
12	ggtgaatggaagggttacatct	Tgtgttttacctgcctcca
13	ggtaggacagcctgtaatt	Atgcaagacttcagtggattg
14	aaggagtgtgtgcatgt	Tgctactgtgtggaagaact
15	catggaaaagctgttgggaa	Tgcagaattagggttgtagt
16	tgtcttagtgcttcccaa	Aactgtaatgggagtaaatgct
17	tggagttacagaggtgaatgt	Tgaaatgagttaagatttaagacca
18	atgtgcatggaaaagtcacc	Tgccgaaatctaagatggact
19	gtgttctctcatccagcat	Ggtacagtcttggtcact
20	ccatgctgaccagaccattt	Aagaaagtcactgtgaacaacct
21	tggtagacatttgtttagggaa	Gaggggcagggttattttgt
22	agtaccacattgtcgaattgttc	Aaagtacagcaaatgaaagctca
23-1	tgtattctgtcttcatttctcatgc	Aggcactttggaagaaact
23-2	ggcactttggaagaactg	Atgacagcatcagggtcttc
23-3	ttcagactatgacagcatcagg	Ttggttcacatgctattcacaac
24	tgtagatgaattgcatagaagcta	Ggtagggtttactgaattcact
25	Aggagggcatggatagtaac	Aatgtggtggttactatgcatc
26	Cacctgtatggttctgttgc	Ttatccgtcttctgttggtga

27	tagggacattttaggaataagctg	Ttaggcctgcatataacattcaaa
28	Ttttctgcatgccatcttc	Agcagagatagaaaggtctagaaac
29	acgtaggtaatgtatttctgtgta	Gtgcaattaagggagagca
30-1	Tgcaccactcagtacatc	Agtaactcctcacacagcac
30-2	Gacattctccgaagcttgg	Ttgggaggttgaagtgtg
31	tcatgttgggtgaaaagtctaaa	Gggcaccttagaaaccattgt
32	tcatggatagaaagattgctctg	Catgagaagtactatttgg
33	Tggagattgtaggggcaaga	Tgtttaagtgtgtcagccttg
34	Tggtagtttgaagccagct	Gcaagcatgagaggaagtga
35	Tccttctctccaccgtaag	Atatggttgggtgcggaag
36	Tgggatgtttattgagacagc	Ttggatatgatcaaagccagatg
37	Gagtgtgagatggaggag	Ggttgttcataccagaaagagaa
38	tcctaagactcttgactgtataga	Atgtgtaggagattcttcagttg
39	Cttggccacctaccetta	Gtaaatttgggtgtgtcag
40	Aagtagtggcaggcagttc	Tgggtgctgttgataggat
41	caagtattgttacttacctgggat	Gccaccttctgttctagt
42	Ttggaccaaggagtcagttt	Atagggtatggtgtctagcag
43	ctctgtggctagtctaaatcattt	Actagcttgtttattgccgt
44	Actgagaatgatgtctggca	Tgatgtgaaatataattgtcttgc
45	Ttccctccctattggcag	Ctatctcatttggcttattgc
46	ctagtgaatgcctattagtcattaaag	Ggccaagaattacagcatgt
47	acaatagaaaatgatcaggtcctt	Gctcttctggacaaagctg
48	gctgggattataggcgtga	Tatcagtgcacctagcaagaact

49	cttaaccttcagacttgccc	Tgcattgtctcctggaatct
50	gttcagagcggcactaatc	Tggttgctgggaatggaa
51	tctcctcttctccctcactat	Gggagaagagggcattgt
52	gatacagtgccatggctct	Tgttatggtaaaagtgagacagg
53	gcatgatggaaattaggagca	Gtttctctgtggcactagc
54	ctggcaaacatgaagaggagat	Gtagcactcagacaaggctc
55	tcttctctctgcaccgtagt	Caggagaatcacttgagccc
56	Tgtggagtgtcagaggca	Ctgtacatcaactctgcccc

3.3. İstatistiksel Analiz

Hastalarda veriler bilgisayar ortamında “Statistical Package for Social Sciences (SPSS for Windows 15.0) Chicago, USA” programı kullanılarak analiz edilecektir. Ortalamalar, verilerin dağılımına göre, ortalama \pm standard sapma veya ortanca (minimum-maksimum) değer olarak ifade edilecektir. Ortalamaların kıyaslanması, değişkenler normal dağılım gösteriyorsa Student’s t test ile, normal dağılım göstermiyorsa Mann –Whitney U testi ile analiz edilecektir. ‘ $p<0.05$ ’ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecektir.

4. BULGULAR

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi İmmünoloji Bilim Dalı'na Eylül 2013-Eylül 2014 tarihleri arasında yaygın değişken immün yetmezlik tanısı ile izleme gelen, otoimmünite ve lenfoproliferasyon bulguları olan yaygın değişken immün yetmezlik tanılı 30 hasta dahil edilmiştir. Hastalar çalışmaya dahil edildiğinde hiç birinde hastalığa neden olan moleküler defekt bilinmemekteydi.

4.1 Yaygın değişken immün yetmezlik tanılı hastaların klinik özellikleri

Toplam 21 erkek ve 9 kız hasta çalışmada yer almıştır. Hastaların tanı yaşı medyan değeri 11 (4-57) yaştı. Hastalarda akrabalık oranı % 60'tı (18/30). Hastaların çeşitli klinik özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Başvuru şikayetleri değerlendirildiğinde en sık sitopeni (%33.3), daha sonra enfeksiyon (%26.6), ishal (%13.3), lenfadenopati (%13.3), splenomegali (%10) olduğu görüldü (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Hastaların başvuru bulguları

Hasta	Cinsiyet	Akrabalık	Tanı yaşı	Başvuru şikayeti
1. MA	E	Var	6	Enfeksiyon
2. HD	E	Var	9	İshal
3. İG	E	Var	23	Sitopeni
4. NT	K	Var	5	Sitopeni
5. TU	E	Var	8	sık enfeksiyon
6. İFI	E	Var	8	Splenomegali, sitopeni
7. SÇ	E	Var	14	İshal
8. HCT	K	Yok	7	sık enfeksiyon
9. UK	E	Var	25	Sitopeni
10. AK	K	Yok	57	Sık enfeksiyon
11. AF	K	Var	5	sık enfeksiyon
12. KK	E	Yok	7	sık enfeksiyon
13. AG	E	Yok	17	İmmün trombositopenik purpura
14. KÖ	E	Yok	4	Lenfadenopati
15. SeŞ	E	Yok	11	sık enfeksiyon
16. SaŞ	E	Yok	11	Lenfadenopati
17. İT	K	Yok	7	Sitopeni
18. FAD	K	Var	18	Splenomegali
19. BG	E	Yok	16	Lenfadenopati
20. AK	E	Var	28	sık enfeksiyon
21. AY	E	Var	20	Sitopeni

22. Cİ	E	Var	13	İshal
23. MY	E	Var	11	Splenomegali
24. BK	E	Yok	14	Lenfadenopati
25. DYE	E	Var	15	Sitopeni
26. GK	K	Yok	32	Lenfadenopati
27. İE	K	Var	10	Splenomegali
28. ZO	E	Yok	6	Lenfadenopati
29. ACA	E	Var	7	Sitopeni
30. AÖ	K	Var	10	İshal

Tablo 4.2 Hastaların izlemdeki klinik özellikleri

Hasta	Sitopeni	LAP	HSM	Otoimmünite	Kronik akciğer hastalığı	GİS	Malignansi
1. MA	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok
2. HD	Yok	Var	Var	Var	Var	Var	Yok
3. İG	Var	Var	Var	Var	Var	Yok	Var
4. NT	Var	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok
5. TU	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
6. İFI	Var	Var	Var	Yok	Yok	Yok	Yok
7. SÇ	Yok	Var	Var	Yok	Var	Var	Yok
8. HCT	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Var	Yok
9. UK	Var	Var	Var	Var	Yok	Var	Yok
10. AK	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Var	Yok
11. AF	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok
12. KK	Var	Yok	Yok	Var	Var	Var	Yok
13. AG	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
14. KÖ	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
15. SeŞ	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
16. SaŞ	Var	Var	Yok	Var	Yok	Yok	Yok
17. İT	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Yok
18. FAD	Yok	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok
19. BG	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
20. AK	Yok	Yok	Yok	Var	Var	Var	Yok
21. AY	Var	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
22. Cİ	Yok	Yok	Var	Var	Var	Var	Yok
23. MY	Var	Var	Var	Yok	Var	Yok	Yok
24. BK	Var	Var	Yok	Var	Yok	Yok	Yok
25. DYE	Var	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok
26. GK	Yok	Var	Var	Yok	Yok	Yok	Yok
27. İE	Yok	Yok	Var	Var	Yok	Yok	Yok
28. ZO	Yok	Var	Var	Yok	Yok	Yok	Yok
29. ACA	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok

30. AÖ	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Yok
Toplam sayı	15	20	17	18	15	13	3
Toplam yüzde (%)	50	66.67	56.67	60	50	43.3	10

Hastaların klinik izlemleri süresince saptanmış olan klinik bulgulardan en yüksek oranda lenfadenopati (%66.7), ikinci sıklıkta otoimmünite (%60), üçüncü sıklıkta da hepatosplenomegali (%56.67) görülmekteydi (Tablo 4.2).

