

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

**YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİK HASTALARININ  
KLİNİK, İMMÜNOLOJİK VE GENETİK ÖZELLİKLERİNİN B  
HÜCRE ALT GRUP ÖZELLİKLERİ VE KREC SAYILARI İLE  
KORELASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

**İsmail YAZ**

**İmmünoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA**

**2019**

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

**YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİK HASTALARININ  
KLİNİK, İMMÜNOLOJİK VE GENETİK ÖZELLİKLERİNİN B  
HÜCRE ALT GRUP ÖZELLİKLERİ VE KREC SAYILARI İLE  
KORELASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

**İsmail YAZ**

**İmmünoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ**

**ANKARA**

**2019**

## ONAY SAYFASI

**Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik Hastalarının Klinik, İmmünolojik ve Genetik Özelliklerinin B Hücre Alt Grup Özellikleri ve KREC Sayıları ile Korelasyonunun Araştırılması**

**Öğrenci: İsmail YAZ**

**Danışman: Doç. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ**

Bu tez çalışması 15.01.2019 tarihinde jürimiz tarafından "İmmünoloji Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:**

*Prof. Dr. Feyzi İlhan TEZCAN*

(imza) 

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD / İmmünoloji Bilim Dalı

**Tez Danışmanı:**

*Doç. Dr. Deniz Nazire Çağdaş Ayvaz*

(imza)



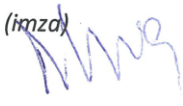
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD / İmmünoloji Bilim Dalı

**Üye:**

*Prof. Dr. Fatma GÜMRÜK*

(imza)



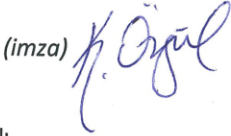
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD / Hematoloji Bilim Dalı

**Üye:**

*Prof. Dr. Rıza Köksal ÖZGÜL*

(imza)



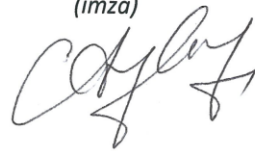
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD / Metabolizma Bilim Dalı

**Üye:**

*Prof. Dr. Cemalettin AYBAY*

(imza)



Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

İmmünoloji Anabilim Dalı

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

16 Ocak 2019

*Prof. Dr. Diclehan Orhan*

Enstitü Müdürü

Y.

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

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

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

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

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

16 / 01 / 2019  
 İsmail YAZ (İmza)

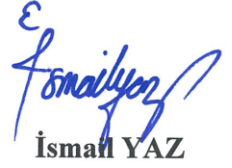
“*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*”

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

\* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

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



İsmail YAZ

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin başlangıcında bana güvenen ve inanan, eğitimim sürecinde engin bilgi ve tecrübeleriyle bana ışık tutan, kendimi geliştirmemde yol gösteren danışmanım Sn. Doç. Dr. Deniz Nazire Çağdaş Ayvaz'a; akademik bilgisini benden esirgemeyen, tez çalışmam için gereken tüm imkanları sağlayan, her zaman bilimsel düşünceyi geliştirmeyi ve literatüre yenilikler katmayı amaçlayan yol göstericimiz İmmünoloji Bilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. İlhan Tezcan'a; çalışmalarım için her türlü imkanı sağlayan, bilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen Sn. Dr. Çağman Tan'a eşsiz katkıları ve destekleri için teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarım sırasında yapmış oldukları yardım ve katkılarından dolayı Dr. Sevil Oskay Halaçlı, Bio. Özlem Karapınar ve İmmünoloji Laboratuvarı ekibine; hasta ve kontrol örneklerinin sağlanmasındaki yardımlarından dolayı İmmünoloji Bölümü ve Kardiyoloji Bölümü hemşirelerine, arkadaşlarım Sidem Tekeoğlu, Dr. Ece Erci, Dr. İsmail Ulusoy ve değerli dostum Dr. Özenç Mutaf'a en içten duygularıyla minnettarlığımı ifade ederim.

Büyük bir sabır ve özveri ile istatistiksel analizlerim için birlikte çalıştığımız, akademik bilgi birikimini benimle paylaşmaktan çekinmeyen Araş. Gör. Can Koşukcu'ya; tanıştığımız günden bu yana tüm zorlukları benimle birlikte göğüsleyen, bana destek olan, sevgi ve hoşgörü ile yaklaşan, motivasyon kaynağım, kıymetli dostum Uzm. Bio. Begüm Özbek'e çok teşekkür ederim.

Beni her zaman yüreklendiren, bana destek olan ve güvenen, öğrencisi olmaktan onur duyduğum Sn. Prof. Dr. Sema İşisağ Üçüncü'ye en içten duygularıyla şükranlarımı sunarım.

Dostluğumuzun hiçbir niteliğin üzerinde olmadığı ve bunu attığımız her adımda bana hissettiren, birlikte büyüdüğüm, birlikte çocuklaşabildiğim kıymetli dostum Eda Yılmaz'a çok teşekkür ederim.

Son olarak beni koşulsuz seven ve her zaman destekleyen, bana güç veren, ideallerimin arkasında duran, hiçbir fedakarlıktan çekinmeyen annem Ayşe Çağan ve kardeşim Emre Yaz'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

**Yaz, İ. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik Hastalarının Klinik, İmmünolojik ve Genetik Özelliklerinin B Hücre Alt Grup Özellikleri ve KREC Sayıları ile Korelasyonunun Araştırılması. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Entitüsü İmmünoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2019.** Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (YDİY/CVID), B hücre farklılaşması ve antikor yapımında bozukluk ile seyreden, aşılara zayıf yanıt oluşması ve tekrarlayan enfeksiyonlar ile karakterize olan primer antikor eksikliklerinin heterojen bir grubudur. Son yıllarda, B hücre popülasyonlarının fenotiplendirmesine dayanarak hastalığın sınıflandırılmasına yönelik girişimlerde bulunulmuştur. Kappa-silici rekombinasyon eksizyon halkalarının (KREC) miktar tayinine dayanan gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) testi B hücre hastalıklarında kullanılmaktadır. KREC'ler, kemik iliğinde, B hücre reseptörü (BHR) genlerinin V(D)J yeniden düzenlenmesi sırasında ortaya çıkan epizomal DNA parçalarıdır. Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı İmmünoloji Bölümü'nde YDİY tanısı alan 30 hastanın akım sitometri testi ile B hücre alt grupları, RT-qPCR testi ile de KREC sayıları 41 sağlıklı kontrol ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Hasta grubunun yaş ortalaması  $28.5 \pm 15.6$  yıl idi. Cinsiyetler arası dağılım oranı 1/1 idi. Ebeveyn akrabalığı oranı %33 olarak bulundu. En sık başvuru şikayeti sık enfeksiyon idi. IgM seviyeleri normal düzeyde olan 6 hasta (%20), IgA seviyeleri normal düzeyde olan 2 hasta (%6,67) vardı. Yirmi hastanın (%66,67) CD19<sup>+</sup> hücre sayısı yaşa göre düşükken, 14 hastanın (%46,67) CD4<sup>+</sup> hücre sayısı düşüktü. Sağlıklı kontrol grubunda yaş arttıkça B hücre sayılarının azaldığı görüldü, B hücre alt gruplarından transisyonel B hücre, naif B hücre ile yaş arasında negatif korelasyon bulundu. Kontrol grubunda KREC sayıları cinsiyetten etkilenmiyordu ve artan yaş ile birlikte azalmaktaydı ( $p < 0,01$ ). Kontrol ve hasta gruplarına ait toplam B hücre sayıları ile KREC sayıları arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ( $p < 0,01$ ). Çalışmada ayrıca sağlıklı popülasyona ait yaşa göre B hücre alt grup sayıları ve KREC sayıları elde edilmiştir. Kontrol grubunda B hücreleri ve KREC düzeyinin yaşla olan negatif korelasyonun değerlendirilmesi, immün yaşlanmanın gösterilmesi açısından da önemli olabilir.

**Anahtar kelimeler:** YDİY, B hücre, KREC, RT-qPCR, akım sitometri

## ABSTRACT

**Yaz, I. Investigation of the Correlation Between Clinic, Immunologic and Genetic Features with B Cell Subgroup Characteristics and KREC Levels of Common Variable Immunodeficiency Patients. Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Immunology Program, Master's Thesis, Ankara, 2019.** Common variable immunodeficiency (CVID) is a heterogeneous group of primary antibody deficiencies characterized by recurrent infections and poor response to vaccines with defects in B cell differentiation and antibody production. In recent years, attempts have been made to classify CVID based on immunophenotyping of B cell populations. Real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) for quantification of Kappa-Deleting Recombination Excision Circles (KRECs) is used for neonatal screening of B cell immunodeficiencies. KRECs are episomal DNA fragments that occur during V(D)J rearrangement of B cell receptor (BCR) genes in bone marrow. 30 patients diagnosed with CVID in Section of Pediatric Immunology, Hacettepe University, İhsan Doğramacı Children's Hospital were included in this study. B cell subgroups of CVID patients were evaluated by flow cytometry, KREC levels of the patients were measured with RT-qPCR and evaluated in comparison with 41 healthy controls. The mean age of the patients was  $28,5 \pm 15.6$  years. The distribution between the genders was 1:1. 33% of patients have consanguineous parents. The most common complaint of admission was frequent infection. There were 6 patients (20%) with normal IgM levels and 2 patients (6.67%) with normal IgA levels.  $CD19^+$  cell counts were low in 20 patients (66.67%) while 14 patients (46.67%) had low  $CD4^+$  cell numbers. There was a decrease in the number of B cells of the controls with the increasing age ( $p < 0.01$ ). Transitional B cells and naive B cells were inversely correlated with age ( $p < 0.01$ ). KREC levels were not different between genders. However, KREC level was inversely correlated with age only in healthy controls ( $p < 0.01$ ). Total B cell numbers were positively correlated with KREC levels of patients and controls ( $p < 0.01$ ). In the study, B cell subgroup numbers and KREC levels in the normal population in our unit were obtained according to age. Evaluation of the inverse correlation between B cells/KREC levels and age of controls may also be important in terms of demonstration of immune aging.

**Keywords:** CVID, B cell, KREC, RT-qPCR, flow cytometry



## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xvi
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Primer İmmün Yetmezlikler	3
2.2. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik	5
2.2.1. B Lenfosit Gelişimi	8
2.2.2. B Hücre Reseptörü	16
2.2.3. Olgunlaşmamış B Hücreler ve Reseptör Düzenlenmesi	17
2.2.4. B Hücre Aktivasyonu	20
2.2.5. İmmüoglobülin Gen Lokuslarının Organizasyonu	26
2.2.6. V(D)J Rekombinasyonu	28
2.2.7. V(D)J Rekombinasyonunun Mekanizması	31
2.2.8. Kappa-Silici Rekombinasyon Eksizyon Halkası (KREC)	34
2.2.9. KREC Seviyesi Belirlenmesinin Önemi	36
2.2.10. T Hücre Reseptörü Alfa Sabit Geni (TRAC)	38
2.3. YDİY Klinik Özellikleri	38
2.3.1. Enfeksiyonlar	39
2.3.2. Pulmoner Komplikasyonlar	40
2.3.3. Hematolojik Bulgular	41
2.3.4. Granülom	41
2.3.5. Malignansi	42
2.3.6. Romatolojik Bulgular	42
2.3.7. Gastrointestinal Sistem ve Karaciğer Komplikasyonları	42

2.4. YDİY Tanısı	43
2.5. YDİY Tedavi	44
2.6. YDİY Hastalarının Sınıflandırılması	44
2.7. YDİY Genetik Özellikleri	47
<b>3. BİREYLER VE YÖNTEM</b>	<b>57</b>
3.1. Bireyler	57
3.2. Yöntem	57
3.2.1. Akım Sitometri	57
3.2.2. DNA İzolasyonu	60
3.2.3. Bakteri Kültürü	60
3.2.4. Plazmit İzolasyonu	60
3.2.5. Gerçek Zamanlı Kantitatif Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu	63
3.2.6. İstatistiksel Analizler	65
<b>4. BULGULAR</b>	<b>67</b>
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>82</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER</b>	<b>88</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>89</b>
<b>8. EKLER</b>	
Ek 1. Tez Çalışmasıyla İle İlgili Etik Kurul İzni	
Ek 2. Orjinallik Ekran Çıktısı	
Ek 3. Dijital Makbuz	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>ABD</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>AID</b>	Aktivasyonla indüklenen sitidin deaminaz
<b>AKİY</b>	Ağır kombine immün yetmezlik
<b>BAFF</b>	B hücre aktive edici faktör
<b>BHR</b>	B hücre reseptörü
<b>BLH</b>	Benign lenfoid hiperplazi
<b>BLyS</b>	B lenfosit stimülatörü
<b>BTK</b>	Bruton'un tirozin kinazı
<b>C</b>	Constant/sabit
<b>CD40L</b>	CD40 ligandı
<b>CDR</b>	Complementarity-determining region/tamamlayıcılık belirleyici bölge
<b>CH</b>	Constant heavy
<i>cj</i>	Coding joint/kodlama yapan kısım
<b>CMV</b>	Sitomegalovirüs
<b>CVID</b>	Common Variable Immunodeficiency
<b>D</b>	Çeşitlilik/diversity
<b>DH</b>	Dendritik hücre
<b>DNA-PK</b>	DNA-bağımlı protein kinaz
<b>EBV</b>	Epstein-Barr virüsü
<b>ESID</b>	European Society for Immunodeficiencies
<b>FDH</b>	Foliküler dendritik hücre
<b>FRH</b>	Fibroblastik retiküler hücre
<b>GİS</b>	Gastrointestinal sistem
<b>GLILD</b>	Granülomatöz lenfositik intersitisyel akciğer hastalığı
<b>GM</b>	Germinal merkez
<b>HIV</b>	İnsan immün yetmezlik virüsü
<b>HKH</b>	Hematopoetik kök hücre
<b>IFN</b>	İnterferonlar
<b>Ig</b>	İmmüoglobulin
<b>IgCκ</b>	Ig kappa sabit bölge

<b>IgJκ</b>	Ig kappa birleşim bölgesi
<b>IgVκ</b>	Ig kappa değişken bölge
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>ITP</b>	İmmün trombositopenik purpura
<b>IUIS</b>	International Union of Immunological Societies
<b>IVIG</b>	İntravenöz immünoglobülin
<b>J</b>	Joining/birleşim
<b>KE3'D</b>	Ig C κ geninin 3' ucunun distal bölgesi
<b>KE3'P</b>	Ig C κ geninin 3' ucunun proksimal bölgesi
<b>KİY</b>	Kombine immün yetmezlik
<b>KO</b>	Knock-out
<b>KREC</b>	Kappa-silici rekombinasyon eksizyon halkası
<b>NRH</b>	Nodüler rejeneratif hiperplazi
<b>OD</b>	Otozomal dominant
<b>OHA</b>	Otoimmün hemolitik anemi
<b>Oİ</b>	Otoimmünite
<b>OR</b>	Otozomal resesif
<b>PAE</b>	Primer antikor eksiklikleri
<b>PALS</b>	Periarteriolar lenfoid kılıf
<b>PBMC</b>	Periferel kan mononükleer hücre
<b>PBS</b>	Phosphate buffered saline
<b>PI3K</b>	Fosfatidilinositol 3-kinaz
<b>PİY</b>	Primer immün yetmezlik
<b>pMHC</b>	Peptid-majör doku uygunluk kompleksi
<b>pre-BHR</b>	Pre B hücre reseptörü
<b>RAG-1</b>	Rekombinasyon aktive edici gen-1
<b>RAG-2</b>	Rekombinasyon aktive edici gen-2
<b>RPM</b>	Round per minute
<b>RSS</b>	Rekombinasyon sinyal sekansları
<b>RT-qPCR</b>	Gerçek zamanlı (real time) kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu
<b>SCID</b>	Severe Combined Immunodeficiency
<b>sj</b>	Signal joint/sinyal kısmı

<b>SYE</b>	Solunum yolu enfeksiyonu
<b>T1 B hücresi</b>	Transisyonel tip 1 B hücresi
<b>T2 B hücresi</b>	Transisyonel tip 2 B hücresi
<b>TAE</b>	Tris-acetate-EDTA
<b>Td</b>	T-bağımlı
<b>TdT</b>	Terminal deoksinükleotidil transferaz
<b>TGF<math>\beta</math></b>	Transforme edici büyüme faktörü $\beta$
<b>Th</b>	Yardımcı T hücresi
<b>THR</b>	T hücre reseptörü
<b>Ti-1</b>	T-bağımsız-1
<b>Ti-2</b>	T-bağımsız-2
<b>TNF</b>	Tümör nekroz faktörü
<b>TRAC</b>	T hücre reseptörü alfa sabiti
<b>TREC</b>	T hücre reseptörü eksizyon halkası
<b>ÜSYE</b>	Üst solunum yolu enfeksiyonu
<b>V</b>	Variable/değişken
<b>XLA</b>	X'e bağlı agammaglobulinemi
<b>YDİY</b>	Yaygın değişken immün yetmezlik
<b><math>\kappa</math></b>	Kappa
<b><math>\kappa</math>DE</b>	Kappa-Deleting Element
<b><math>\lambda</math></b>	Lambda

## ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1.	Türkiye'deki primer immün yetmezliklerin dağılımı.	4
2.2.	Hacettepe üniversitesi başlıca immün yetmezlik grupları.	5
2.3.	B hücre olgunlaşmasının aşamaları.	8
2.4.	Ağır ve hafif zincirin yeniden düzenlenmesi.	9
2.5.	Pre-B hücre reseptörü.	11
2.6.	IgM ve IgD'nin birlikte ifadesi.	14
2.7.	T bağımlı antijen ile B hücre aktivasyonu.	21
2.8.	Ig ağır zincir ve hafif zincir lokusları.	26
2.9.	Ig domainleri.	28
2.10.	Rekombinasyon sinyal sekansları (RSS).	30
2.11.	Delesyon ve inversiyon.	31
2.12.	V(D)J rekombinasyon olayı.	32
2.13.	KREC yapısı.	35
2.14.	KREC'ler ve hücre bölünmesi.	36
2.15.	YDİY'de etkilenen organ sistemleri.	39
2.16.	EUROclass sınıflandırması.	46
2.17.	Periferel B hücre gelişimi.	47
3.1.	Bir kontrole ait akım sitometri görüntüsü.	59
3.2.	Bir hastaya ait akım sitometri görüntüsü.	59
3.3.	Restriksiyon enzimleri ile kesimden sonra agaroz jel TREC-KREC- TRAC dizileri.	62
3.4.	Plazmitteki kesim bölgeleri.	63
3.5.	KREC için standart eğri.	65
3.6.	plasmid dilüsyonlarına ait RT-qPCR görüntüsü.	65
4.1.	Hasta grubunda yaş dağılımı.	67
4.2.	YDİY hastalarının başvuru şikayetleri.	68
4.3.	YDİY hastalarında görülen klinik özellikler.	69
4.4.	IgA seviyelerine göre hasta sayıları.	70
4.5.	IgM seviyelerine göre hasta sayıları.	71

<b>4.6.</b>	24 Yaşın altındaki ve üstündeki hasta gruplarının ortalama toplam B hücre (/µl) ve b hücre alt gruplarının sayıları (/µl).	73
<b>4.7.</b>	Kontrol grubunda yaşa göre B hücre sayısı (/µl).	74
<b>4.8.</b>	Hasta grubunda yaşa göre B hücre sayısı (/µl).	74
<b>4.9.</b>	Hasta ve kontrol grubunda mililitredeki KREC sayısı grafiği.	75
<b>4.10.</b>	Kontrol grubunda yaşa göre KREC/ml.	76
<b>4.11.</b>	Hasta grubunda yaşa göre KREC/ml.	76
<b>4.12.</b>	Hasta ve kontrol grubunda KREC – B hücre sayısı.	77

**TABLolar**

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b>	Uluslararası immünoloji toplulukları birliğinin PİY sınıflandırması.	3
<b>2.2.</b>	Çeşitli ülkelerde YDİY prevelansı.	7
<b>2.3.</b>	Freiburg sınıflandırması.	45
<b>2.4.</b>	Paris sınıflandırması.	45
<b>2.5.</b>	B Hücre paternleri sınıflandırması.	47
<b>2.6.</b>	YDİY ile ilişkili genler.	49
<b>3.1.</b>	RT-qPCR için kullanılan primer ve prob dizileri.	64
<b>4.1.</b>	B hücre alt gruplarının sayılarını yaşa göre normal aralıkları.	79
<b>4.2.</b>	YDİY sınıflandırmalarına göre sınıflandırılan hastalar.	80
<b>4.3.</b>	Freiburg sınıflandırmasına ait grupların KREC sayıları.	80
<b>4.4.</b>	Paris sınıflandırmasına ait grupların KREC sayıları.	81
<b>4.5.</b>	EUROclass sınıflandırmasına ait grupların KREC sayıları.	81
<b>4.6.</b>	B Hücre paternleri sınıflandırmasına ait grupların KREC sayıları.	81



## 1. GİRİŞ

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (YDİY), erişkinlerde ve çocuklarda en sık rastlanılan semptomatik primer immün yetmezliktir. B hücre farklılaşması ve antikor yapımında bozukluk ile seyreden, aşılara zayıf yanıt oluşması ve tekrarlayan enfeksiyonlar ile karakterize bir hastalıktır (1).

Yaygın değişken immün yetmezlik, çeşitli klinik ve immünolojik özellikleri olan primer antikor eksikliklerinin heterojen bir grubudur (1). Bu nedenle son yıllarda, homojen gruplar oluşturmak, prognoz, izlem ve tedavi bütünlüğü sağlamak amacı ile çeşitli sınıflandırmalar yapılmaya çalışılmıştır. 2002 yılında, Freiburg Sınıflaması ile, daha sonra Paris Sınıflandırması ile ve son olarak EUROclass Sınıflandırması ile YDİY hastaları sınıflandırılmıştır (2–4). Yakın zamanda, Driessen ve arkadaşları B hücre alt grup anormalliklerine dayalı bir sınıflandırma önermiştir. B hücre paternleri sınıflandırmasına göre YDİY hastaları, B hücre olgunlaşma aşamasındaki kesintiye dayanarak beş farklı grupta sınıflandırılmıştır (Patern 1-5) (5).

Yaygın değişken immün yetmezlik hasta gruplarını homojen alt gruplara ayırmak amacıyla, kemik iliği ve kanda akım sitometri ile lenfosit alt grupları belirlenmekte ve fonksiyonel analizler yapılmaktadır. Son yıllarda, ağır kombine immün yetmezlik ve B hücre immün yetmezliklerinin yeni doğan taraması için T hücre reseptörü eksizyon halkalarının (TREC) ve kappa-silici rekombinasyon eksizyon halkalarının (KREC) miktarlarının belirlenmesine dayanan bir gerçek zamanlı (real time) kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) testi kullanılmaktadır (6–8). TREC'ler ve KREC'ler, sırasıyla timusta ve kemik iliğinde T hücre reseptörü (THR) ve B hücre reseptörü (BHR) genlerinin V(D)J yeniden düzenlenmesi sırasında ortaya çıkan stabil, çift zincirli, epizomal DNA parçalarıdır (6,9). TREC ve KREC sayılarının belirlenmesi lenfosit gelişimi için biyobelirteçler olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada; Hacettepe Üniversitesi Pediatrik İmmünoloji Bölümünde tanı alan yaygın değişken immün yetmezlikli hastaların klinik ve immünolojik verileri, B hücre alt grupları, KREC sayıları değerlendirilecek B hücre alt grupları Freiburg, Paris, EUROclass ve B Hücre Paternlerine göre sınıflandırılacaktır. Bu sınıflandırmalarla birlikte, hastaların klinik ve immünolojik verileri, B hücre altgrupları ve KREC sayıları arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu şekildeki bir değerlendirmenin hastaların klinik ve immünolojik özelliklerinin daha iyi anlaşılması,

popülasyonumuzdaki hasta kümelerinin ve B hücre işlev bozukluğunun altta yatan moleküler mekanizmasının belirlenmesi, hastaların izlemi, oluşacak komplikasyonlar ve tedavilerin planlanması açısından yararlı olacağı düşünülmüştür. Karmaşık bir hastalık olan yaygın değişken immün yetmezlik hastalığı için B hücre altgrupları yanında KREC'in değerlendirilmesi ve elde edilen verilerin KREC sayısı temelli farklı bir sınıflandırma olasılığının da araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Primer İmmün Yetmezlikler

Primer immün yetmezlikler (PİY), immün sistemin bir veya daha fazla bileşeninin olmaması veya bu bileşenlerin zayıf işleviyle karakterize, heterojen bir hastalık grubudur. Etkilenen bireyler sık ve ağır enfeksiyonlara, otoimmüniteye, anormal inflamasyona ve maligniteye yatkın hale gelir. Literatürde tanımlanan ilk primer immün yetmezlik; 1952 yılında, Albay Ogden Bruton (1908–2003) tarafından, tekrarlayan enfeksiyonları olan 8 yaşında bir çocukta gösterilen X'e bağlı agamaglobulinemi'dir (*XLA-X linked agammaglobulinemia*) (10). PİY tanısının konulmasında moleküler teknikler her geçen gün önem kazanmaktadır. Konvansiyonel yöntemlerin yanında özellikle son yıllarda hızla gelişen yeni nesil dizileme teknolojileri PİY alanındaki keşifleri hızlandırmıştır. Bugüne kadar PİY için 344 genin üzerinde etkili olduğu 354 farklı bozukluk karakterize edilmiştir (11).

Uluslararası İmmünoloji Toplulukları Birliği (*IUIS-International Union of Immunological Societies*), 2017 yılındaki raporunda PİY'leri 9 gruba ayırmıştır (11,12). Bu 9 PİY grubu, her bir grubun içerdiği hastalık ve gen sayısı Tablo 2.1.'de gösterilmektedir.