4.2 Yaygın değişken immün yetmezlik tanılı hastaların Western Blot Analiz

Sonuçları

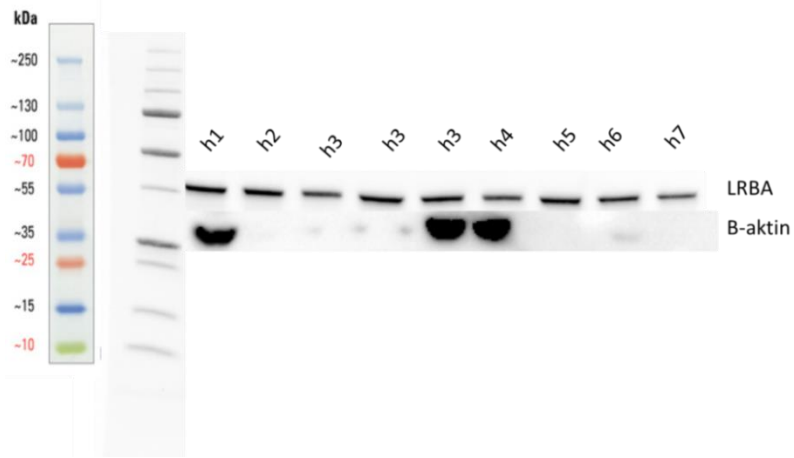
Primer immün yetmezlikler içinde önemli bir grup olan YDİY hastalarında LRBA eksikliğinin araştırılması amacıyla yapılmış olan bu proje kapsamında klinik bulguları ile YDİY olarak değerlendirilen 30 hasta bireyde LRBA protein ekspresyonları değerlendirildi. LRBA protein ekspresyonları sonuçları Şekil 4.1’de ve Tablo 4.3 ve Tablo 4.4’te sunulmuştur. 23 hastanın ekspresyonu normal bulundu.

Belirlenen hastalardan 7 hastanın LRBA proteinleri beklenen 319 kDa’ nun aksine 70-100 kDa arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda deneyde problem olup olmadığının test edilmesi için ilk olarak antikorun LRBA proteinine olan spesifitesi değerlendirilmiştir. Antikorun LRBA proteinine immunojenisite gösterdiği aminoasit sekansı protein blast ile değerlendirilip, bu antikorun sadece bu proteine bağlanabileceği görülmüştür [<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>]. Antikorun spesifitesi değerlendirildikten sonra, belirlenen protein büyüklüğü tekrar değerlendirmeye alındı. Protein belirtecinde beyaz ışıktaki görüntüde, belirlenen proteinin kesinlikle 70-100 kDa arasında olduğu saptandı (Şekil 4.1).

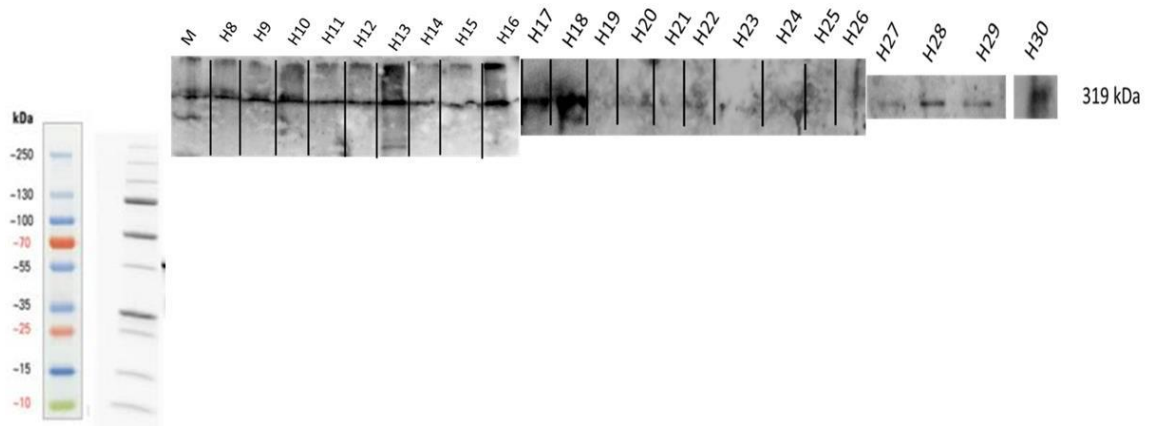
Çalışma sırasında çalışma grubuna alınan, ancak dış merkezde genetik analizleri sonuçlanıp LRBA defekti (c.5527delT:p.C1843fs) olduğu tespit edilen hastalardan biri (M*A*) kontrol olarak Western Blot analizinde negatif kontrol olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastanın Western Blot analizi ile proteininin tespit edilmesi Western Blot testinin güvenilirliğini sorgulamamıza neden oldu. Büyük bir protein olması nedeniyle teknik olarak LRBA proteininin transferinde problem olabileceği düşünülerek hastaların doğrudan sekans analizinin yapılmasına başlandı.

Bir taraftan da Western Blot analizi işlemlerinde transfer sırasında ısı artışının protein degradasyonuna neden olabileceği de düşünülerek işlem sırasında soğuk koşulların devamının sağlanması ile test tekrarlandı. Negatif kontrol olarak moleküler defekti bilinen bu hasta ile birlikte sağlıklı kontrol pozitif kontrol olacak şekilde Western Blot analizi tekrarlandı ve LRBA gen defekti olduğu bilinen hastanın ve bu hasta ile birlikte 2 hastamızın da proteininin olmadığı gösterildi.

a)

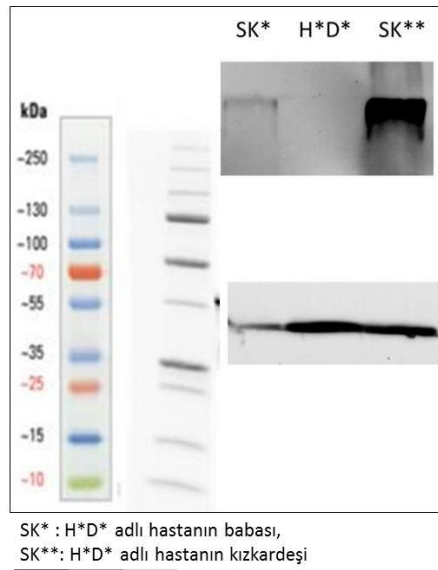


b)



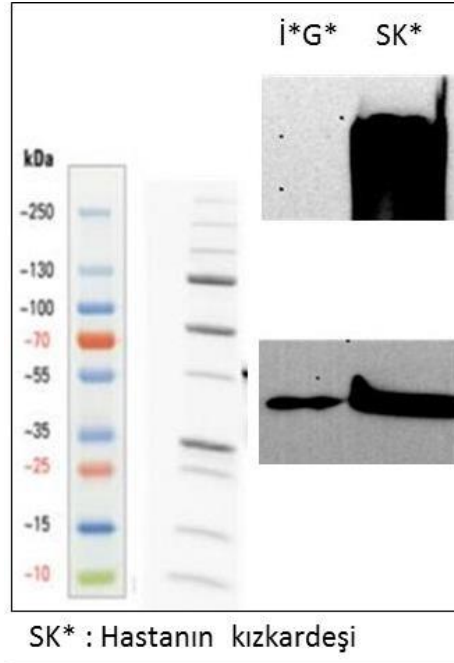
Şekil 4.1. Western Blot görüntüleri. LRBA ve B-aktin protein ekspresyonlarına ait membran fotoğrafları. H, hasta; M, marker (Thermo Scientific PageRuler Plus Prestained Protein Ladder)

Bir hastada (H*D*) ilk Western Blot analizi ile sonuç alınamadı, sekans analizi ile LRBA defekti (23. Ekzon indel) (p.Ile964Alafs*32 (c.2893_2900delins GCCAGATATATATATATATATATATA)) saptandıktan sonra nakil planlandı. Donör olarak belirlenen HLA tam uyumlu ablasından nakil planlandı. Hastaya babası ve kızkardeşi ile birlikte tekrarlanan Western Blot analizi yapıldı. Babası ve kızkardeşinde protein saptanırken, hastanın LRBA proteininin olmadığı görüldü (Şekil 4.3). Sanger sekans analizi ile hastanın kızkardeşinde defektin olmadığı belirlendi. Bu sonuçlara dayanarak hasta kızkardeşten kök hücre nakli yapılmak üzere nakil ünitesine yatırıldı.



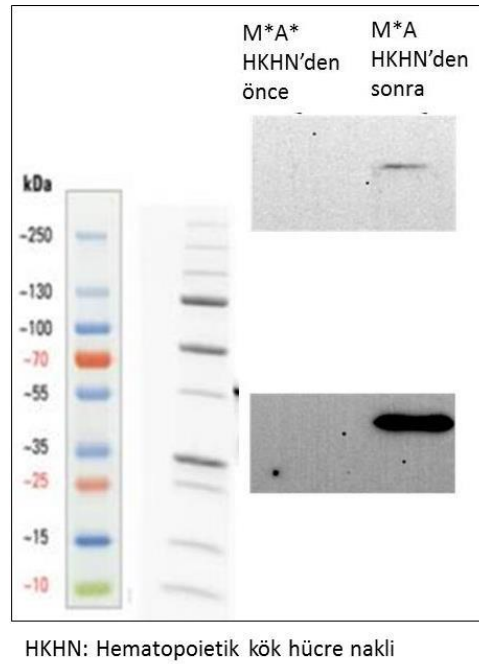
Şekil 4.2. H*D* adlı hastanın proteininin defektif olduğu görülmekte.

Western Blot ile LRBA proteini defektif olarak bulunan bir hastaya (İ*G*) HLA tam uyumlu olan donör olarak belirlenen kızkardeşinden nakil planlanmış, bu amaçla kızkardeş ile birlikte hastaya Western Blot analizi yapılmış, kızkardeşin proteininin normal olduğu saptanmış. Ancak hasta nakil yapılamadan kaybedilmiştir.