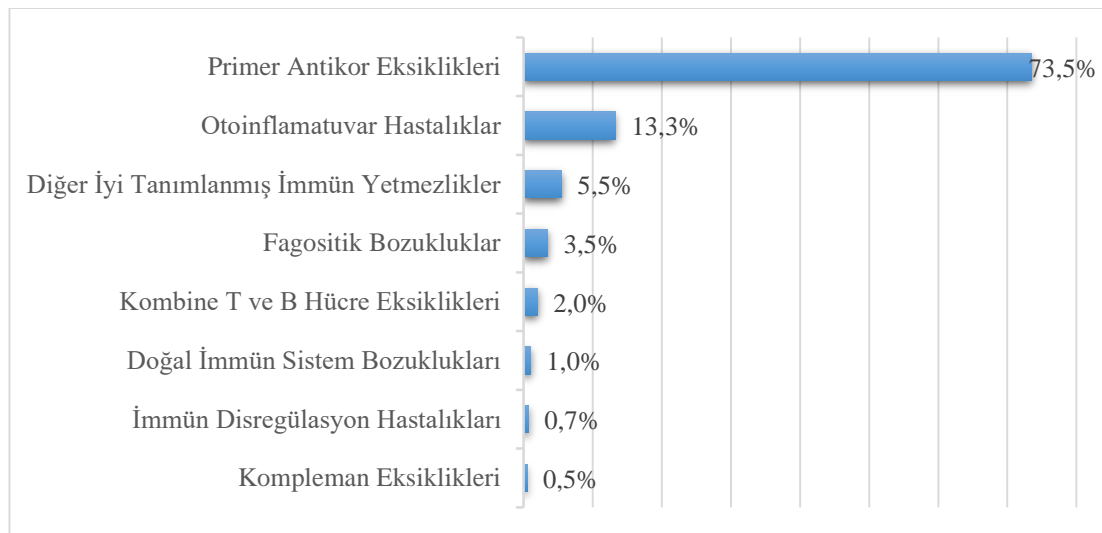
**Tablo 2.1.** Uluslararası immünoloji toplulukları birliğinin PİY sınıflandırması (11).

IUIS Sınıflandırma Grubu	Primer İmmün Kategorisi	Gen Sayısı	Hastalık Sayısı
1	Kombine İmmün Yetmezlikler	49	49
2	Sendromik Kombine İmmün Yetmezlikler	65	67
3	Primer Antikor Eksiklikleri	33	40
4	İmmün Disregülasyon Hastalıkları	40	40
5	Fagositik Bozukluklar	39	39
6	Doğal İmmün Sistem Bozuklukları	52	52
7	Otoinflamatuvar Hastalıklar	36	36
8	Kompleman Eksiklikleri	30	30
9	Fenokopik Primer İmmün Yetmezlikler	6	12

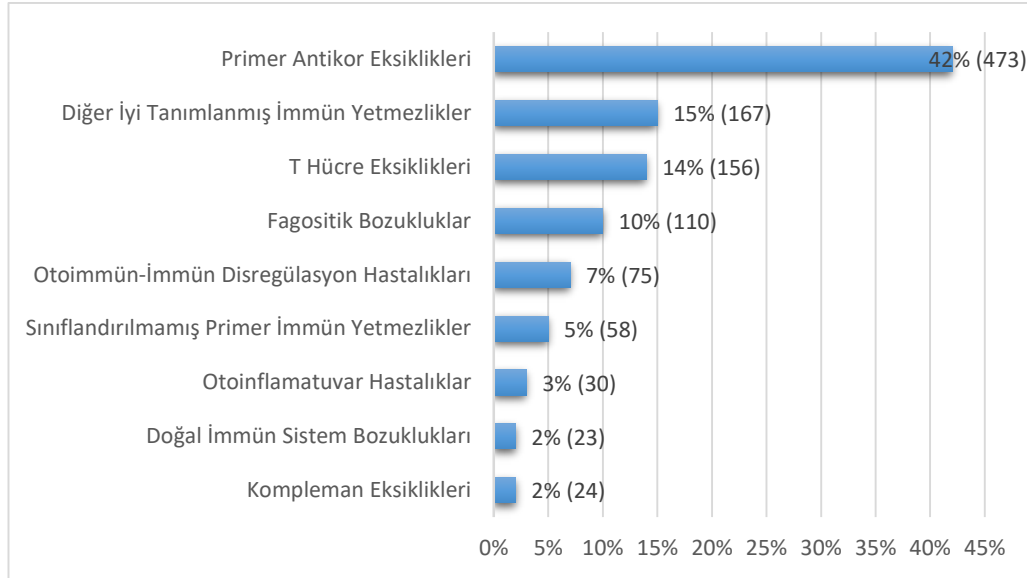
Dünya çapındaki veri tabanları, nadir hastalık olarak kabul edilen PİY'lerin epidemiyolojisinde coğrafi ve irksal çeşitlilik olduğunu göstermektedir. Orta Doğu - Kuzey Afrika bölgesi gibi yüksek oranda akraba evliliği olan nüfusun bulunduğu ülkelerde yayınlanan veriler, PİY'lerin nadir olmadığını göstermiştir (13). Bu bölgelerde, akraba evlilikleri %20 ile %50 arasında bir sıklıkta görülmektedir (14). Örneğin İran'da, 14 merkezin dahil olduğu bir çalışmada PİY prevalansı 9,7/1.000.000 olarak gösterilmiştir (15).

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yapılan bir retrospektif çalışmada, genel popülasyondaki PİY prevalansı oranı ise 126,8/100.000 olarak gösterilmiştir (16). Yine ABD'de yapılan ve 3 milyonun üzerinde bebeğin tarandığı çalışmalara dayanarak, sadece ağır kombine immün yetmezlik (AKİY) insidansının 1/58.000 olduğu gösterilmiştir (17).

2004-2010 yılları arasında Türkiye'deki iki merkezin ortak çalışmasında PİY prevalansının 30,5/100.000 olduğu gösterilmiştir (18). Türkiye'deki PİY'lerin dağılımının oransal olarak gösterildiği bu çalışmaya göre primer antikor eksiklikleri (PAE) en yüksek yüzdeye sahiptir (Şekil 2.1). Hacettepe Üniversitesi'nde yapılan başka bir çalışmada da 1.116 PİY hastasındaki PİY alt grupları gösterilmiştir (Şekil 2.2.) (19).



**Şekil 2.1.** Türkiye'deki primer immün yetmezliklerin dağılımı (18).



**Şekil 2.2.** Hacettepe üniversitesi başlıca immün yetmezlik grupları (19).

IUIS, PAE'leri 4 alt başlık altında incelemektedir (11);

1. Tüm immüoglobulin (Ig) izotiplerinde belirgin bir azalmanın yanında B hücrelerde belirgin bir azalma veya B hücrelerin olmaması ile karakterize agammaglobulinemiler,
2. En az 2 serum immüoglobulin izotipinde belirgin azalma ile normal veya düşük sayıda B hücresi olması ile karakterize yaygın değişken immün yetmezlik,
3. Normal/yüksek IgM ve normal B hücre sayısı ile serum IgG ve IgA seviyesinde belirgin bir azalma ile karakterize hiper IgM sendromları,
4. Genellikle normal B hücre sayıları ile seyreden izotip, hafif zincir veya fonksiyonel eksiklikler.

Primer antikor eksikliklerinden yaygın değişken immün yetmezlik üzerinde durulacaktır.

## 2.2. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik

Yaygın değişken immün yetmezlik; hipogammaglobulinemi, aşılarla karşı düşük antikor yanıtı ve enfeksiyonlara artmış duyarlılık ile karakterize bir primer immün yetmezlik olup çocuklarda ve erişkinlerde en sık görülen semptomatik primer antikor eksikliğidir.

Yaygın değişken immün yetmezlik tanısı için Avrupa İmmün Yetmezlik Topluluğu'nun (ESID-*European Society for Immunodeficiencies*) kriterleri güncellenmiş olup IgG ve IgA seviyelerinin önemli derecede düşük olmasının yanında normal veya düşük IgM düzeyleri saptanan (yaş a göre  $<-2SD$ ) 4 yaşın üzerindeki (şikayetler daha erken başlayabilir) hastalar için kriterler aşığıda belirtildiği gibidir (20,21);

1. Enfeksiyona artmış duyarlılık, otoimmün bulgular, granülatöz hastalık, açıklanamayan poliklonal lenfoproliferasyon ve aile üyesinde antikor eksikliği durumlarından en az birinin olması,
2. Aşılarla karşı düşük antikor yanıtı (ve/veya izohemaglutininlerin olmaması) ve/veya izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücrelerinin düşük olması (yaş a göre normal değerlerin  $<70\%$  olması)
3. CD4+ T hücre sayısının: 2-6 yaş için  $<300/ml$ , 6-12 yaş için  $<250/ml$ , 12 yaş üstü için  $<200/ml$  ve/veya CD4+ Naive T hücre yüzdesinin 2-6 yaş için  $<25\%$ , 6-16 yaş için  $<20\%$ , 16 yaş üstü için  $<10\%$  olmaması ve/veya T hücre proliferasyon yanıtının bozuk olmaması,
4. Aşığıdaki sekonder hipogammaglobulinemi nedenlerinin hariç tutulmasıdır (22);
  - i. İlaçlar: antimalaryal ajanlar, kaptopril, karbamazepin, glukokortikoidler, fenklofenak, altın tuzları, penisilamin, fenitoin, sülfasalazin.
  - ii. Genetik Bozukluklar: Ataksi telanjiektazi, AKİY'in otozomal formları, hiper IgM eksikliği, transkobalamin II eksikliği ve hipogamaglobulinemi, X'e bağlı agammaglobulinemi, Epstein-Barr Virüsü (EBV) ile ilişkili X'e bağlı lenfoproliferatif bozukluk, X'e bağlı AKİY, bazı metabolik bozukluklar, kromozomal anormallikler, kromozom 18q sendromu, monozomi 22, trizomi 8, trizomi 21.
  - iii. Bulaşıcı Hastalıklar: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV), konjenital Rubella, Sitomegalovirüs (CMV) ile konjenital enfeksiyon, konjenital *Toksoplasma gondii* enfeksiyonu, EBV.
  - iv. Maligniteler: kronik lenfositik lösemi, timoma ve immün yetmezlik, non-Hodgkin lenfoma, B hücre maligniteleri.

- v. Sistemik Bozukluklar: İmmünoglobulinlerin hiperkatabolizmasının neden olduğu immün yetmezlik ve immünoglobulinlerin aşırı derecede kaybedilmesinden kaynaklanan immün yetmezlik (nefrotik sendrom, şiddetli yanıklar, lenfanjiektazi, şiddetli diyare).

Yaygın değişken immün yetmezlik prevalansı, Tablo 2.2'de görüldüğü gibi, İspanya'da 0,6/100.000'dan Danimarka'da 3,8/100.000'e kadar çok geniş bir aralıktadır ve ülkeler arasında büyük farklılıklar görülmektedir (18,23–29). Bununla birlikte, YDIY'nin dünya çapındaki tahmini prevalansı 2/100.000 ile 4/100.000 arasındadır (30).

**Tablo 2.2.** Çeşitli ülkelerde YDIY prevalansı.

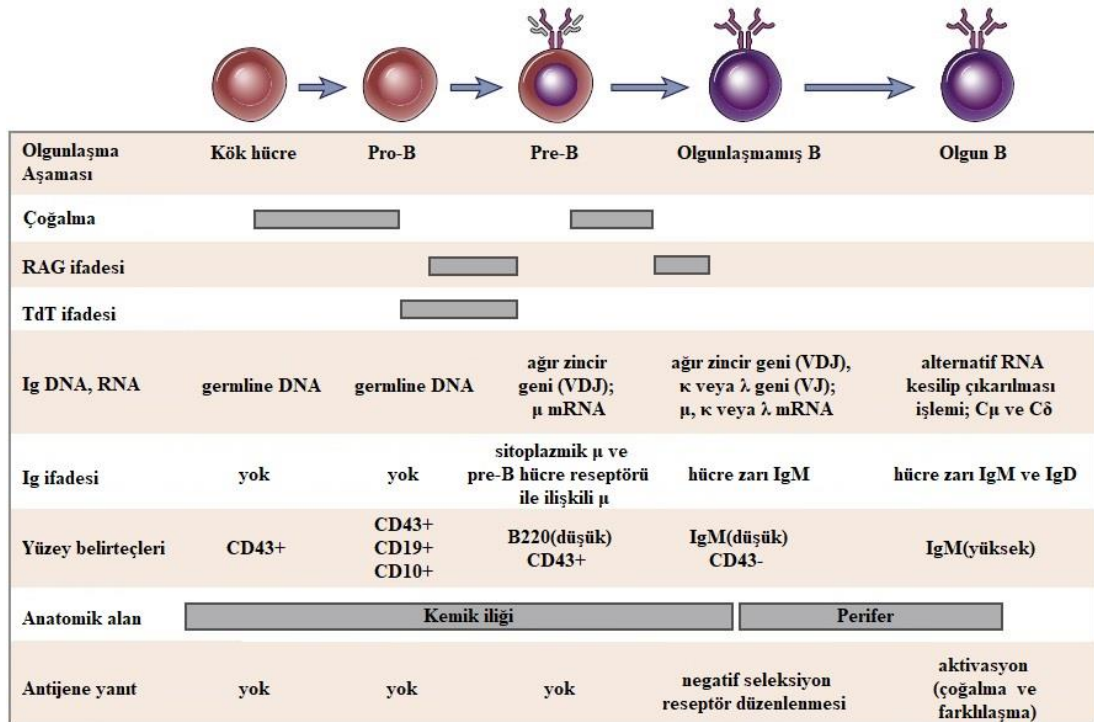
Ülke	100.000'deki YDIY Prevalansı
İspanya (27)	0,6
Fransa (25)	0,7
İsviçre (23)	1,2
Birleşik Krallık (26)	1,3
Türkiye (18)	1,4
Norveç (29)	2,6
İzlanda (24)	3,1
Danimarka (28)	3,8

Yaygın değişken immün yetmezlikten etkilenen kadın ve erkek hastalar arasındaki oran yaklaşık olarak 1:1'dir. Bununla birlikte, farklı yaş grupları için etkilenen kadın ve erkek oranı hesaplandığında; 4 ile 11 yaş arasındaki etkilenen kadın erkek oranının yaklaşık 1:2 olduğu, 30 ve üzeri yaşta etkilenen kadın erkek oranının yaklaşık 4:3 olduğu gösterilmiştir (30).