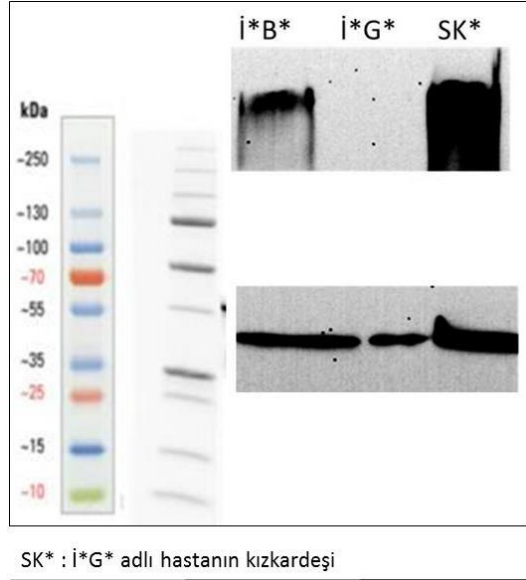
Şekil 4.3. İ*G* adlı hastanın proteininin defektif olduğu görülmekte.

Bu hastalardan nakil yapılan M*A*'nın nakil sonrası LRBA protein ekspresyonu nakil öncesi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Nakilden sonra ekspresyonun artmış olduğu tespit edildi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 M*A adlı hastanın Western blot analizi sonuçları

İ*B* adlı YDİY tanısı ile izlenen moleküler defekti bilinmeyen ancak genel durumu sitopeni nedeniyle kötü olarak izlenen, HLA tam uyumlu erkek kardeşi olan hasta LRBA defekti varlığı açısından hızla Western Blot analizi ile değerlendirildi. LRBA proteininin varlığı gösterilerek LRBA defekti dışlandı.



Şekil 4.5. İ*B*, İ*G* ve İ*G*'nin kızkardeşinin Western blot analiz sonuçları

4.3. Yaygın değişken immün yetmezlik tanılı hastaların LRBA geni Sanger sekansı analizi sonuçları

Hastalarda saptanan LRBA geninde saptanan varyanlar aşağıda verilmiştir. Birinci ve ikinci hastada hastalık etkeni olduğu tespit edilen mutasyonlar aşağıda Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

1. H*D*

23. ekzon indel mutasyon (23. Ekzon indel) (p.Ile964Alafs*32 (c.2893_2900delins GCCAGATATATATATATATATATA)) (Hastalık yapıcı mutasyon olarak değerlendirildi)

2. İ*G*

28. ekzon intron sınırında IVS28+9C>T homozigot varyant (MAF indeksi yüksek, polimorfizm olarak değerlendirildi)

55. ekzon c.8110G>A (p.A2704T) (missense homozigot varyant (MAF indeksi yüksek, mutasyon olarak değerlendirilmedi)

3. İ*F*I*

34. ekzonda c.5835T>C (p.Arg1946Arg) heterozigot mutasyon (Hastalık yapıcı, Z*A* adlı hastamızda homozigot olarak saptanan mutasyon)

4. T*U*

6-7.ekzon arasında delesyon IVS6+4del tgta

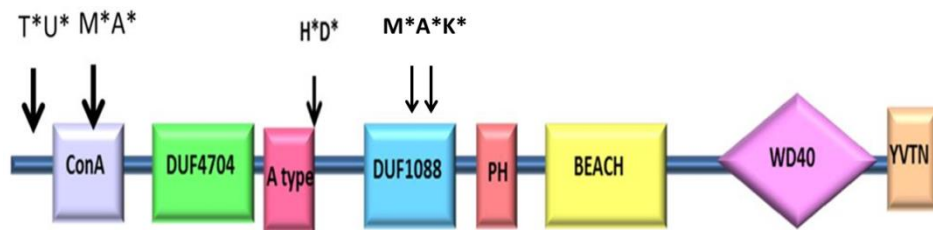
5. N*T*

49. ekzonda c.7378G >T (p.Asp2460Tyr) heterozigot (Hastalık yapıcı mutasyon)

İ*F*I* ve N*T adlı hastalarda saptanan heterozigot defekt hastalığın otozomal resesif olması nedeniyle hastaların klinik durumlarını açıklamak için yeterli değildir.

T*U* adlı hastada intronik delesyon saptanmış olması nedeniyle hastada LRBA proteininin değerlendirilmesi planlanmış, ancak hastanın başka bir şehirde yatırılarak izlenmesi nedeniyle örnek alınamamıştır.

Ayrıca LRBA gen defekti olduğu yurtdışındaki genetik merkezlerce saptanan 4 hastanın (M*Y*K* (c.675G>A: p.(Trp225*)), Z*A* (c.5835T>C (p.Arg1946Arg) homozigot mutasyonu), S*K* (c.5030A>G: pAsn1677Ser), M*A* (c.5527delT: p.C1843fs)) donörleri defekt varlığı açısından Sanger sekans analizi ile defektin bulunduğu ekzon analizi ile değerlendirildi ve defektif olmadıkları saptanarak ikisi üniversitemiz kök hücre nakil ünitesine, biri Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne nakil için gönderildi. Diğer iki hasta da kök hücre nakil sırasında bulunmaktadır.



Şekil 4.6. LRBA protein domain'leri ve hastalarda saptanan mutasyonların etkiledikleri protein domain'leri (Proteini defektif olarak bulunan İ*G* adlı hastanın ekzonik mutasyonu bulunamamıştır).

M*A*K* adlı erken başlangıçlı ishal tanılı bir hastaya da LRBA sekans analizi yapılmış, 41 ve 46. ekzonlarda bulunan, anne ve babanın heterozigot olduğu defektler açısından hastaya Western blot analizi planlanmış ancak defektler Sanger sekans

analizi ile saptandığı sırada hasta kaybedildiği için Western blot analizi yapılamamıştır. Bu hastada compound heterozigot defekt bulunmuştur. Bu hastada, anne ve babada bulunan mutasyonlar aşağıda verilmiştir :

M*A*K*

34. ekzonda c.5835 T>C (p.Arg1946Arg) heterozigot (anne heterozigot, baba N)
(Hastalık yapıcı mutasyon)

41. ekzonda c.6314 A>G (p.Tyr2105Cys) heterozigot (anne N, Baba heterozigot)
(Hastalık yapıcı mutasyon)

Tablo 4.3. Hasta grubunda yapılan Western Blot ve Sanger sekans analizi sonuçları

Hasta	Western Blot Analizi	Farklı protein bandı	2. Western Blot Analizi	Protein	Sanger Sekans Analizi	Homozigot veya Birleşik heterozigot Mutasyon	Yurtdışında LRBA defekti tanısı	3. Western Blot Analizi
MA	1	1	1	0	1	1	1	Kit sonrası 1
HD	1	1	1	0	1	1		
İG	1	1	1	0	1	0		
NT	1	1	Ulaşılamadı		1	0		
TU	1	1	Ulaşılamadı		1	1		
İFI	1	1	Ulaşılamadı		1	0		
SÇ	1	1	Ulaşılamadı		1	0		
HCT	1	0						
UK	1	0						
AK	1	0						
AF	1	0						
KK	1	0						
AG	1	0						
KÖ	1	0						
SeŞ	1	0						
SaŞ	1	0						
İT	1	0						
FAD	1	0						
BG	1	0						
AK	1	0						
AY	1	0						
Cİ	1	0						
MY	1	0						
BK	1	0						
DYE	1	0						
GK	1	0						

İE	1	0						
ZO	1	0						
ACA	1	0						
AÖ	1	0						
1, Var; 0, yok.								

Western Blot analizi ile 3 hastada (M*A*, H*D*, İ*G*) LRBA protein defekti, LRBA Sanger sekans analizi ile de 4 hastada (M*A*, H*D*, T*U*, M*A*K*) LRBA gen defekti olduğu bulundu. Bu 4 hastanın hepsi erkekti, medyan tanı yaşı 8.5 (6-23), akrabalık oranı %100 idi. %50'sinde başvuru şikayeti sık enfeksiyondu. Bu hastaların klinik izlemlerinde sitopeni %75'inde, hepaosplenomegali, lenfadenopati, kronik akciğer hastalığı ve otoimmünite %100'ünde, kronik ishal %75'inde saptandı.

5. TARTIŞMA

“Yaygın değişken immün yetmezlik” (YDİY), (Common variable immunodeficiency) 2011 immün yetmezlik sınıflamasında geniş bir grubu oluşturan antikor eksiklikleri grubunda yer alan bir hastalıktır. Avrupa İmmün yetmezlik derneği (ESID)’nin 2014 verilerine göre tüm primer immün yetmezlikler içinde yaklaşık %56.6’lık bir kısmı oluşturmaktadır. Hipogamaglobulinemi ve düşük antikor cevapları ile karakterize olan YDİY her yaşta ortaya çıkabilmektedir.

YDİY hastalığıyla ilişkili olan genetik etmenlerin aydınlatılması için sarfedilen çaba sonucunda 2012 yılından sonra YDİY ile ilişkili olabileceği düşünölen LRBA (Lipopolysaccharide Responsive Beige-like Anchor protein) geni tanımlanmıştır. LRBA proteini, BEACH-WD40 protein ailesinde yer alan bir proteindir. Bu ailenin üyeleri, lizozom ile ilişkili organel büyüklüğü ve taşınması ile ilgilidir. WD40 protein-protein ve DNA-protein etkileşiminde önemli bir domaindir. Böylece sinyal iletimi, veziküler trafik, hücre iskeletinin yapısı, hücre döngüsü, apoptozis, kromatin dinamikleri ve transkripsiyonel düzenlemede önemli görevleri olduğu bilinmektedir [82].