Yaygın değişken immün yetmezlik hastalarının sağkalımı için tanı yaşı kritik bir öneme sahiptir. Tanısal gecikme toplumlar arasında farklılık göstermektedir. YDIY tanısı çocukluk çağından hayatın 3. ve 4. dekatına kadar geniş bir yelpaze göstermektedir (30).

### 2.2.1. B Lenfosit Gelişimi

B lenfositler, spesifik antijenik epitoplari tanıyan ve klonal olarak farklı hücre yüzeyi immünoglobulin (Ig) reseptörlerini ifade eden bir hücre popülasyonudur (31). B lenfositlerin tanımlanması, 1960'ların ortalarında ve 1970'lerin başında deneysel hayvan modelleri ile immün yetmezliği olan hastaların klinik değerlendirmesi ve teknolojinin ilerlemesiyle hücre yüzey molekül karakterizasyonu yapılarak gerçekleştirilmiştir (32).



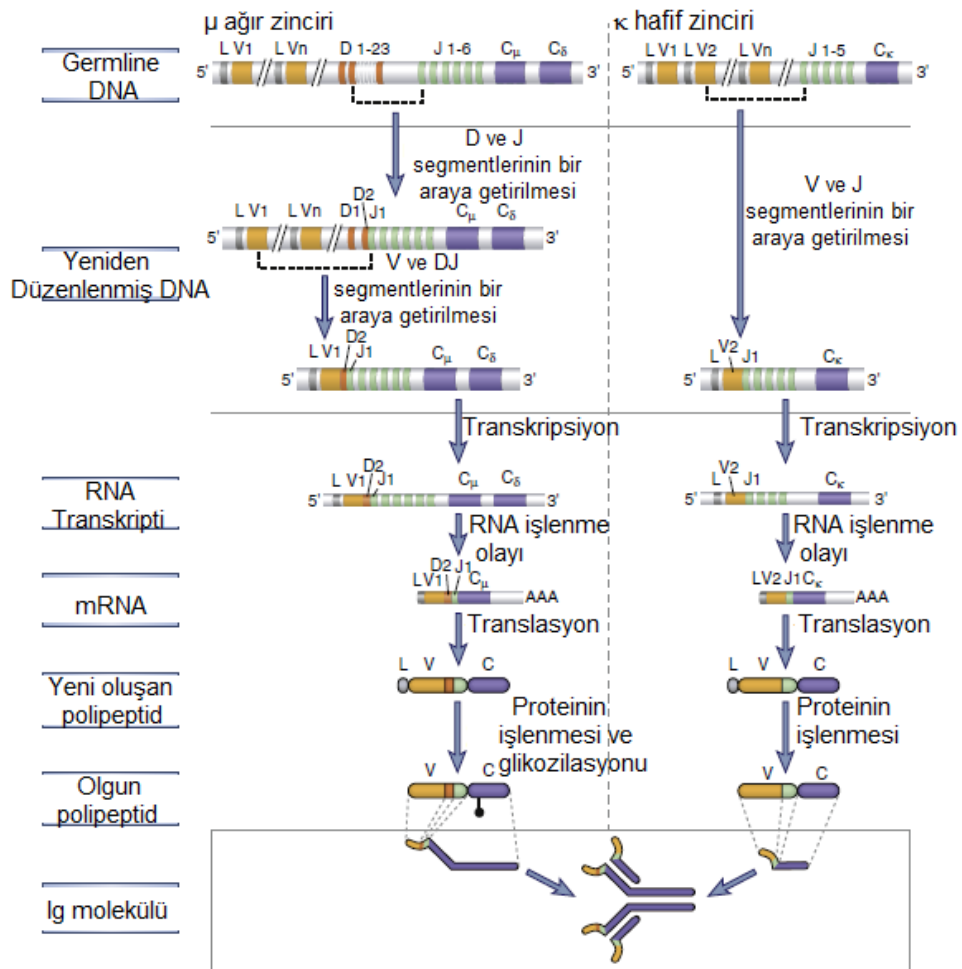
Şekil 2.3. B hücre olgunlaşmasının aşamaları (33).

Doğumdan önce fetal karaciğerde öncü hücrelerden gelişen B lenfositler doğumdan sonra primer lenfoid organlardan biri olan kemik iliğinde üretilmeye devam eder (34). Yetişkinlerde B lenfositlerin çoğunluğu, başlangıçta immünoglobülin (Ig) ifade etmeyen kemik iliği öncüllerinden köken alır (33). Bu öncüller, membrana bağlı IgM moleküllerini ifade eden olgunlaşmamış B hücrelere dönüşür ve daha sonra, özellikle dalakta, daha ileri olgunlaşma aşamaları için kemik iliğinden ayrılır (35). Dalakta foliküler B hücrelerine olgunlaşan hücreler, hücre yüzeyinde IgM ve IgD ifade eder ve tüm periferik lenfoid organları dolaşma ve bu organlara yerleşme yeteneği



kazanırlar (36). Lenfoid foliküller foliküler B hücelere ev sahipliği yapar ve foliküler B hüceler yabancı antijenleri tanıyabilir ve bunlara karşı yanıt verebilirler (37). Lenfoid öncüden olgun bir B hücelerinin gelişmesinin insanlarda 2 ile 3 gün süreceği tahmin edilmektedir (33).

Olgunlaşmaları sırasında, B lenfosit öncül hüceleri, her biri farklı hücre yüzey belirteçleri ve özgül Ig gen ifadesi ile karakterize olan ve birbirinden ayırdedilebilir aşamalardan geçerler. Şekil 2.3.'te B hücre olgunlaşmasının aşamaları gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Ağır ve hafif zincirin yeniden düzenlenmesi (33).

B hücrenin kemik iliğinde bulunan en erken öncül hücrelerine pro-B hücreleri denir. Pro-B hücreleri Ig üretmezler, fakat CD19 ve CD10 gibi B hücrelere özgü yüzey moleküllerini ifade edebilmeleri ile diğer olgunlaşmamış hücrelerden ayırt edilebilirler. Rekombinasyon aktive edici gen-1 (RAG-1) ve Rekombinasyon aktive edici gen-2 (RAG-2) proteinleri ilk önce bu aşamada ifade edilir ve Ig genlerinin ilk rekombinasyonu ağır zincir lokusunda gerçekleşir. Bu rekombinasyon, araya giren DNA segmentinin çıkartılması ile bir D ve bir J gen segmentini bir araya getirir (Bkz. Şekil 2.4.) Yeniden düzenlenmiş D segmentinin 5' D segmentleri ve yeniden düzenlenmiş J segmentinin 3' J segmentleri, bu rekombinasyon ile silinir (örneğin, Şekildeki D1 ve J2 ile J6). D-J rekombinasyonundan sonra, 5' V genlerinden biri DJ birimine bağlanır ve yeniden düzenlenmiş bir VDJ parçacığı oluşur (38). Bu aşamada, yeniden düzenlenmiş V ve D genleri arasındaki tüm V ve D segmentleri çıkmış olur. Ig ağır zincir lokusundaki V'den DJ'ye rekombinasyon, sadece kararlı B lenfosit öncüllerinde meydana gelir ve Ig ifadesi için kritik bir öneme sahiptir, çünkü sadece yeniden düzenlenmiş V geni transkripsiyona uğrar. Ağır zincir C bölge ekzonları, distal J segmentlerini ve J-C intronunu içeren DNA ile VDJ kompleksinden ayrı tutulur. Yeniden düzenlenmiş Ig ağır zincir geni, yeniden düzenlenmiş VDJ kompleksi ve C $\mu$  ekzonlarını içerecek birincil transkript üretecek şekilde transkribe olur. C $\mu$  nükleer RNA, belirli iki poliadenilasyon bölgesinden birinin alt kısmının ve 3' ucuna poli-A kuyrukları olarak adlandırılan çoklu adenin nükleotidleri eklenir. Bu nükleer RNA, intronların çıkarılıp ve ekzonların bir araya getirildiği RNA işleme olayı (*splicing*) sonucunda  $\mu$  ağır zinciri için; lider ekzon ve VDJ ekzonu arasındaki intronlar, VDJ ekzonu ile C $\mu$  lokusunun ilk ekzonu arasındaki intronlar ve C $\mu$ 'yü takiben sabit bölge ekzonlarının her biri arasındaki intronlar çıkarılır. Böylece  $\mu$  ağır zinciri için mRNA oluşmuş olur (33).

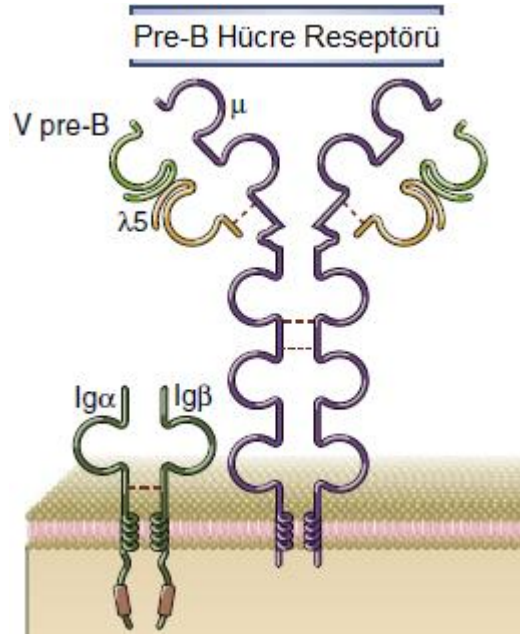
Eğer mRNA, rekombinasyon uygun şekilde olursa, yeniden düzenlenmiş  $\mu$  ağır zincir mRNA'sının translasyonu ile,  $\mu$  ağır zincir proteini sentez edilir. Bir yeniden düzenlenmenin uygun olması için, bazlar üç ve üçün katları halinde eklenmeli veya çıkarılmalıdır (39). Bu durum, yeniden düzenlenmiş Ig geninin bir Ig proteinini doğru şekilde kodlayabilmesini sağlar. Tüm pro-B hücrelerinin ancak yarısı, Ig ağır zincir lokusunda uygun şekilde rekombinasyon yapar ve böylece  $\mu$  ağır zincir proteinini

sentezlemeye devam edebilirler (40). Sadece uygun rekombinasyon yapan hücreler hayatta kalır ve farklılaşır.

Uygun şekilde Ig  $\mu$  yeniden düzenlenmesi yapıldıktan sonra, B hücrenin pro-B hücre aşaması biter ve pre-B aşamasına farklılaşır. Pre-B hücreleri, Ig  $\mu$  proteinini ifade eden, ancak henüz hafif zincir gen bölgelerinin rekombinasyonunun yapılmamış olduğu B hücre öncülleridir (33).

Pre-B hücre, B hücre olgunlaşmasında birçok önemli role sahiptir. Pre-B hücre reseptörü olarak adlandırılan bir kompleks içinde  $\mu$  ağır zincirini ifade eder (33).

$\mu$  ağır zinciri, vekil hafif zincirler, Ig $\alpha$  ve Ig $\beta$  olarak adlandırılan sinyal dönüştürücü protein kompleksleri, pre B hücre reseptörü (pre-BHR) olarak bilinen B hücre soyunun pre-antijen reseptörünü oluşturur(33).



**Şekil 2.5.** Pre-B hücre reseptörü (33).

$\mu$  ağır zinciri,  $\lambda 5$  ve V pre-B proteinleri ile etkileşir (41,42). Bu proteinler  $\kappa$  ve  $\lambda$  hafif zincirlerine yapısal olarak homologdurlar ve vekil hafif zincirleri olarak da adlandırılırlar (43). Sadece pro-B ve pre-B hücrelerinde sentezlenirler. Ig $\alpha$  ve Ig $\beta$  olgun B hücrelerde BHR'nin bir parçasını oluşturur (Şekil 2.5.), (44,45). Pre-BHR'den gelen sinyaller, kemik iliğindeki B hücre öncü hücrelerinin proliferatif ekspansiyonundan sorumludur. Pre-BHR'nin neyi tanıdığı bilinmemektedir; şu anda

bu konudaki görüş birliği, bu reseptörün liganddan bağımsız bir şekilde işlev gördüğü yönündedir. Pre-BHR'lerin önemi, pre-BHR olmayan (*knock-out(KO)*) fare modelleri ve bu reseptörlerin eksik olduğu insan immün yetmezlik vakaları ile gösterilmiştir. Örneğin,  $\mu$  ağır zincirini ya da vekil hafif zincirlerden birini kodlayan genin olmadığı fare modellerinde, olgun B hücre sayısının belirgin olarak azaldığı görülmüştür (33,46).

Pre-BHR ifadesi, B hücre olgunlaşmasındaki ilk kontrol noktasıdır. Pro-B hücreden pre-B hücreye geçiş için pre-BHR ve BHR ile ilişkili çok sayıda sinyal molekülü gereklidir. Bruton'un tirozin kinazı (BTK) isimli bir kinaz, pre-BHR'den sonra aktive olur. BTK; reseptörden alınan ve pre-B hücre aşaması, sağkalım, proliferasyon ve olgunlaşmaya aracılık eden sinyallerin iletilmesi için gereklidir. İnsanlarda, BTK genindeki mutasyonlar, B hücresi olgunlaşmasının başarısız olması ile karakterize, X'e bağlı agammaglobulinemi (XLA) olarak adlandırılan hastalığa yol açar (47). X'e bağlı immün yetmezliği olan bir fare türünde, BTK'daki mutasyonlar daha az şiddetli bir B hücresi defekti ile sonuçlanır, çünkü mürin pre-B hücreleri, BTK'nın görevini kısmen yapan Tec adında BTK benzeri ikinci bir kinazı ifade eder (47).

Pre-BHR, immünoglobülin ağır ve hafif zincir genlerinin yeniden düzenlenmesinin ileri aşamalarını aşağıda anlatıldığı gibi kontrol eder (33,46).

- i. Bir  $\mu$  proteini, bir kromozom üzerindeki rekombine ağır zincir lokusundan üretilir ve bir pre-BHR oluşturursa, bu reseptör, diğer kromozom üzerindeki Ig ağır zincir lokusunun yeniden düzenlenmesini geri dönüşü olmayan bir şekilde inhibe eder. Bu şekilde sadece bir aleldeki Ig ağır zincir lokusunun ifadesi sağlanmış olur. Bu olay alelik dışlama (*allelic exclusion*) denir. Her iki alelde de Ig ağır zincir gen yeniden düzenlenmesi olmazsa, gelişmekte olan hücre, Ig ağır zincirini üretemez. Sonuç olarak BHR'ye bağımlı hayatta kalma sinyali üretilemez ve hücre apoptozise gider.

Pre-BHR, Kappa ( $\kappa$ ) hafif zincir geni yeniden düzenlenmesini uyarır. Ancak hafif zincir gen yeniden düzenlenmesi için  $\mu$  ağır zincirinin ifadesi mutlaka gerekli değildir.  $\mu$  geni olmayan farelerin (*KO*), gelişmekte olan B hücrelerinde hafif zincir geni yeniden düzenlenmelerini başlatabildiği görülmüştür.  $\mu$  geni olmayan farelerin B

hücreleri fonksiyonel antijen reseptörü ifade edemez ve olgunlaşamaz. Pre-B hücreler olgunlaştıkça vekil hafif zincir gen ifadesi durdurulur.

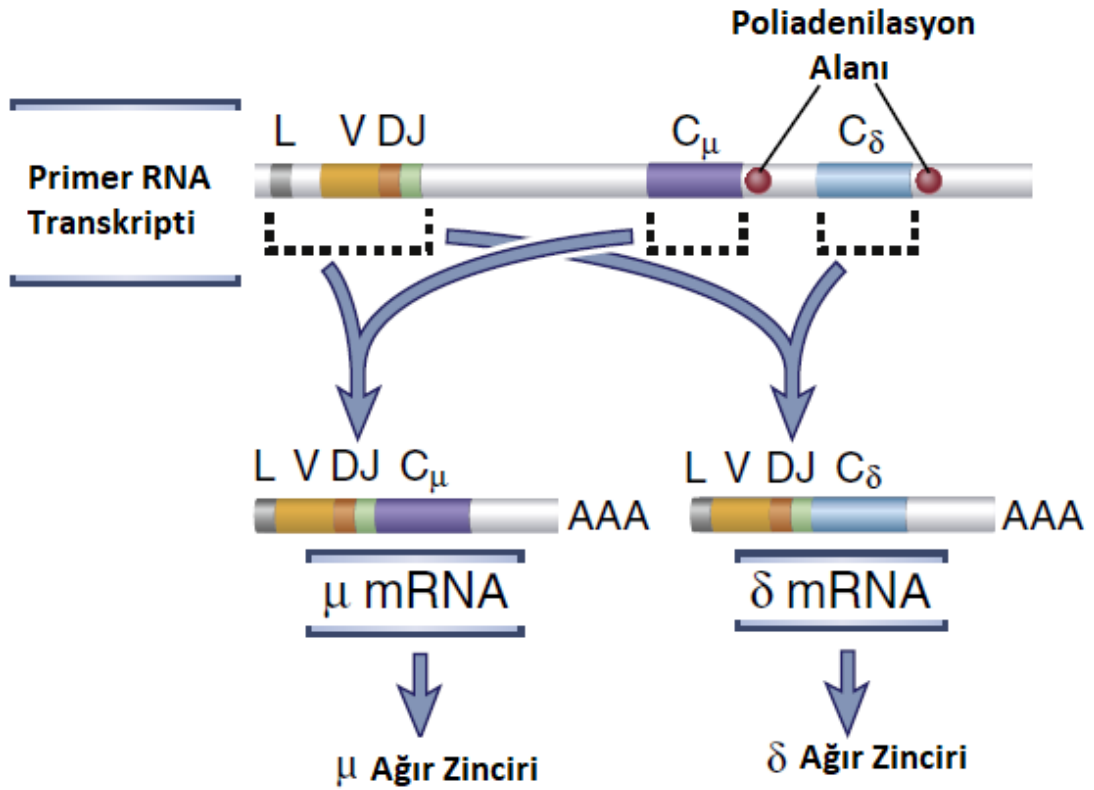
Pre-B hücre aşamasından sonra, gelişmekte olan her bir B hücresi bir  $\kappa$  hafif zincir genini yeniden düzenler. Yeniden düzenlenmenin uygun olması durumunda, tam bir IgM proteini üretmek için önceden sentezlenmiş  $\mu$  zinciriyle  $\kappa$  hafif zincir proteini birleşir.  $\kappa$  lokusu uygun bir şekilde yeniden düzenlenmemişse, hücre lambda ( $\lambda$ ) lokusu hücre tarafından yeniden düzenlenebilir. Yine de tam bir IgM molekülü üretebilir. IgM ifade eden B hücresine olgunlaşmamış B hücresi denir.  $\kappa$  hafif zincir lokusundaki DNA rekombinasyonu, Ig ağır zincir lokusundakine benzer bir şekilde gerçekleşir. Hafif zincir rekombinasyonu sadece bir V (*variable/değişken*) segmentinin bir J (*joining/birleşim*) segmentine bağlanmasını ve bir VJ ekzonu oluşmasını içerir. Bu VJ ekzonu sabit bölgesinden bir intron ile ayrılır ve bu ayrım bölgesi birincil RNA transkriptinde vardır. Birincil transkriptin kesilip çıkarılması (*splicing*), VJ ve C (*constant/sabit*) ekzonları arasındaki intronun çıkarılması ve  $\kappa$  veya  $\lambda$  proteinini üretmek için translasyona uğrayacak bir mRNA üretimi ile sonuçlanır.  $\lambda$  lokusunda, alternatif RNA kesilip çıkarılması (*splicing*), dört fonksiyonel sabit  $\lambda$  ekzonundan herhangi birinin kullanılmasına yol açabilir, ancak ortaya çıkan  $\lambda$  hafif zincir tipleri arasında bilinen bir fonksiyonel fark yoktur. Bir  $\kappa$  proteininin üretimi,  $\lambda$  yeniden düzenlenmesini önler.  $\lambda$  yeniden düzenlenmesi yalnızca  $\kappa$  yeniden düzenlenmesinin uygun olmadığı veya self-reaktif  $\kappa$  hafif zincirinin silinmesi durumunda gerçekleşir. Sonuç olarak, tek bir B hücre klonu iki tip hafif zincirden sadece birini ifade eder. Bu fenomen “hafif zincir izotip dışlaması” (*isotypic exclusion*) olarak adlandırılır (33,46).

Ağır zincir lokusunda olduğu gibi; bir  $\kappa$  veya  $\lambda$  geni, herhangi bir B hücresindeki iki ebeveyn kromozomundan sadece bir tanesi tarafından ifade edilir ve diğer alel dışlanmış olur. Ayrıca, ağır zincirlerde olduğu gibi,  $\kappa$  ve  $\lambda$  zincirlerinin her iki alelinin de gelişmekte olan bir B hücresinde işlevsel olarak yeniden düzenlenmemiş olması durumunda, bu hücre normalde BHR tarafından üretilen sağkalım sinyallerini alamaz ve ölür (33,46).

Oluşturulan IgM molekülleri, Ig $\alpha$  ve Ig $\beta$  ile ilişkili olarak hücre yüzeyinde ifade edilirler. BHR, vücudun kendi doku antijenlerine çok iyi bağlanmadığında, B hücreyi canlı tutan devamlı sinyaller sağlar. Olgunlaşmamış B hücreler antijenlere

yanıt veremez. Aslında, kemik iliğindeki antijenleri yüksek avidite ile tanırlarsa, B hücreler reseptör düzenlenmesine veya hücre ölümüne maruz kalır. Bu süreçler, kendi antijenlerine çok güçlü bir şekilde bağlanan B hücrelerin negatif seleksiyonu için önemlidir. Kendi antijenlerini çok güçlü bir şekilde tanımayan olgunlaşmamış B hücreleri, kemik iliğinden ayrılır ve periferik lenfoid organlara göç etmeden önce dalağa gider ve olgunlaşmalarını tamamlar (33,46).

B hücrelerinin çoğu kemik iliği kaynaklı hematopoetik kök hücreden (HKH) oluşur. B-1 hücreleri ise fetal karaciğer kaynaklı HKHden oluşur. Bu hücreler iki geçiş aşamasından (aynı özgüllükteki IgM ve IgD'nin birlikte ifadesi (Şekil 2.6.)) geçtikten sonra ya marjinal bölge B hücrelerine ya da foliküler B hücrelerine gelişmeye devam eder. BHR'nin vücudun kendi antijenleri için afinitesi, olgunlaşmakta olan B hücrelerinin foliküler veya marjinal bölge B hücrelerine farklılaşarak farklılaşmayacağına katkıda bulunabilir (33,46).



Şekil 2.6. IgM ve IgD'nin birlikte ifadesi (33).

Olgunlaşmış B hücrelerin çoğu foliküler B hücreleridir. IgM'ye ek olarak IgD üretir. Bu B hücrelerin her biri, aynı antijene özgül IgD ve IgM üretmek için aynı VDJ ekzonunu kullanır. Aynı  $\kappa$  veya  $\lambda$  hafif zinciri ile ilişkili olarak  $\mu$  ve  $\delta$  ağır zincirlerini birlikte ifade ederler. B hücrelerde yeniden düzenlenmiş VDJ ekzonunun; biri  $C\mu$  ekzonu, diğeri  $C\delta$  ekzonunu içerir. Bu işlem primer RNA transkriptinin alternatif kesip çıkarılma işlemidir (Şekil 2.6.). Buradan hareketle alternatif kesip çıkarma işlemi (*splicing*), bir B hücrenin aynı anda iki farklı ağır zincir izotipinin olgun mRNA'larını ve proteinlerini üretmesine izin verir (33,46).

Poliadenilasyon veya *splice acceptor* alanlarının seçimini düzenleyen mekanizmalar ve bir B hücrenin ne zaman ve neden tek başına IgM'den ziyade IgM ve IgD ifade ettiği yeterince anlaşılmamıştır. IgM ve IgD'nin birlikte ifadesi ile birlikte dolaşıma geçme yeteneği ve işlevselliğin kazanılması gerçekleşir. Bu yüzden  $IgM^+$   $IgD^+$  B hücreler olgun B hücreler olarak adlandırılır. Bu durum, IgD'nin olgun B hücrelerin temel aktive edici reseptörü olduğu yönündeki hipoteze yol açmıştır. Bununla birlikte, membrandaki IgM ve IgD arasında işlevsel bir farklılık yoktur. Dahası, Ig  $\delta$  geninin olmadığı farelerde (*KO*), B hücrelerinin olgunlaşmasında veya antijenle uyarılmasında önemli bir farklılık yoktur. Foliküler B hücreler sıklıkla dolaşımdaki B hücreler olarak adlandırılır, çünkü bir lenfoid organdan diğerine göç ederler ve B hücre folikülleri olarak bilinen özel nişler içinde ikamet ederler. Bu nişlerde, B hücreleri, tümör nekroz faktörü (TNF) ailesinin üyesi olan B hücre aktive edici faktör (BAFF) ve B lenfosit stimülatörü (BLyS) olarak adlandırılan bir sitokin tarafından sağlanan sağkalım sinyalleri ile korunur. Olgun ve naif B hücreler antijenlere karşı duyarlıdır ve yüksek afinite ile tanıdıkları ve yanıt verdikleri antijenlerle karşılaşmazlarsa birkaç ay içinde ölürlere (33,46).