LRBA eksikliği inflamatuvar barsak hastalığı ve otoimmün sitopeni gibi otoimmünite ile ilişkili tekrarlayan enfeksiyonlarla karakterize bir hastalıktır. Farklı araştırma grupları tarafından otoimmün lenfoproliferatif sendrom ile çok benzer bulguları olduğu rapor edilmektedir.

Primer immün yetmezlikler içinde önemli bir grup olan YDİY hastalarında LRBA eksikliğinin araştırılması amacıyla yapılmış olan bu proje kapsamında klinik bulguları ile YDİY olarak değerlendirilen 30 hasta bireyde öncelikle LRBA protein ekspresyonları Western Blot analizi ile değerlendirildi. Buna göre 30 hastanın 23 bireyinde 319 kDa olarak normal büyüklüğe sahip olan normal protein ekspresyonu tespit edildi. Buna karşın 7 hastanın ilginç bir şekilde LRBA proteininin 319 kDa olan normal formu yerine 70-100 kDa arasındaki başlangıçta izoform veya degradasyon ürünü olabileceği düşünölen daha küçük bir proteini eksprese ettiği gözlemlendi. Teste bağlı hata olarak yorumlandı. Pozitif kontrol amacıyla değerlendirilen c.5527delT:p.C1843fs mutasyonu olduğu bilinen M*A* adlı bireyin de 70-100 normal proteini eksprese ettiği göröldü. Normalde, veri bankalarındaki bilgilerden yola çıkarak bu çerçeve kayması mutasyonun güdük bir protein ekspresyonuna yol açması

öngörülmektedir. Bu durum da literatürde örnekleri olması bakımından şaşırtıcı değildir. Hiper IgM sendromlu hastalarda CD40L'da prematür stop kodon oluşumuna neden olan bir mutasyon olduğu halde normal CD40L protein ekspresyonu olduğu bildirilmiştir [125]. Başka bir çalışmada ise, Crohn hastalığında NOD2'deki çerçeve kayması mutasyonu NOD2 proteininde ekspresyon değişikliğine yol açmadığı gösterilmiştir [126]. Daha önce LRBA gen defekti tanısı alan ve Western blot analizi ile değerlendirilmiş olan hasta sonuçları incelendiğinde mutasyon olan vakalarda proteinin gösterilemediği görüldü [7, 84, 127, 128]. Ancak Boztug ve arkadaşlarının yayınladığı bir vakada proteinin normal sağlıklı kontrolle aynı şekilde eksprese olduğu saptanmıştır [129]. Bu durumda Western blot analizi, LRBA defekti için vakaların çoğunda tanıyı dışlamada faydalı olsa da, bu vakada [129] olduğu gibi, bazı gen defektlerinde protein yapısı korunduğu ve stabilitesi etkilenmediği için yol gösterici olamamaktadır. Bu hastanın sunulduğu makalede tartışma kısmında LRBA proteininin fonksiyonu gösteren bir test olmamasının bu duruma yolaçtığından bahsedilmiştir.

Bu bilgilerin ışığında deney koşulları tekrar gözden geçirilip kontrol ile karşılaştırmalı olarak tekrarlandı. Deneyde LRBA'nın büyük bir protein olması nedeniyle proteinin transferi sürecinde soğutma işlemi yapılarak proteinin degradasyonunun önlenmesi hedeflendi. Bu şekilde tekrarlanan deney sonucunda M*A* adlı hastanın LRBA proteininin defektif olduğu görüldü. İlk Western Blot analizinde saptanan düşük moleküler ağırlıklı izoform olduğu düşünülen protein de görülmedi.

Çalışma sırasında çalışma grubuna alınan, ancak dış merkezde genetik analizleri sonuçlanıp LRBA defekti ((c.5527delT:p.C1843fs) olduğu tespit edilen hastalardan biri (M*A*) kontrol olarak Western Blot analizinde negatif kontrol olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Western blot analizi sırasında negatif kontrol olarak defekt varlığı bilinen hasta (M*A*) ile birlikte pozitif kontrol olarak sağlıklı bireyin sonuçlarının aynı anda değerlendirilmesinin hastaların tespitinde faydalı olduğu görülmüştür.

Modifiye deney koşullarında moleküler defekti bilinen M*A* ile birlikte çalışma grubundan hasta olduğu öngörülen iki hastada (İ*G ve H*D*) da protein analizi modifiye edilmiş deney koşullarında tekrarlandı ve proteinler defektif

bulununca hastalarda hızla Sanger sekans analizi yapıldı. Gerçekten de bu hastaların birinde (H*D*) çerçeve kayması mutasyonu saptandı.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, izoform olduğu düşünülen protein saptanan ancak Western Blot analizi tekrarlanamayan diğer dört hastanın analizine de sekans çalışmaları ile devam edilmesi planlanmıştır.

Çalışma grubu yanında LRBA defekti olduğu bilinen daha önce tanı almış hastaların kök hücre nakli için HLA tam uyumlu olduğu saptanan kardeşlerin veya donörlerin hastalık varlığı açısından sadece defekt olduğu bilinen ekzonları Sanger sekans analizi ile değerlendirilmiştir. Daha önce tanı alan bir hastamızın sağlıklı olduğu bilinen kızkardeşinde YDIY hastalığına ait herhangi bir bulgusunun olmaması nedeniyle, hastaların sağlıklı görünen klinik ve laboratuvar bulgusu olmayan diğer kardeşleri de hastalık açısından değerlendirilmiştir. Z*A ve S*K*adlı iki LRBA defekti tanılı hastanın da donörlerine hastalık varlığı açısından sekans analizi yapıldı ve hasta olmadıkları ispatlandı. Bu şekilde çalışmamızla tanı alan iki hasta ile birlikte toplam 6 LRBA defekli hastaya (M*A*, H*D*, T*U*, M*Y*K*, Z*A*, S*K*) HLA uyumlu donörlerinden kök hücre nakli planlanmış, dördüne nakil yapılmıştır.

Hastaların moleküler defektlerinin biliniyor olması, nakil öncesinde ağır otoimmüitenin neden olduğu klinik bulguların baskılanması amacıyla medikal tedavilerin kullanılmasına olanak sağlamıştır. Bu amaçla LRBA defekti olan hastalarda hücre yüzeyindeki CTLA proteininin ekspresyonunu düzenleyen abatacept üç hastada kullanılmıştır.

Nakil yapılan M*A*'nın nakil sonrası LRBA protein ekspresyonu nakil öncesi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Nakilden sonra ekspresyonun artmış olduğu tespit edildi.

İlk yapılan Western Blot analizi ile sonuç alınamayan yüksek şüphe olması nedeniyle Sanger sekans analizi yapılan bir hastada (H*D*) LRBA defekti (23. ekzon indel) (p.Ile964Alafs*32 (c.2893_2900delins GCCAGATATA TATATATATATATATA)) saptandı. HLA tam uyumlu kızkardeşinden nakil planlanan hastanın babası ve kızkardeşinde Western Blot analizi ile protein saptanırken, Sanger analizi ile de ablada aynı ekzonda defekt olmadığı belirlendi. Hastaya bu sonuçlara dayanarak kızkardeşinden kök hücre nakli yapıldı.

Tekrarlanan Western Blot ile LRBA proteini defektif olarak bulunan bir hastada (İ*G*) sekans analizi ile iki homozigot varyant saptanmış, polimorfizm olarak değerlendirilmiştir (28. intron c.4569+9 C>T, 34. Ekzonda c.5550T>C varyant, 55. Ekzonda c.8110G>A missense variant). Hastada herhangi bir ekzonik mutasyon tespit edilememiştir. Hastada protein defektif olduğu için derin intronik mutasyon olduğu düşünülmektedir. Hasta, HLA tam uyumlu olan kızkardeşinden nakil yapılamadan kaybedilmiştir.

M*A*K* adlı erken başlangıçlı ishal tanılı hastanın sekans analizinde 41 ve 46. ekzonlarda bulunan, anne ve babanın heterozigot olduğu defektler açısından hastaya Western blot analizi planlanmış, ancak defektler saptandığı sırada hasta kaybedildiği için çalışma yapılamamıştır. Bu hastada compound heterozigot defekt olma olasılığı bulunmakla birlikte, hastanın 2 kardeşinin aynı semptomlarla (inflamatuvar barsak hastalığı benzeri tablo) kaybedilmiş olması hastada compound heterozigot bir defekt varlığından çok otozomal resesif başka bir defekt varlığını akla getirmektedir. Yine de derin intronik mutasyon varlığı dışlanamaz.

İ*F*I* ve N*T* adlı hastalarda saptanan heterozigot defekt hastalığın otozomal resesif olması nedeniyle hastaların klinik durumlarını açıklamamaktadır. T*U* adlı hastada delesyon saptanmış, N*T* adlı hastada heterozigot bir defekt saptanmıştır. Bu nedenle her iki hastada LRBA proteininin Western Blot analizi ile uygun koşullarda ikinci defa tekrarlanması planlanmış, ancak hastaların birinin başka bir şehirde yatırılarak izlenmesi, diğerine de ulaşılamaması nedeniyle örnek alınamamıştır.