B-1 hücreleri olarak adlandırılan B lenfositlerinin bir alt grubu, sınırlı antijen reseptörü çeşitliliğine sahiptir. Bu hücreler, fetal karaciğer kaynaklı hematopoetik kök hücrelerden gelişir ve en iyi kemirgenlerde tanımlanmıştır. Farelerdeki B-1 hücrelerinin çoğu CD5 molekülünü ifade eder. B-1 hücreleri ontogenez sırasında daha erken gelişir ve V genlerinin nispeten sınırlı bir repertuarını ifade ederler. Geleneksel B hücrelerden çok daha az birleşim bölgesi çeşitliliği (*junctional diversity*) sergilerler. B-1 hücreleri spontan olarak, lipid peroksidasyonu ile üretilen oksitlenmiş lipidlerin yanı sıra mikrobik polisakkaritler ve lipitler ile reaksiyona giren, IgM antikörlerini

salgılar. Bağırsaktaki mikrobiyal floranın, bu antikorların üretimini uyaran antijen kaynağı olduğu düşünülür. Ancak bu antikorlar bazen doğal antikorlar olarak adlandırılır çünkü immün olmayan bireylerde de bulunurlar. Yetişkin farelerde, çok sayıda B-1 hücre periton ve mukozal alanlarda kendini yenileyici bir popülasyon olarak bulunur. B-1 hücreleri, periton gibi belirli dokularda mikroplara karşı hızlı antikor üretimine katkıda bulunur. Mukozal yüzeylerde, lamina propriadaki IgA salgılayan hücrelerin yarısı B-1 hücrelerinden kaynaklanabilir (33,46).

İnsanda B-1-benzeri hücreler tanımlanmıştır, fakat CD5 bu hücreler için belirleyici bir belirteç değildir, çünkü aynı zamanda transisyonel B hücreler ve bazı aktive B hücre popülasyonlarında da bulunur (33,46).

Marjinal bölge B hücreleri, esas olarak dalaktaki marjinal sinüsün yakınında bulunurlar. Sınırlı çeşitlilikte antijeni tanımları, polisakkarit antijenlere yanıt verme ve doğal antikorlar üretme yetenekleri bakımından B-1 hücrelerine benzerler. Marjinal bölge B hücreleri hem farelerde hem de insanlarda bulunur; IgM ve CD21 koreseptörü ifade ederler. Farelerde, marjinal bölge B hücreleri sadece dalakta bulunurken, insanlarda dalakta ve lenf düğümlerinde bulunabilirler. Marjinal bölge B hücreleri, kanla taşınan mikroplara çok hızlı yanıt verir ve kısa ömürlü IgM salgılayan plazma hücrelerine farklılaşır. Genellikle dolaşımdaki patojenlere verilen T-hücre bağımsız hümmoral immün yanıtta aracılık etmelerine rağmen, bazı T hücre-bağımlı immün yanıtlara da aracılık edebilmektedirler (33,46).

### 2.2.2. B Hücre Reseptörü

B lenfositlerin antijen reseptörlerini kodlayan genler; farklı değişken/*variable*(V) bölge, çeşitlilik/*diversity* (D) bölgesi ve birleşim/*joining* (J) bölgesi gen segmentlerinin her bir hücredeki yeniden düzenlenmesi ile üretilir. Özgül antijen reseptörünün geninin yeniden düzenlenmesi işlemi V(D)J rekombinasyonu olarak adlandırılır. Antijen reseptörü geninin yeniden düzenlenmesi ve bunun altında yatan çeşitliliğin temelini oluşturan mekanizmaların aydınlatılması modern immünolojinin en önemli başarılarından birini temsil eder (33,46).

Milyonlarca farklı antijen reseptörünün, genomdaki sınırlı miktardaki DNA'dan nasıl üretilebileceğine dair ilk fikirler, Ig moleküllerinin amino asit sekanslarının analizi ile ortaya çıkmıştır. Bu analizler; aynı izotipteki birçok farklı



antikoru polipeptit zincirlerinin C-terminal uçlarında (Ig'lerin ağır ve hafif zincirlerinin sabit bölgelerine karşılık gelir) benzer sekansların paylaşıldığını, ancak N-terminal uçlarındaki (Ig'lerin değişken bölgelerine karşılık gelir) sekansların önemli ölçüde farklı olduğunu göstermiştir. Moleküler genetiğin temel ilkelerinden biri olan bir gen-bir polipeptid hipotezinin aksine, 1965 yılında her bir Ig zincirinin aslında biri değişken ve diğeri sabit olmak üzere en az iki gen tarafından kodlandığı, bunların ikisinin de DNA veya mRNA seviyesinde fiziksel olarak birleştiği ve sonuçta Ig proteinlerini oluşturduğu varsayılmıştır. Bu hipotezin resmi kanıtı, 10 yıl sonra, Susumu Tonegawa tarafından miyelom veya plazmasitom adı verilen antikor üreten bir tümör hücresindeki Ig genlerinin yapısının, embriyonik dokulardakinden veya lenfoid olmayan dokulardakinden farklı olduğunu gösterilmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu farklılıkların ortaya çıkmasının nedeni; Ig ağır ve hafif zincirlerini kodlayan lokuslar arasında dağılmış olan DNA segmentlerinin yalnızca gelişmekte olan B hücrelerinde bir araya getirilmesi ve birleştirilmesi, diğer doku ve hücrelerde bu işlemin olmamasıdır. Antijen reseptörü geninin yeniden düzenlenmesi, ilk önce Ig genlerinin düzenlenmemiş (*germline*) organizasyonunun tarif edilmesi daha sonra lenfosit olgunlaşması sırasında yeniden düzenlenmesinin tarif edilmesi ile anlaşılmıştır (33,46).

İmmünoglobülin genetik lokuslarının VDJ rekombinasyonu olmadan birleşimi (*germline*), reseptör proteinlerinin değişken bölgelerini kodlayan çok sayıda farklı sekansın ve sabit bölgelerini kodlayan nispeten daha az sayıda sekansın ayrılması ve incelenmesi ile karakterize edilir (33,46).

### 2.2.3. Olgunlaşmamış B Hücreler ve Reseptör Düzenlenmesi

Kemik iliğinde, işlevsel bir reseptöre sahip olsalar dahi, olgunlaşmamış B hücreler yabancı antijene karşı yanıt veremez veya proliferate olamaz. Merkezi tolerans ile vücudun kendi antijenini tanıyan olgunlaşmamış B hücreler elimine edilir. Kemik iliği stromal hücreleri, tüm vücut hücreleri tarafından üretilen ve her dokuda bulunması gereken (*housekeeping*) molekülleri ifade ederler. Reseptörü ile bu moleküllerden birine yüksek afinite ile bağlanan bir B hücresi, potansiyel olarak otoreaktiftir ve böyle bir B hücresinin kemik iliğinden periferik salınması, vücudun kendi dokularına yanıt vermesine yol açabilir. Bu nedenle olgunlaşmamış B hücresinin reseptörünün stromal

hücrelerde mevcut olan “*housekeeping*” molekülleri tanıyıp tanımadığı kemik iliğinden perifere salınmadan önce saptanır. Eğer vücudun kendi moleküllerini tanırsa, otoreaktif B hücre gelişimini durdurmak için intrasellüler bir sinyal alır. Otoreaktif B hücrenin Ig lokuslarını yeniden düzenlemek ve antijenik özgünlüğünü değiştirerek apoptozdan kurtulmak için fırsatı vardır. Bu ikincil gen yeniden düzenlenmesine reseptör düzenlenmesi denir (33).

Reseptör düzenlenmesi esas olarak Ig hafif zincirinde gerçekleşir, çünkü Ig ağır zincir lokusundaki VDJ rekombinasyonu tamamlandıktan sonra, V(D)J rekombinasyonunun yapısal kurallarını karşılayan daha fazla yeniden düzenlenmeye izin vermek için mevcut olan herhangi bir Ig ağır zincir D geni segmenti nadiren bulunur. Buna karşın, Ig hafif zincir lokusları, genellikle, verimli Ig kappa veya Ig lambda yeniden düzenlenmesi için üst kısmında birçok V geni segmentine ve alt kısmında birkaç J geni segmentine sahiptir. Reseptör düzenlenmesi başarıya ulaşamazsa, B hücresi apoptoz ile ölür (negatif seleksiyon). Ancak, reseptör düzenlenme başarılı olursa, B hücre reseptörü artık vücudun kendi antijenini tanımaz ve hücrenin sağ kalımını sağlayan sinyali alır (pozitif seleksiyon). Merkezi B hücre toleransını oluşturan pozitif ve negatif seleksiyon seçimlerinden sonra olgunlaşmamış tüm B hücrelerin 1 günde yaklaşık %2 -5'i kalır (33).

Olgunlaşmamış B hücreleri, kemik iliğinden ayrılıp kan yoluyla ikincil lenfoid dokulara gitmelerine izin veren yeni adezyon moleküllerinin ve belirli bir dokuya gitmeleri için gerekli “*homing*” reseptör ifadelerini sağlamadan önce 1-3 gün boyunca kemik iliğinde kalır. Gelişmekte olan bu B hücrelerine, transisyonel tip 1 B hücresi (T1 B hücresi) denir. T1 B hücreleri kandan ilk olarak dalağın kırmızı pulpasına ve daha sonra periarteriolar lenfoid kılıf (*periarteriolar lymphoid sheath* (PALS)) geçer. PALS'ta yaklaşık 24 saat sonra, T1 B hücreleri transisyonel tip 2 B hücrelerine (T2 B hücresi) dönüşür. Bu geçiş için ve T2 B hücrelerinin sağ kalımı için BAFF'ın lokal üretimi önemlidir. Bazı T2 B hücreleri, dalağın B hücrelerinden zengin olan bölgelerini kolonize etmeye başlar ve diğer lenfoid dokulara, özellikle lenf düğümlerine göç etme yeteneğini kazanırlar. Lenfoid sistem boyunca dolaşacak olan bu hücreler, olgun foliküler B hücreleri haline gelecektir. Diğer T2 B hücreleri dalağın kırmızı pulpasından marjinal bölgeye ilerler ve marjinal bölge B hücreleri olur. Her iki tip T2 B hücresi, hücre yüzeyinde IgM'nin yanı sıra IgD'yi ifade etmeye başlar. Hem IgM

hem de IgD, aynı VDJ ve VJ eksonlarını içeren aynı özgüllükte olacak şekilde yeniden düzenlenmiş Ig ağır ve hafif zincir genlerinden üretilir. Aynı V domainlerine ve aynı antijenik özgüllüğe sahiptir. Sadece ağır zincirin sabit bölgesi farklılık gösterir (33).

T2 B hücreleri, lenfoid foliküller ve dalaktaki marjinal bölgeye geldiklerinde, periferde olgun naif B hücreleri olarak kabul edilirler. Moleküler düzeyde, olgun naif B hücreleri, T2 B hücrelerinden biraz daha düşük IgM seviyeleri gösterirken, daha yüksek IgD seviyeleri gösterirler. Her ne kadar IgM, B hücresinin antijene yanıtı için gerekli olsa da, IgD'nin işlevini tespit etmek daha zor olmuştur. Olgun naif B hücreleri RAG-1 ve RAG-2'nin ifadesini kaybeder, böylece genel olarak V(D)J gen segmenti kullanımında, olgun B hücresinde veya hafıza B/plazma hücresinde başka değişiklikler meydana gelemez. Bu B hücreleri artık antijenle karşılaşmaya hazırdır (33).

Üç ana B hücre antijen sınıfı vardır: bunlar T-bağımsız-1 (Ti-1), T-bağımsız-2 (Ti-2) ve T-bağımlı (Td) antijenlerdir. Ti-1 ve Ti-2 antijenleri B hücrelerini antikolar üretmeleri için aktive edebilir. Td antijenler, aktivasyonu başlatmak için B hücrelerin reseptörlerine bağlanabilir, ancak B hücresi; aynı antijen tarafından aktive edilen bir yardımcı T (Th) efektör hücresi ile doğrudan etkileşime girmediği, bu antijene özgül plazma hücresi farklılaşması ve antikor üretimi başlatılamaz. Böylece, foliküler B hücresine T hücre yardımı sağlanır. T hücresi yardımı, hücreler arası temas şeklindedir ve bu "kostimülasyon"a yüzey molekülleri ve sitokinler aracılı eder. Kostimülatör moleküller, lenfositlerin yüzeyleri üzerinde ifade edilen ve aktivasyon için özgül ligandlarla birleşmesi gereken proteinlerdir. Aktive olmuş B hücrelerinin somatik hipermutasyonu, izotip dönüşümü ve hafıza B hücresi üretimi süreçleri T hücresi yardımı ile gerçekleşir. Sonuç olarak, Td antijenlere verilen yanıtlar; çok çeşitli IgG, IgE veya IgA antikoları ile verilir. Aynı Td antijene tekrar maruz kalındığında daha hızlı, daha güçlü bir sekonder yanıt oluşturabilen hafıza B hücreleri üretilir (33).

Ti-1 ve Ti-2 antijenlerine verilen B hücresi yanıtları, efektör Th hücreleri ile doğrudan etkileşim gerektirmez ve dolayısıyla istilacılara karşı nispeten hızlı bir savunma sağlayabilir. Bu antijenlerin çoğuna dalağın marjinal bölgesinde bulunan B hücreler yanıt verir. Bununla birlikte, T hücre etkileşiminin olmayışı, Ti antijenlere yanıt veren B hücrelerinin, izotip değişimi veya somatik hipermutasyon gerçekleştirmediği ve bu nedenle sınırlı çeşitlilikte IgM (nadiren IgG) antikoları

üreteceği anlamına gelir. Buna ek olarak, Td bağımlı antijene yanıtta farklı olarak, hafıza B hücreleri, antijenle ikincil maruziyette ilk yanıtta fazla bir yanıt veremez (33).

#### 2.2.4. B Hücre Aktivasyonu

B hücre; B hücre aktivasyonu, proliferasyonu ve antikor üretimine yol açan, intrasellüler sinyal yollarını tamamlayan sinyaller oluşturan sitokinlere ve kostimülasyon moleküllerine ihtiyaç duyar. “B hücre – T hücre işbirliği” tarafından sağlanan sinyaller olmaksızın, protein kinaz aktivasyonu ve hücre içi  $Ca^{2+}$  daki artışlar gibi aktivasyon olayları B hücrede başlatılabilir, fakat ne hücre proliferasyonu ne de antikor üretimi meydana gelir. Bir olgun naif B hücrenin bir Td antijeni tarafından aktivasyonu üç aşamada meydana gelir (Şekil 2.7.) (46):

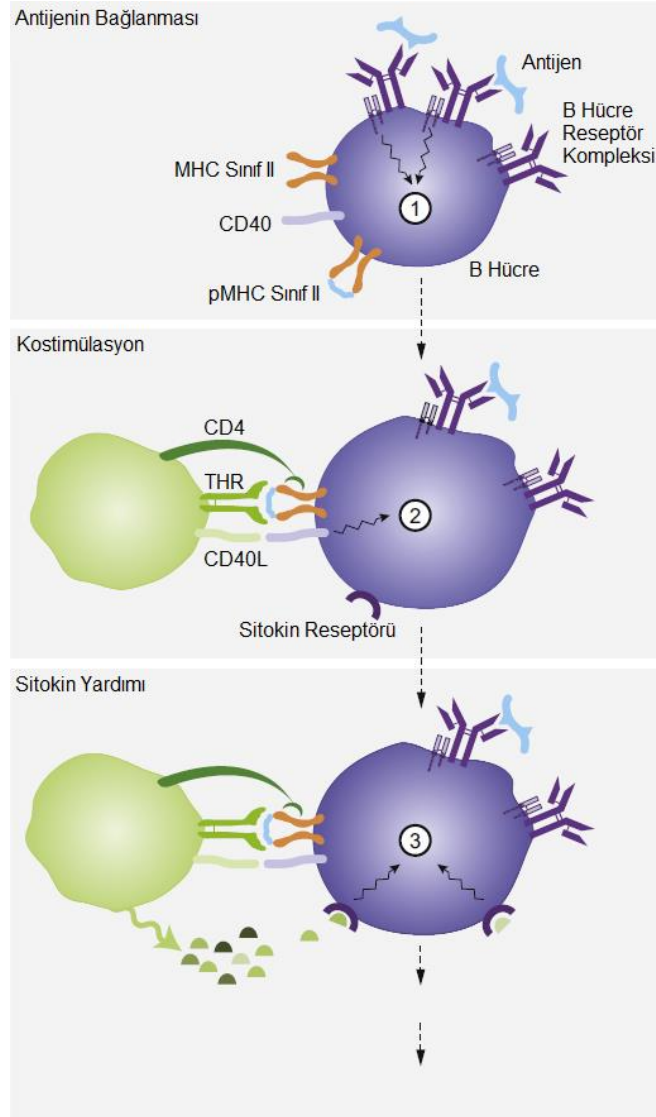
1. Sinyal: Antijen moleküllerinin B hücre reseptörüne bağlanması,
2. Sinyal:  $CD4^+$  Th efektör hücresi ile bağlantının kurulması,
3. Sinyal: Th efektör hücreden salınan sitokinlerin(özellikle interlökin-4) B hücre yüzeyi üzerindeki sitokin reseptörlerine bağlanması.

Bu adımların her biri B hücreye uyarıcı bir sinyal gönderir, ancak üç sinyalin üçü de alınmadıkça aktivasyon tam olarak gerçekleşmez.

2. sinyal, B hücre yüzeyindeki kostimülatör moleküllerin Th efektör hücre üzerindeki ligandlarına bağlanmasıyla sağlanır. Bir B hücre reseptörü, bir Td antijene, kostimülasyon yokken bağlanırsa, B hücre ya apoptoza uğrar ya da anerjik hale gelir (spesifik antijene karşı tepkisiz hale gelir). B hücre aktivasyonu için en önemli kostimülatör olay, B hücre yüzeyindeki CD40 ve aktive edilmiş Th efektör hücre yüzeyindeki CD40L (CD40 ligandı) arasındaki etkileşimdir. CD40, olgun naif B hücreler tarafından yapısal olarak (her zaman) ifade edilirken CD40L, bir T hücrenin yüzeyinde, sadece peptid-MHC kompleksinin T hücre reseptörüne bağlanmasına yanıt olarak ifade edilir (33,46).

Zaten 1. ve 2. sinyali almış olan B hücrenin, yüzeyindeki interlökin-4 (IL-4) reseptörüne IL-4 bağlanır ve B hücre hızla proliferasyona başlar. IL-2, IL-5 ve IL-10 dahil olmak üzere diğer sitokinler bu proliferasyonu desteklemektedir. B hücreleri bölünmeye devam ettikçe, antikor salgılayan plazma hücrelerinin ve bellek B hücrelerinin farklılaşmasının indüklenmesi için IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10,

interferonlar (IFN) ve transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  (TGF $\beta$ ) önemli hale gelir (33,46).



**Şekil 2.7.** T bağımlı antijen ile B hücre aktivasyonu (46).

Naif B hücresi aktivasyonu ve aktive hücrelerin plazma hücreleri ve hafıza B hücrelerine olgunlaşması, sekonder lenfoid dokularda meydana gelen hücreler etkileşimlerine bağlıdır (46).

Lenfositlerin antijenlerle en sık karşılaştığı yerlerden biri lenf düğümüdür. Bir B hücre antijenle karşılaşmadan önce, bir lenf düğümünün korteksi içindeki foliküller birincil foliküller olarak bilinir. Bir birincil folikül; dinlenme halinde olan naif B hücreler, yüzeyleri üzerinde bütün antijenleri tutabilen foliküler dendritik hücreler

(FDH) ve uzun uzantılara sahip fibroblastik retiküler hücrelerle (FRH) doludur. Bu uzantılar, küçük antijenler için iki tip kanal oluştururlar; bunlar antijenleri B hücrelerin bulunduğu birincil folikül alanına taşıyan “foliküler kanal” ve antijenleri dendritik hücreler (DH) ve T hücreler tarafından doldurulan parakortekse taşıyan “parakortikal kanal”dır. Foliküler bölgedeki FDH'ler ve FRH'ler; B hücrelerini çeken kemokin CXCL13'ü salgılayarak, parakortikal bölgedeki hücreler CCL19 ve CCL21 kemokinlerini salgılayıp T hücrelerini ve DH'leri bu alana çeker. Bu moleküller, humoral yanıt için gereken tüm molekül ve hücrelerin doğru zamanda doğru yerde olmasını sağlar (33,46).

Aktivasyon için gereken 3 sinyalin oluşmasının ardından B hücre aktive olur. Antijen temasından yaklaşık 4–6 gün sonra, aktive B hücrenin takip ettiği 2 yol vardır. Bazı durumlarda, folikülün kenarındaki B hücre hemen çoğalır ve izotip değişimi veya somatik hipermutasyon olmaksızın kısa ömürlü plazma hücre popülasyonuna farklılaşır. Diğer durumlarda, T hücre ile etkileşim halinde olan B hücre, Th efektör hücrelerini, folikülün merkezine geri sürükler ve burada Th efektör hücre B hücrelerinden ayrılır, daha sonra B hücre proliferasyonuna uğrar. B hücre öncüllerinin çoğunluğu uzun ömürlü plazma hücreleri olacak, geri kalanı ise hafıza B hücre olacaktır (33,46).

Uzun ömürlü plazma hücrelerini ve hafıza B hücrelerini üretmek üzere aktive olmuş bir B hücresi, birincil folikülü ikincil bir folikül haline dönüştüren hızlı bir klonal genişlemeye maruz kalır. Bu genişleme antijen FDH'lerin yüzeylerinde sunulduktan sonra T-B hücre etkileşimini gerektirir. Antijen temasından 6–9 gün sonra, birincil folikülü doldurulan henüz klonal genişleme yapmamış olan naif B hücrelerin yerini çoğalan B hücre klonu alır ve bu hücreler foliküler mantoyu oluşturmak için folikül kenarlarında sıkıştırılır (33,46).

Antijen temasından 9–12 gün sonra, ikincil folikül iki ayrı bölgeye; koyu (*dark zone*) ve açık (*light zone*) olmak üzere iki alana ayrılarak bir germinal merkezi (GM) oluşturur. Buna germinal merkez reaksiyonu denir. Aktive olmuş B hücreler ilk olarak koyu alanda bulunur, burada hızla çoğalmaya devam ederler, sentroblastlar olarak isimlendirilirler. Antikor reseptörü repertuarının Ig ağır ve hafif zincirinin V segmenti ekzonlarının somatik hipermutasyonu ile nihai çeşitliliği oluşur. Sentroblastlar olgunlaştıkça ve farklılaştıkça, açık alana göç ederler. Açık alanda sentrosit olarak isimlendirilirler. Yeni oluşturulan somatik hipermutasyona uğramış

olan sentrositler, açık alanda FDH'ler üzerinde sunulan antijen ile etkileşerek negatif veya pozitif seleksiyona uğrarlar. Periferik B hücre toleransının oluşturulmasına yönelik ilk adımda GM'deki negatif seleksiyon; antijeni tanımayan (ve dolayısıyla otoreaktif olabilecek) B hücrelerini apoptoza gitmeleri için uyarır. Ölmüş olan B hücreleri, lenf düğümü içindeki makrofajlar tarafından uzaklaştırılır. Pozitif seleksiyon; aynı veya artan afinite (afinite matürasyonu) ile FDH tarafından sunulan antijeni tanımaya devam eden B hücrelerinin hayatta kalmasını sağlar. Açık alan aynı zamanda Ig ağır zincir sabit bölge ekzonlarının fonksiyonel çeşitliliği arttırmak için izotip dönüşümüne uğradığı yerdir. Tüm bu süreçlerin sonunda, hayatta kalan sentrositler daha fazla genişleme, çeşitlilik ve seçim için GM döngüsünün başlangıcına geri döner ya da GM'den çıkıp dolaşıma girerek dokulara giden uzun ömürlü plazma hücrelerine veya hafıza B hücrelerine farklılaşmaya devam ederler. Lenf düğümünün her tarafındaki GM'lerdeki muazzam proliferasyon ve farklılaşma, antijenle karşılaşma sonrasında 21 güne kadar devam edebilir, bundan sonra antijenle yeni bir karşılaşma olmadıkça GM'lerin sayısı ve boyutu azalır (33,46).

Germinal merkezde yer alan ve antijen ile karşılaşmadan sonra antikor çeşitliliğine katkıda bulunan iki süreç; somatik hipermutasyon ve afinite matürasyonudur. Fonksiyonel çeşitliliğe katkıda bulunan izotip değişimi de GM'de ortaya çıkar (46).

### **i. Somatik Hipermutasyon**

Aktive olmuş bir B hücresi klonunun farklılaşması ile oluşan ilk plazma hücreleri tarafından üretilen IgM antikorlarının V bölgeleri, aktive B hücre klonunun daha sonraki farklılaşmaları sonucunda üretilen IgG antikorlarının V bölgelerinden sekans bazında nispeten farklıdır. Erken birincil yanıtta, germinal merkezin karanlık alanında çoğalan sentroblastlar; ağır zincir VDJ ekzonlarında ve bazen hafif zincir VJ ekzonlarında tek tek rastgele nokta mutasyonlarının meydana geldiği bir DNA replikasyonu döngüsüne uğrarlar. Bu süreç somatik hipermutasyon olarak adlandırılır. Bu mutasyonlar geç birincil yanıtta kadar birikmeye devam eder, bu da çoğunlukla CDR1 ve CDR2'de antikorun antijene bağlanma yeteneğini tahrip etmeyen ancak sıklıkla bağlanma afinitesini arttıran sekans değişikliklerine yol açar. Aynı antijene sonraki maruziyetlerde (ikincil ve üçüncül yanıtlar), aktive olmuş hafıza B

hücrelerinin Ig genleri, ilave somatik hipermutasyonlara maruz kalabilirler. V bölgesinde nokta mutasyon oranının, her bir hücre bölünmesinde 1000 baz çifti başına yaklaşık 1 değişim olduğu, diğer genler için somatik mutasyonun yaklaşık 1000 katı olduğu tahmin edilmektedir (Bu nedenle bu fenomene somatik hipermutasyon denilmektedir). Somatik hipermutasyon; deoksisitidini deoksiüridine dönüştüren, aktivasyonla indüklenen sitidin deaminaz (AID) adı verilen bir enzimin aktivitesini gerektirir. AID, CD40 sinyali varlığında yalnızca germinal merkezdeki B hücreleri tarafından ifade edilir (48–50).