İ*B* adlı YDİY tanısı ile izlenen moleküler defekti bilinmeyen ancak genel durumu sitopeni nedeniyle kötü olarak izlenen, HLA tam uyumlu erkek kardeşi olan hasta LRBA defekti varlığı açısından hızla Western Blot analizi ile değerlendirildi. LRBA proteininin varlığı gösterilerek LRBA defekti dışlandı.

LRBA defekti tanısı alan hastaların klinik durumları değerlendirildiğinde hastalık oldukça ağır, nakil yapılmadığı takdirde fatal seyirli bir tablo olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle YDİY ve ALPS fenotipi olan hastaların bu defekt açısından hızlı bir şekilde Western Blot analizi ile değerlendirilmesinin gerektiği açıktır. Bu çalışma ile hastalıkla ilişkili genotip fenotip karşılaştırmasının doğru yapılabilmesi için, LRBA ile ilişkili olarak yapılan araştırmanın sadece protein düzeyinde yapılmasının yanlış sonuçlara götürebileceğini göstermiştir. Ancak hızlı tanı açısından

Western Blot analizi uygun şekilde yapıldığı takdirde çok faydalı olmaktadır. Ekzon sayısının fazla olduğu genlerde protein analizinin yapılması tanı anlamında zaman kazandırmaktadır. Bu nedenle pozitif (kontrol-normal birey) ve negatif kontrol (defekli olan hasta birey) varlığında Western Blot analizi ile protein düzeyinde araştırma yapılması çok faydalıdır.

Western Blot analizinde LRBA proteini gibi moleküler ağırlığı büyük proteinlerin analizi sırasında proteinin deney koşullarında degradasyon riskinin öngörülebilmesi, çalışmanın daha uygun şekilde yapılmasını sağlayacaktır.

M*A*K* adlı hastada da birleşik heterozigot defekt bulunmuştur. Hastanın iki kardeşinin aynı semptomlarla (inflamatuvar barsak hastalığı benzeri tablo) kaybedilmiş olması hastada compound heterozigot bir defekt varlığından çok otozomal resesif başka bir defekt varlığını düşündürse de bu defekt hastalığı açıklamaktadır.

Çalışmamız sonucunda 3 hastada (M*A*, H*D*, İ*G*) LRBA defekli protein analizi ile, dört hastada da (M*A*, H*D*, T*U*, M*A*K*) Sanger sekans analizi ile saptanmıştır. Buna göre çalışma sonucunda toplam 5 hastada LRBA protein ve/veya gen defekli saptanmıştır. LRBA heterozigot gen mutasyonu saptanan diğer hastalarda da derin intronik olduğu düşünülen ikinci bir defektin mevcut olduğu düşünülmüştür. Bu amaçla tüm genom analizi planlanmıştır.

Çalışma grubunda yapılan analiz sonucunda LRBA protein veya gen defekli olduğu bulunan 5 hastanın hepsi erkekti, medyan tanı yaşı 8 (1-23), akrabalık oranı %100 idi. %50'sinde başvuru şikayeti sık enfeksiyondu.

Bu hastaların klinik izlemlerinde sitopeni %75'inde, hepatosplenomegali, lenfadenopati, kronik akciğer hastalığı ve otoimmünite %100'ünde, kronik ishal %75'inde saptandı. Literatürde 93 LRBA şüphesi olan hasta Western Blot analizi ile değerlendirildiğinde 24'ünde Western Blot analizi ile proteinin olmadığı gösterilmiş, bu hastaların klinik bulgularına bakıldığında immün disregülasyon %95'inde, organomegali %85'inde, rekürren enfeksiyonlar %71'inde, enteropati %62'sinde, kronik akciğer hastalığı %52'sinde saptanmıştır[130].

Bizim çalışmamız ile eş zamanlı yapılan bu çalışmada 93 LRBA şüpheli hastadan 24'ünde Western Blot analizi ile protein negatif bulunmuş, ancak bunların

sadece 14'ünde (%58.3) homozigot veya compound heterozigot LRBA mutasyonu saptanmıştır. Makalenin yöntem kısmında kullandıkları genetik analizlerin bazı hastalarda tüm exom analizi (WES), bazı hastalarda hedeflenmiş gen analizi (Targeted NGS), bazılarında ise Sanger analizi şeklinde yapılmış olduğu görülmektedir. On hastada mutasyonun saptanmamış olmasının nedeninin olası promotör bölgedeki mutasyonların, LRBA'nın regülatuvar yolağı ile ilgili mutasyonların varlığına veya epigenetik nedenlere bağlı olabileceğini düşünmüşler.

Bizim hastalarımızda da Sanger analizi yapılmış olup intron exon sınırında dar intronik segment değerlendirilmiş olmasına rağmen hastalarda derin intronik mutasyon varlığı dışlanamamıştır. Bu nedenle LRBA defekti olduğu düşünülen hastalarda tüm genom analizi yapılması hem intronik LRBA defektlerinin dışlanmasını, hem de CTLA-4 defekti, IPEX Sendromu, CD25 eksikliği gibi LRBA defektine benzer klinik bulguları olan diğer genetik defektlerin dışlanmasına olanak sağlar.

Klinik olarak LRBA defeki açısından yüksek şüpheli hastalar ve donörlerinin Western blot analizi ile değerlendirilmesi tanıyı kolaylaştırmakta, araştırmacılara defektin varlığını öngörme anlamında yardımcı olup zaman kazandırmaktadır. Ancak YDİY hastalarında otoimmünite ve lenfoproliferasyon diğer defektlere bağlı da oluşabileceğinden genel olarak hastaların tanısal değerlendirmelerinde 'next-generation' sekans teknikleri ile yani YDİY hastalığına neden olabilecek genetik defektlerin panel şeklinde çalışılması veya tüm ekzom ve tüm genom analizleri ile değerlendirilmesi, diğer defektlerin de erken dönemde tespit edilebilmesine ve hastaların tedavilerinin komplikasyon gelişmeden önce planlanmasına olanak sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Primer immün yetmezlikler içinde önemli bir grup olan YDİY hastalarında LRBA eksikliğinin araştırılması amacıyla yapılmış olan bu proje kapsamında klinik bulguları ile YDİY olarak değerlendirilen 30 hasta bireyde öncelikle LRBA protein ekspresyonları değerlendirildi. Protein ekspresyonları bu bireylerden 23'ünde 319 kDa ağırlığında normal LRBA proteinin bulundu. Yedi bireyde saptanan düşük moleküler ağırlıklı (70 kDa) proteinin protein degradasyon ürünü veya teste bağlı hata olduğu düşünüldü. Bu yedi bireyden ulaşılabilen 3 tanesine tekrar Western blot analizi ile değerlendirme yapıldı. Üçünde de protein negatif olarak bulundu. Dört bireye ulaşılamadı. Ayrıca bu 7 bireyin tamamının sekans analizleri tamamlandı. Sekans analizi ile de toplam 3 hastada (hastalardan biri yurtdışında tanı alan hasta) defekt saptandı. Diğer sonuçlar aşağıda sunulmuştur :

1. Bu çalışma, hastalıkla ilişkili genotip fenotip karşılaştırmasının doğru yapılabilmesi için, LRBA ile ilişkili olarak yapılan araştırmanın protein düzeyinde yapılmasının nadiren yanlış sonuçlara götürebileceğini göstermiştir. Western Blot analizi uygun şekilde yapıldığı takdirde hızlı tanı açısından faydalı olmaktadır.
2. Western Blot analizinde LRBA proteini gibi moleküler ağırlığı büyük proteinlerin analizi sırasında soğuk koşulların sağlanması deney koşullarında proteinin degradasyon riskini önleyecektir.
3. Bizim hastalarımızda da Sanger analizi yapılmış olup intron exon sınırında dar intronik segment değerlendirilmiş olmasına rağmen hastalarda derin intronik mutasyon varlığı dışlanamamıştır. Bu nedenle LRBA defekti olduğu düşünülen hastalarda tüm genom analizi yapılması hem intronik LRBA defektlerinin dışlanmasını, hem de CTLA-4 defekti, IPEX Sendromu, CD25 eksikliği gibi LRBA defektine benzer klinik bulguları olan diğer genetik defektlerin dışlanmasına olanak sağlar.
4. YDİY ve ALPS fenotipi olan LRBA defekti açısından yüksek şüphe indeksi olan hastaların ve donörlerinin bu defekt açısından hızlı bir şekilde Western Blot analizi ile değerlendirilmesi tanıda kolaylık sağlar. Bu değerlendirme hem kök hücre nakli öncesi süreyi kısaltır, hem de güvenli nakil şansı sağlar.

7. KAYNAKLAR

1. Sakaguchi, S., *Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses*. Annu. Rev. Immunol., 2004. **22**: p. 531-562.
2. Rosen, F.S., M.D. Cooper, and R.J. Wedgwood, *The primary immunodeficiencies*. New England Journal of Medicine, 1995. **333**(7): p. 431-440.
3. Notarangelo, L.D., *Primary immunodeficiencies*. J Allergy Clin Immunol, 2010. **125**(2 Suppl 2): p. S182-94.
4. Kwan, A., et al., *Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States*. Jama, 2014. **312**(7): p. 729-738.
5. Seymour, B., J. Miles, and M. Haeney, *Primary antibody deficiency and diagnostic delay*. Journal of clinical pathology, 2005. **58**(5): p. 546-547.
6. Salzer, U., S. Unger, and K. Warnatz, *Common variable immunodeficiency (CVID): exploring the multiple dimensions of a heterogeneous disease*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2012. **1250**(1): p. 41-49.
7. Alangari, A., et al., *LPS-responsive beige-like anchor (LRBA) gene mutation in a family with inflammatory bowel disease and combined immunodeficiency*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2012. **130**(2): p. 481-488. e2.
8. Farmer, J.D., N.H. Packard, and A.S. Perelson, *The immune system, adaptation, and machine learning*. Physica D: Nonlinear Phenomena, 1986. **22**(1): p. 187-204.
9. Abbas, A.K., A.H. Lichtman, and S. Pillai, *Cellular and molecular immunology*. 2014: Elsevier Health Sciences.
10. Male, D., et al., *Immunology: With STUDENT CONSULT Online Access*. 2012: Elsevier Health Sciences.
11. Fischer, A., *Human primary immunodeficiency diseases*. Immunity, 2007. **27**(6): p. 835-845.
12. Buckley, C.R., *Agammaglobulinemia, by Col. Ogden C. Bruton, MC, USA, Pediatrics, 1952;9:722-728*. Pediatrics, 1998. **102**(1 Pt 2): p. 213-5.
13. Vetrie, D., et al., *The gene involved in X-linked agammaglobulinaemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases*. Nature, 1993. **361**(6409): p. 226-33.
14. Geha, R.S., et al., *Primary immunodeficiency diseases: an update from the international union of immunological societies primary immunodeficiency diseases classification committee*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2007. **120**(4): p. 776-794.
15. Picard, C., et al., *Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015*. Journal of clinical immunology, 2015. **35**(8): p. 696-726.
16. Bofill, M., et al., *Human B cell development. II. Subpopulations in the human fetus*. J Immunol, 1985. **134**(3): p. 1531-8.
17. Perez-Andres, M., et al., *Human peripheral blood B-cell compartments: A crossroad in B-cell traffic*. Cytometry Part B: Clinical Cytometry, 2010. **78**(S1): p. S47-S60.
18. Rowland, S.L., et al., *BAFF receptor signaling aids the differentiation of immature B cells into transitional B cells following tonic BCR signaling*. The Journal of Immunology, 2010. **185**(8): p. 4570-4581.
19. Allende, M.L., et al., *S1P1 receptor directs the release of immature B cells from bone marrow into blood*. Journal of Experimental Medicine, 2010. **207**(5): p. 1113-1124.

20. Chung, J.B., M. Silverman, and J.G. Monroe, *Transitional B cells: step by step towards immune competence*. Trends in immunology, 2003. **24**(6): p. 342-348.
21. Loder, F., et al., *B cell development in the spleen takes place in discrete steps and is determined by the quality of B cell receptor-derived signals*. Journal of Experimental Medicine, 1999. **190**(1): p. 75-90.
22. Cerutti, A., M. Cols, and I. Puga, *Marginal zone B cells: virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes*. Nature Reviews Immunology, 2013. **13**(2): p. 118-132.
23. Ghia, P., et al., *Ordering of human bone marrow B lymphocyte precursors by single-cell polymerase chain reaction analyses of the rearrangement status of the immunoglobulin H and L chain gene loci*. J Exp Med, 1996. **184**(6): p. 2217-29.
24. Pieper, K., B. Grimbacher, and H. Eibel, *B-cell biology and development*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2013. **131**(4): p. 959-971.
25. Mauri, C. and A. Bosma, *Immune regulatory function of B cells*. Annual review of immunology, 2012. **30**: p. 221-241.
26. Dorshkind, K. and E. Montecino-Rodriguez, *Fetal B-cell lymphopoiesis and the emergence of B-1-cell potential*. Nature Reviews Immunology, 2007(3): p. 213.
27. Warnatz, K. and M. Schlesier, *Flowcytometric phenotyping of common variable immunodeficiency*. Cytometry B Clin Cytom, 2008. **74**(5): p. 261-71.
28. Nutt, S.L., et al., *The generation of antibody-secreting plasma cells*. Nature Reviews Immunology, 2015. **15**(3): p. 160-171.
29. Allen, C.D., T. Okada, and J.G. Cyster, *Germinal-center organization and cellular dynamics*. Immunity, 2007. **27**(2): p. 190-202.
30. McHeyzer-Williams, L.J. and M.G. McHeyzer-Williams, *Antigen-specific memory B cell development*. Annu Rev Immunol, 2005. **23**: p. 487-513.
31. Nonoyama, S., et al., *B cell activation via CD40 is required for specific antibody production by antigen-stimulated human B cells*. J Exp Med, 1993. **178**(3): p. 1097-102.
32. Sonoda, E., et al., *Transforming growth factor b induces IgA production and acts additively with interleukin 5 for IgA production*. J. Exp. Med, 1989. **170**(1415): p. 1992.
33. Honjo, T., K. Kinoshita, and M. Muramatsu, *Molecular mechanism of class switch recombination: linkage with somatic hypermutation*. Annual review of immunology, 2002. **20**(1): p. 165-196.
34. Carsetti, R., M.M. Rosado, and H. Wardmann, *Peripheral development of B cells in mouse and man*. Immunol Rev, 2004. **197**: p. 179-91.
35. van der Burg, M., et al., *New frontiers of primary antibody deficiencies*. Cellular and Molecular Life Sciences, 2012. **69**(1): p. 59-73.
36. Durandy, A., S. Kracker, and A. Fischer, *Primary antibody deficiencies*. Nature Reviews Immunology, 2013. **13**(7): p. 519-533.
37. Fried, A.J. and F.A. Bonilla, *Pathogenesis, diagnosis, and management of primary antibody deficiencies and infections*. Clinical microbiology reviews, 2009. **22**(3): p. 396-414.
38. Tsukada, S., et al., *Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia*. Cell, 1993. **72**(2): p. 279-290.
39. Vetrie, D., et al., *The gene involved in X-linked agammaglobulinaemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases*. Nature, 1993. **361**(6409): p. 226-233.
40. Notarangelo, L.D., et al., *Primary immunodeficiencies: 2009 update*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2009. **124**(6): p. 1161-1178.
41. Conley, M.E., et al., *Primary B cell immunodeficiencies: comparisons and contrasts*. Annual review of immunology, 2009. **27**: p. 199-227.

42. Sriram, G., et al., *Single-gene disorders: what role could moonlighting enzymes play?* The American Journal of Human Genetics, 2005. **76**(6): p. 911-924.
43. Picard, C., et al., *Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015*. J Clin Immunol, 2015. **35**(8): p. 696-726.
44. Hermaszewski, R.A. and A.D. Webster, *Primary hypogammaglobulinaemia: a survey of clinical manifestations and complications*. Q J Med, 1993. **86**(1): p. 31-42.
45. Cunningham-Rundles, C. and C. Bodian, *Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients*. Clin Immunol, 1999. **92**(1): p. 34-48.
46. Fudenberg, H., et al., *Primary immunodeficiencies. Report of a World Health Organization Committee*. Pediatrics, 1971. **47**(5): p. 927-46.
47. Ameratunga, R., et al., *Comparison of Diagnostic Criteria for Common Variable Immunodeficiency Disorder*. Frontiers in Immunology, 2014. **5**(415).
48. Sneller, M.C., et al., *NIH conference. New insights into common variable immunodeficiency*. Ann Intern Med, 1993. **118**(9): p. 720-30.
49. Rosecan, M., F.E. Trobaugh, Jr., and W.H. Danforth, *Agammaglobulinemia in the adult*. Am J Med, 1955. **19**(2): p. 303-13.
50. Wall, R.L. and S. Saslaw, *Adult agammaglobulinemia*. AMA Arch Intern Med, 1955. **95**(1): p. 33-6.
51. Wollheim, F., *Inherited "acquired" hypogammaglobulinaemia*. Lancet, 1961. **1**(7172): p. 316-7.
52. Kirkpatrick, C.H. and R.N. Schimke, *Paternal immunoglobulin abnormalities in congenital hypogammaglobulinemia*. JAMA, 1967. **200**(2): p. 105-10.
53. Kamin, R.M., H.H. Fudenberg, and S.D. Douglas, *A genetic defect in "acquired" agammaglobulinemia*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1968. **60**(3): p. 881-5.
54. Cooper, M.D., A.R. Lawton, and D.E. Bockman, *Agammaglobulinaemia with B lymphocytes. Specific defect of plasma-cell differentiation*. Lancet, 1971. **2**(7728): p. 791-4.
55. Douglas, S.D., R.M. Kamin, and H.H. Fudenberg, *Letter: Lymphocytes in common variable (adult "acquired") hypogammaglobulinaemia*. Lancet, 1974. **2**(7886): p. 955.
56. Geha, R.S., et al., *Heterogeneity of "acquired" or common variable agammaglobulinemia*. N Engl J Med, 1974. **291**(1): p. 1-6.
57. Conley, M.E., L.D. Notarangelo, and A. Etzioni, *Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies)*. Clin Immunol, 1999. **93**(3): p. 190-7.
58. Volanakis, J.E., et al., *Major histocompatibility complex class III genes and susceptibility to immunoglobulin A deficiency and common variable immunodeficiency*. J Clin Invest, 1992. **89**(6): p. 1914-22.
59. Olerup, O., et al., *Shared HLA class II-associated genetic susceptibility and resistance, related to the HLA-DQB1 gene, in IgA deficiency and common variable immunodeficiency*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(22): p. 10653-7.
60. Kralovicova, J., et al., *Fine-scale mapping at IGAD1 and genome-wide genetic linkage analysis implicate HLA-DQ/DR as a major susceptibility locus in selective IgA deficiency and common variable immunodeficiency*. J Immunol, 2003. **170**(5): p. 2765-75.
61. Gual, L., et al., *Major histocompatibility complex haplotypes in Spanish immunoglobulin A deficiency patients: a comparative fine mapping microsatellite study*. Tissue Antigens, 2004. **64**(6): p. 671-7.

62. Salzer, U., et al., *Relevance of biallelic versus monoallelic TNFRSF13B mutations in distinguishing disease-causing from risk-increasing TNFRSF13B variants in antibody deficiency syndromes*. Blood, 2009. **113**(9): p. 1967-1976.
63. Martinez-Gallo, M., et al., *TAC1 mutations and impaired B-cell function in subjects with CVID and healthy heterozygotes*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2013. **131**(2): p. 468-476.
64. van de Ven, A.A. and K. Warnatz, *The autoimmune conundrum in common variable immunodeficiency disorders*. Current opinion in allergy and clinical immunology, 2015. **15**(6): p. 514-524.
65. Saikia, B. and S. Gupta, *Common variable immunodeficiency*. The Indian Journal of Pediatrics, 2016. **83**(4): p. 338-344.
66. Bogaert, D.J., et al., *Genes associated with common variable immunodeficiency: one diagnosis to rule them all?* Journal of medical genetics, 2016: p. jmedgenet-2015-103690.
67. Yong, P.F., et al., *Common variable immunodeficiency: an update on etiology and management*. Immunol Allergy Clin North Am, 2008. **28**(2): p. 367-86, ix-x.
68. De Santis, W., et al., *[Health care and infective aspects in patients affected by common variable immunodeficiency assisted in the Lazio Regional Authority Reference Centre for Primary Immunodeficiencies]*. Infez Med, 2006. **14**(1): p. 13-23.
69. Hammarstrom, L., I. Vorechovsky, and D. Webster, *Selective IgA deficiency (SIgAD) and common variable immunodeficiency (CVID)*. Clin Exp Immunol, 2000. **120**(2): p. 225-31.
70. Stray-Pedersen, A., T.G. Abrahamsen, and S.S. Froland, *Primary immunodeficiency diseases in Norway*. J Clin Immunol, 2000. **20**(6): p. 477-85.
71. Chapel, H. and C. Cunningham-Rundles, *Update in understanding common variable immunodeficiency disorders (CVIDs) and the management of patients with these conditions*. Br J Haematol, 2009. **145**(6): p. 709-27.
72. Cambroner, R., et al., *Up-regulation of IL-12 in monocytes: a fundamental defect in common variable immunodeficiency*. J Immunol, 2000. **164**(1): p. 488-94.
73. Bayry, J., et al., *Common variable immunodeficiency is associated with defective functions of dendritic cells*. Blood, 2004. **104**(8): p. 2441-3.
74. Yu, J.E., et al., *Toll-like receptor 7 and 9 defects in common variable immunodeficiency*. J Allergy Clin Immunol, 2009. **124**(2): p. 349-56, 356 e1-3.
75. Sneller, M.C. and W. Strober, *Abnormalities of lymphokine gene expression in patients with common variable immunodeficiency*. J Immunol, 1990. **144**(10): p. 3762-9.
76. Kondratenko, I., et al., *Lack of specific antibody response in common variable immunodeficiency (CVID) associated with failure in production of antigen-specific memory T cells*. MRC Immunodeficiency Group. Clin Exp Immunol, 1997. **108**(1): p. 9-13.
77. Farrington, M., et al., *CD40 ligand expression is defective in a subset of patients with common variable immunodeficiency*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(3): p. 1099-103.
78. Holm, A.M., et al., *Abnormal interleukin-7 function in common variable immunodeficiency*. Blood, 2005. **105**(7): p. 2887-90.
79. Paccani, S.R., et al., *Defective Vav expression and impaired F-actin reorganization in a subset of patients with common variable immunodeficiency characterized by T-cell defects*. Blood, 2005. **106**(2): p. 626-34.

80. Bonilla, F.A., et al., *International Consensus Document (ICON): common variable immunodeficiency disorders*. The journal of allergy and clinical immunology. In practice, 2016. **4**(1): p. 38.
81. van Schouwenburg, P.A., et al., *Application of whole genome and RNA sequencing to investigate the genomic landscape of common variable immunodeficiency disorders*. Clinical Immunology, 2015. **160**(2): p. 301-314.
82. Lopez-Herrera, G., et al., *Deleterious mutations in LRBA are associated with a syndrome of immune deficiency and autoimmunity*. The American Journal of Human Genetics, 2012. **90**(6): p. 986-1001.
83. Wang, J.-W., et al., *Identification of a novel lipopolysaccharide-inducible gene with key features of both A kinase anchor proteins and chs1/beige proteins*. The Journal of Immunology, 2001. **166**(7): p. 4586-4595.
84. Burns, S.O., et al., *LRBA gene deletion in a patient presenting with autoimmunity without hypogammaglobulinemia*. The Journal of allergy and clinical immunology, 2012. **130**(6): p. 1428.
85. Bonilla, F.A., et al., *Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency*. Ann Allergy Asthma Immunol, 2005. **94**(5 Suppl 1): p. S1-63.
86. Hausser, C., et al., *Common variable hypogammaglobulinemia in children. Clinical and immunologic observations in 30 patients*. Am J Dis Child, 1983. **137**(9): p. 833-7.
87. Park, M.A., et al., *Common variable immunodeficiency: a new look at an old disease*. Lancet, 2008. **372**(9637): p. 489-502.
88. Kokron, C.M., et al., *Clinical and laboratory aspects of common variable immunodeficiency*. An Acad Bras Cienc, 2004. **76**(4): p. 707-26.
89. Kainulainen, L., J. Nikoskelainen, and O. Ruuskanen, *Diagnostic findings in 95 Finnish patients with common variable immunodeficiency*. J Clin Immunol, 2001. **21**(2): p. 145-9.
90. Aghamohammadi, A., et al., *Comparison of pulmonary diseases in common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinaemia*. Respirology, 2010. **15**(2): p. 289-95.
91. Chapel, H., et al., *Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes*. Blood, 2008. **112**(2): p. 277-86.
92. Litzman, J., et al., *Mannose-binding lectin gene polymorphic variants predispose to the development of bronchopulmonary complications but have no influence on other clinical and laboratory symptoms or signs of common variable immunodeficiency*. Clin Exp Immunol, 2008. **153**(3): p. 324-30.
93. Detkova, D., et al., *Common variable immunodeficiency: association between memory B cells and lung diseases*. Chest, 2007. **131**(6): p. 1883-9.
94. Touw, C.M., et al., *Detection of pulmonary complications in common variable immunodeficiency*. Pediatr Allergy Immunol, 2009.
95. Aghamohammadi, A., et al., *Chromosomal radiosensitivity in patients with common variable immunodeficiency*. Immunobiology, 2008. **213**(5): p. 447-54.
96. Park, J.H. and A.I. Levinson, *Granulomatous-lymphocytic interstitial lung disease (GLILD) in common variable immunodeficiency (CVID)*. Clin Immunol, 2010. **134**(2): p. 97-103.
97. Arnold, D.F., et al., *Granulomatous disease: distinguishing primary antibody disease from sarcoidosis*. Clin Immunol, 2008. **128**(1): p. 18-22.
98. Bates, C.A., et al., *Granulomatous-lymphocytic lung disease shortens survival in common variable immunodeficiency*. J Allergy Clin Immunol, 2004. **114**(2): p. 415-21.

99. Michel, M., et al., *Autoimmune thrombocytopenic purpura and common variable immunodeficiency: analysis of 21 cases and review of the literature*. *Medicine (Baltimore)*, 2004. **83**(4): p. 254-63.
100. Cunningham-Rundles, C., *Hematologic complications of primary immune deficiencies*. *Blood Rev*, 2002. **16**(1): p. 61-4.
101. Cunningham-Rundles, C., *Autoimmune manifestations in common variable immunodeficiency*. *J Clin Immunol*, 2008. **28 Suppl 1**: p. S42-5.
102. Quinti, I., et al., *Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency*. *J Clin Immunol*, 2007. **27**(3): p. 308-16.
103. Teahon, K., et al., *Studies on the enteropathy associated with primary hypogammaglobulinaemia*. *Gut*, 1994. **35**(9): p. 1244-9.
104. Morimoto, Y. and J.M. Routes, *Granulomatous disease in common variable immunodeficiency*. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2005. **5**(5): p. 370-5.
105. Fasano, M.B., et al., *Sarcoidosis and common variable immunodeficiency. Report of 8 cases and review of the literature*. *Medicine (Baltimore)*, 1996. **75**(5): p. 251-61.
106. Blanco-Quiros, A., et al., *Common variable immunodeficiency. Old questions are getting clearer*. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2006. **34**(6): p. 263-75.
107. Gompels, M.M., et al., *Lymphoproliferative disease in antibody deficiency: a multi-centre study*. *Clin Exp Immunol*, 2003. **134**(2): p. 314-20.
108. Altschul, A. and C. Cunningham-Rundles, *Chronic urticaria and angioedema as the first presentations of common variable immunodeficiency*. *J Allergy Clin Immunol*, 2002. **110**(4): p. 664-5.
109. Mellemkjaer, L., et al., *Cancer risk among patients with IgA deficiency or common variable immunodeficiency and their relatives: a combined Danish and Swedish study*. *Clin Exp Immunol*, 2002. **130**(3): p. 495-500.
110. Geha, R.S., et al., *Primary immunodeficiency diseases: an update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee*. *J Allergy Clin Immunol*, 2007. **120**(4): p. 776-94.
111. Goldacker, S., et al., *Active vaccination in patients with common variable immunodeficiency (CVID)*. *Clin Immunol*, 2007. **124**(3): p. 294-303.
112. Orange, J.S., et al., *Use of intravenous immunoglobulin in human disease: a review of evidence by members of the Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology*. *J Allergy Clin Immunol*, 2006. **117**(4 Suppl): p. S525-53.
113. Mullis, K., et al. *Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction*. in *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*. 1986. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
114. Kubista, M., et al., *The real-time polymerase chain reaction*. *Molecular aspects of medicine*, 2006. **27**(2): p. 95-125.
115. Garcia, J.G. and S.-F. Ma, *Polymerase chain reaction: a landmark in the history of gene technology*. *Critical care medicine*, 2005. **33**(12): p. S429-S432.
116. Maxam, A.M. and W. Gilbert, *A new method for sequencing DNA*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1977. **74**(2): p. 560-564.
117. Sanger, F. and A.R. Coulson, *A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase*. *Journal of molecular biology*, 1975. **94**(3): p. 441N19447-446IN20448.
118. Teare, M.D. and J.H. Barrett, *Genetic linkage studies*. *The Lancet*, 2005. **366**(9490): p. 1036-1044.

119. Gibbs, J.R. and A. Singleton, *Application of genome-wide single nucleotide polymorphism typing: simple association and beyond*. PLoS Genet, 2006. **2**(10): p. e150.
120. Ng, S.B., et al., *Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes*. Nature, 2009. **461**(7261): p. 272-276.
121. Buermans, H. and J. Den Dunnen, *Next generation sequencing technology: advances and applications*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 2014. **1842**(10): p. 1932-1941.
122. Nijman, I.J., et al., *Targeted next-generation sequencing: a novel diagnostic tool for primary immunodeficiencies*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2014. **133**(2): p. 529-534. e1.
123. <http://esid.org/Working-Parties/Clinical/Resources/Diagnostic-criteria-for-ID2#Q5>.
124. Alangari, A., et al., *LPS-responsive beige-like anchor (LRBA) gene mutation in a family with inflammatory bowel disease and combined immunodeficiency*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2012. **130**(2): p. 481-488.e2.
125. López-Herrera, G., et al., *A novel CD40LG deletion causes the hyper-IgM syndrome with normal CD40L expression in a 6-month-old child*. Immunologic research, 2015. **62**(1): p. 89-94.
126. Ogura, Y., et al., *A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease*. Nature, 2001. **411**(6837): p. 603-606.
127. Lévy, E., et al., *LRBA deficiency with autoimmunity and early onset chronic erosive polyarthritis*. Clinical Immunology, 2016. **168**: p. 88-93.
128. Charbonnier, L.-M., et al., *Regulatory T-cell deficiency and immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked-like disorder caused by loss-of-function mutations in LRBA*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2015. **135**(1): p. 217-227. e9.
129. Serwas, N.K., et al., *Atypical manifestation of LRBA deficiency with predominant IBD-like phenotype*. Inflammatory bowel diseases, 2015. **21**(1): p. 40-47.
130. Gamez-Diaz L, August D, Stepensky P, et al. The extended phenotype of LPS-responsive beige-like anchor protein (LRBA) deficiency. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2016; **137**(1): 223-30.

EK 1.



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

06100 Sıhhiye-Ankara
 Telefon: 0 (312) 305 1082 - Faks: 0 (312) 310 0580
 E-posta: goetik@hacettepe.edu.tr

1.4 Mayıs 2013

Sayı: 16969557 -533

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 24.04.2013 ÇARŞAMBA
Toplantı No : 2013/08
Proje No : GO 13/228 (Değerlendirme Tarihi (27.03.2013))
Karar No : GO 13/228 - 15

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı İmmünoloji Ünitesi öğretim üyelerinden Doç.Dr.Deniz AYVAZ'ın sorumlu araştırmacı olduğu Dr.Sevil Oskay HALAÇLI, Prof.Dr.Özden SANAL ve Prof.Dr.İlhan TEZCAN ile birlikte çalışacakları GO 13/228 kayıt numaralı ve "Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (YDİY) Common Variable Immunodeficiency (CVID) Tanılı Hastalarda Lrba Defektinin Araştırılması" başlıklı proje önerisi Kurulumuzda değerlendirilmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | |
|---|--|
| 1. Prof. Dr. Nurten Akarsu (Başkan) | 9 Prof. Dr. Melahat Görduysus (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Nüket Örnek Büken (Üye) | 10. Prof. Dr. Cansın Saçkesen (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Adırım Sara (Üye) | 11. Doç. Dr. R. Köksal Özgül (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Sevda F. Müftüoğlu (Üye) | 12. Doç. Dr. Ayşe Lale Doğan (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Cenk Sökmensüer (Üye) | GÖREVLİ
13 Doç. Dr. S. Kutay Demirkan (Üye) |
| 6. Prof. Dr. Volga Bayrakçı Tunay (Üye) | 14. Doç. Dr Leyla Dine (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Songül Vaizoğlu (Üye) | 14. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev Turnagöl (Üye) |
| 8. Prof. Dr. Yılmaz Selim Erdal (Üye) | GÖREVLİ
15. Av. Meltem Onurlu (Üye) |

ÖZGEÇMİŞ

1. KİŞİSEL BİLGİLER

ADI, SOYADI:	Deniz Nazire Çağdaş Ayvaz
DOĞUM TARİHİ ve YERİ:	28.11.1974, Ankara
HALEN GÖREVİ: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı, Doçent Doktor	
YAZIŞMA ADRESİ: Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk İmmünoloji Bölümü Sıhhiye, 06100 ANKARA	
TELEFON: 0312 3051172 GSM:0532 4362426	
E-MAIL: deniz.ayvaz@hacettepe.edu.tr	
Tarih	Eğitim
1992-1998	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (Tıp doktoru)
1999-2004	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı (Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanlığı)
2009-2014	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı (Çocuk İmmünoloji ve Allerji Yan Dal Uzmanlığı)
2012-2017	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü İmmünoloji Doktorası
Akademik Ünvanları	
1999-2004	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi
2009-2012	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı Araştırma görevlisi
2012-2015	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi

SON BEŞ YILDAKİ ÖNEMLİ YAYINLAR

Low T Cell Numbers Resembling T-B+ SCID in a Patient with Wiskott-Aldrich Syndrome and the Outcome of Two Hematopoietic Stem Cell Transplantations.

Çagdas D, Aytac S, Kuskonmaz B, Ariga T, van der Burg M, Cetinkaya DU, Sanal Ö, Tezcan İ.

J Clin Immunol. 2017 Jan;37(1):19-21. doi: 10.1007/s10875-016-0356-4. Epub 2016 Nov 30. No abstract available.

RASGRP1 deficiency causes immunodeficiency with impaired cytoskeletal dynamics.

Salzer E, Çagdas D, Hons M, Mace EM, Garncarz W, Petronczki ÖY, Platzer R, Pfaffer L, Bilic I, Ban SA, Willmann KL, Mukherjee M, Supper V, Hsu HT, Banerjee PP, Sinha P, McClanahan F, Zlabiner GJ, Pickl WF, Gribben JG, Stockinger H, Bennett KL, Huppa JB, Dupré L, Sanal Ö, Jäger U, Sixt M, Tezcan I, Orange JS, Boztug K.

Nat Immunol. 2016 Dec;17(12):1352-1360. doi: 10.1038/ni.3575. Epub 2016 Oct 24.

Course of IL-2-inducible T-cell kinase deficiency in a family: lymphomatoid granulomatosis, lymphoma and allogeneic bone marrow transplantation in one sibling; and death in the other.

Çağdaş D, Erman B, Hanoğlu D, Tavil B, Kuşkonmaz B, Aydın B, Akyüz C, Uçkan D, Sanal Ö, Tezcan İ.

Bone Marrow Transplant. 2017 Jan;52(1):126-129. doi: 10.1038/bmt.2016.185. Epub 2016 Jul 25.

Combined immunodeficiency with CD4 lymphopenia and sclerosing cholangitis caused by a novel loss-of-function mutation affecting IL21R.

Erman B, Bilic I, Hirschmugl T, Salzer E, Çagdas D, Esenboga S, Akcoren Z, Sanal O, Tezcan I, Boztug K.

Haematologica. 2015 Jun;100(6):e216-9. doi: 10.3324/haematol.2014.120980. Epub 2015 Mar 13. No abstract available.

Identification of ITK deficiency as a novel genetic cause of idiopathic CD4+ T-cell lymphopenia.

Serwas NK, Çagdas D, Ban SA, Bienemann K, Salzer E, Tezcan I, Borkhardt A, Sanal O, Boztug K.

Blood. 2014 Jul 24;124(4):655-7. doi: 10.1182/blood-2014-03-554930. No abstract available.

Recurrent viral infections associated with a homozygous CORO1A mutation that disrupts oligomerization and cytoskeletal association.

Yee CS, Massaad MJ, Bainter W, Ohsumi TK, Föger N, Chan AC, Akarsu NA, Aytekin C, Ayvaz DÇ, Tezcan I, Sanal Ö, Geha RS, Chou J.

J Allergy Clin Immunol. 2016 Mar;137(3):879-88.e2. doi: 10.1016/j.jaci.2015.08.020. Epub 2015 Oct 21.

STK4 (MST1) deficiency in two siblings with autoimmune cytopenias: A novel mutation.

Halacli SO, Ayvaz DC, Sun-Tan C, Erman B, Uz E, Yilmaz DY, Ozgul K, Tezcan İ, Sanal O.

Clin Immunol. 2015 Dec;161(2):316-23. doi: 10.1016/j.clim.2015.06.010. Epub 2015 Jun 25.