## ii. Afinite Matürasyonu

Somatik hipermutasyon rastlantısal bir süreçtir, öyle ki, teorik olarak, bir antikorun antijen bağlama bölgesindeki bir dizi mutasyon, bağlanma afinitesini artırabilir, azaltabilir veya bağlanma afinitesi üzerinde hiç bir etkisi olmayabilir. Gerçekte, GM'deki FDH'ler tarafından yakalanan antijen kaynağı sınırlıdır; reseptörlerinde farklı somatik mutasyonlara sahip olan sentrositler arasında bir antijen üzerindeki belirli bir epitopa bağlanma rekabeti meydana gelir. Somatik hipermutasyondan sonra, antijenik epitop için çok düşük afiniteye sahip bir reseptörü ifade eden sentrositler, epitopu bağlayamazlar ve böylece apoptozdan kurtulamalarını sağlayan sağkalım sinyalini almazlar. Somatik mutasyonlar ile antijenik epitop için daha yüksek afiniteye sahip bir reseptör ifade edebilen sentrositlerin epitopu bağlama olasılığı daha yüksektir. Böylece, antijenik epitop için sadece orta derecede afiniteye sahip bir reseptör ifade eden sentrositlerden daha fazla sağkalım sinyali alırlar. Ek olarak, yüksek afiniteli reseptörlere sahip olan sentrositler, antijenin hücre içine alınmasında ve peptid-majör doku uygunluk (pMHC) kompleksinin Th efektör hücrelerine sunulmasında daha etkilidir. Bu artan antijen sunumu, Th efektör hücrelerinden tercihen bu yüksek afiniteli reseptöre sahip B hücrelerinin büyüme uyarıcı sinyalleri alması anlamına gelir. Tüm bu faktörler, antijenik epitop için artmış afinitesi olan B hücre klonlarının sağ kalmasını ve çoğalmasını sağlar. Bu başarılı B hücre klonları tarafından üretilen yüksek afiniteli antikorlar, daha sonraki yanıtta baskındır (33).

Somatik hipermutasyondan sonra bir antijenik epitop için afinitesi artmış olan sentrositler, tercihen hafıza B hücrelerine dönüşür. Bu hafıza B hücreleri ikincil bir



yanıtta aktive edildiğinde, plazma hücrelerine dönüşerek birincil yanıt antikoru ile aynı epitopu tanıyan ancak daha fazla afinite (afinite matürasyonu) ile bağlanan antikoru üretir. Epitop için daha az afiniteye sahip olan sentrositler plazma hücreleri olma eğilimindedir (33).

### iii. İzotip Dönüşümü

Antijen için yüksek bir afiniteye sahip olan sentrositler, izotip dönüşümüne tabi tutulan hücrelerdir. İzotip dönüşümü; IgM antikoru üretiminin, aynı antijenik özgülüğe sahip IgG, IgA veya IgE antikoru üretimi ile değişmesi sürecidir. İzotip dönüşümü somatik hipermutasyondan bağımsız olsa da ve somatik hipermutasyon olmadan ortaya çıkabilse de, yeni Ig izotiplerini ifade eden B hücrelerin çoğu zaten somatik hipermutasyona uğramıştır (46).

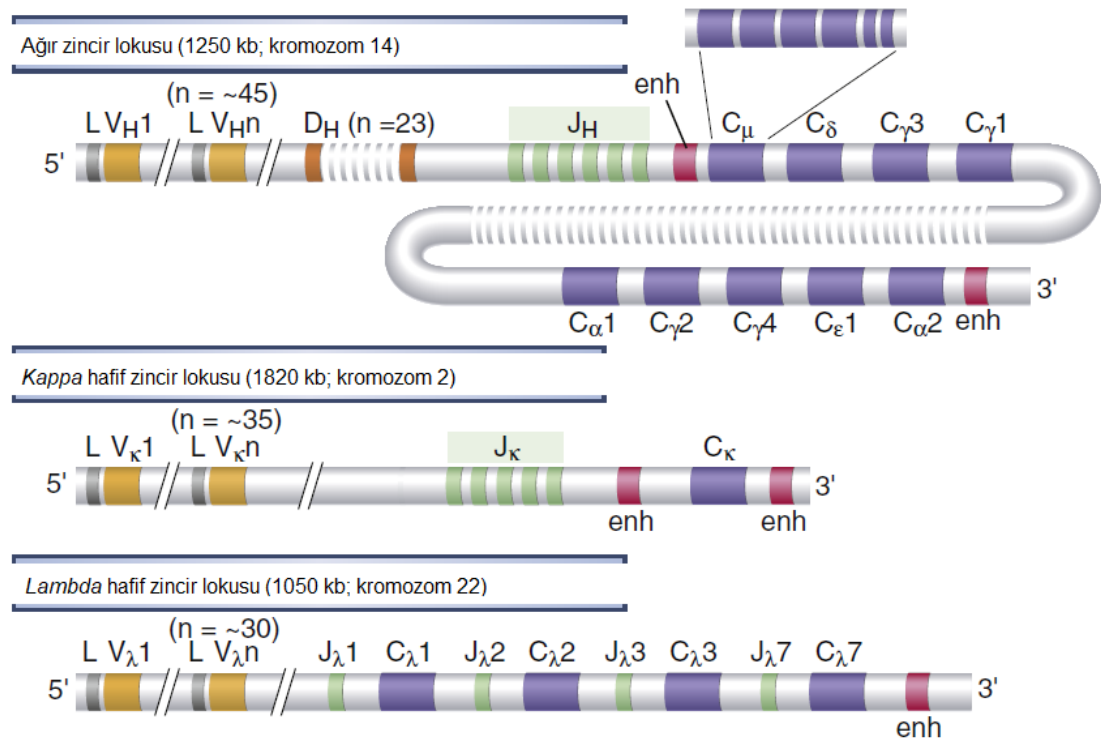
İzotip dönüşümü sırasında, sentrositteki ağır zincir sabit bölgesi bir dizi DNA kesme/yeniden birleştirme işlemine maruz kalır. Daha önce V(D)J rekombinasyonu ile oluşturulan ağır zincir VDJ ekzonunun yanına sonraki bölgede yer alan ağır zincir sabit bölge ekzonlarından herhangi biri getirilir. B hücrenin antijenik özgülüğü aynıdır, çünkü V ekzonu değişmez, ancak bu özgülük farklı bir efektör fonksiyon gösterebilen bir sabit bölge içerir. Dönüşüm rekombinasyonu olarak adlandırılan gerçek izotip dönüşümü mekanizması henüz tam olarak anlaşılammıştır, ancak somatik hipermutasyonda yer alan aynı AID enzimini gerektirmektedir. Dönüşüm rekombinasyonu, her bir ağır zincir sabit bölge ekzonunun (C $\delta$  hariç) hemen üst kısmında yer alan yüksek ölçüde korunmuş dönüşüm bölgelerinin eşleştirilmesine bağlıdır. Dönüşüm sinyali alındığında, DNA; seçilen ağır zincir sabit bölge ekzonu yeniden düzenlenmiş ağır zincir VDJ ekzonunun yanına yerleşecek şekilde ilmi haline gelir. Arada kalan sekanslar (kullanılmayan ağır zincir sabit bölge ekzonları dahil) silinir ve DNA tamir edilir. Dönüşümden sonra, ağır zincir VDJ ekzonuna en yakın ağır zincir sabit bölge ekzonunun tercihen transkripsiyonu, kesilip yapıştırılması (*splicing*) ve translasyonu yapılarak yeni izotipin Ig proteinleri üretilir (51).

Fare deneylerinde, özellikle TGF $\beta$ , IL-4 ve IFN $\gamma$  gibi sitokinlerin, seçilen ağır zincir sabit bölge ekzonunun germline transkripsiyonunun başlatılması ve böylece belirli bir Ig izotipinin üretiminde aktivatör veya inhibitör etkiye sahip oldukları

gösterilmiştir. Bu nedenle izotip dönüşümü, aktive B hücrenin mikroçevresindeki sitokinler tarafından büyük ölçüde etkilenir (46).

### 2.2.5. İmmüoglobülin Gen Lokuslarının Organizasyonu

Üç ayrı lokus; Ig ağır zincirini, Ig  $\kappa$  hafif zincirini ve Ig  $\lambda$  hafif zincirini kodlar. Her bir lokus farklı bir kromozom üzerindedir. Ig genleri, tüm memelilerde aynı şekilde organize olmuştur, ancak kromozomal lokasyonları ve her lokustaki farklı gen segmentlerinin sayısı ve sekansı değişebilir (Şekil 2.8.) (33).



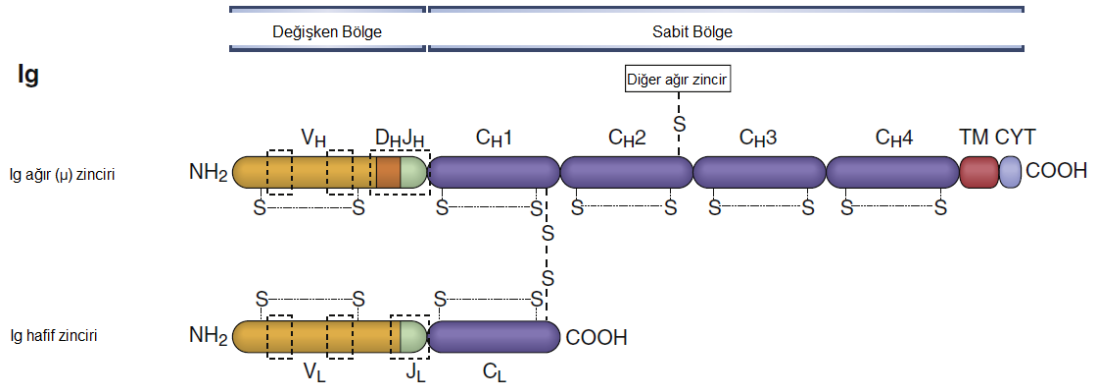
Şekil 2.8. Ig ağır zincir ve hafif zincir lokusları (33).

Her Ig lokusunun 5' ucunda, bir V (variable/değişken) geni kümesi bulunur ve kümedeki her V geni yaklaşık 300 baz çift uzunluğundadır. V gen sayısı; farklı Ig lokusları arasında ve farklı türler arasında önemli ölçüde değişmektedir. Örneğin insanlarda,  $\kappa$  hafif zincir lokusunda yaklaşık 35 V geni,  $\lambda$  hafif zincir lokusunda yaklaşık 30 V geni ve ağır zincir lokusunda yaklaşık 45 fonksiyonel V geni bulunur. Farelerde,  $\kappa$  hafif zincir lokusunda yaklaşık 30 V geni,  $\lambda$  hafif zincir lokusunda iki V geni ve ağır zincir lokusu 250'den fazlası fonksiyonel olan 1000'den fazla V geni içerir.

Her bir lokusun V geni segmentleri arasında, 2000 kilobaz uzunluğuna kadar genişleyen DNA sekansları bulunur. Her bir V gen segmentinin 5' ucunda, translasyonu yapılacak olan proteinin 20 ile 30 arasında N-terminal rezidüsünü kodlayan lider ekzon bulunur. Bu rezidüler orta derecede hidrofobiktir ve lider (veya sinyal) peptidi oluştururlar. Sinyal sekansları, tüm yeni sentezlenmiş salgılanan ve transmembran proteinlerde bulunur, ayrıca membrana-bağlı ribozomlar tarafından endoplazmik retikulum lümenine translasyonu yapılarak yeni oluşturulan polipeptidlere kılavuzluk etmede rol oynarlar. Burada, sinyal sekansları hızla yıkıma uğrar ve olgun proteinlerde bulunmaz. V geninin yeniden düzenlenmesinden sonra lider ekzonun önünden kalan gen bölgesi transkripsiyonun başladığı promotör bölgedir (33).

V genlerinin 3' ucunda değişen uzunluklarda birçok J (birleştirme/*joining*) geni segmenti bulunur. J segmentleri, hemen arkasındaki sabit bölge ekzonları ile yakından ilişkilidir. J segmentleri tipik olarak 30 ila 50 baz çifti uzunluğundadır ve kodlama yapmayan sekanslarla birbirinden ayrılır. Ig ağır zincir lokusundaki V ve J segmentleri arasında, D (çeşitleme/*diversity*) segmentleri olarak bilinen ek segmentler vardır. D segmentleri Ig hafif zincir lokuslarında bulunmaz. Tıpkı V genleri gibi, D ve J genlerinin sayısı farklı Ig lokuslarında ve farklı türlerde değişkenlik gösterir (33).

Her bir Ig lokusunun farklı bir düzenlenişi vardır ve her bir lokusun sabit bölge (C) gen sayısı farklıdır. İnsanlarda, Ig  $\kappa$  hafif zincir lokusu tek bir C genine (C $\kappa$ ) sahiptir öte yandan Ig  $\lambda$  hafif zincir lokusu dört fonksiyonel C genine (C $\lambda$ ) sahiptir. Ig ağır zincir lokusu, beş farklı Ig izotipi ve bu izotiplerin alt tiplerinin C bölgelerini kodlayan dokuz C genine (CH) sahiptir. C $\kappa$  ve C $\lambda$  genlerinin her biri, hafif zincirlerin tüm C domainini (proteninin işlensel bölgesi) kodlayan tek bir ekzondan oluşur. Buna karşın, her bir CH geni beş veya altı ekzondan oluşur. Üç veya dört ekzonun (her biri bir V gen segmentine benzerdir) her biri Ig ağır zincirinin bir CH domainini kodlar ve diğer iki küçük ekzon, Ig ağır zincirinin (transmembran ve sitoplazmik domainler dahil) membran formunun karboksil terminal uçlarını kodlar (Şekil 2.9.) (33).



Şekil 2.9. Ig domainleri (33).

Bir Ig hafif zincir proteininde ( $\kappa$  ya da  $\lambda$ ) V domaini, V ve J gen segmentleri tarafından kodlanır; Ig ağır zincir proteininde V domaini, V, D ve J gen segmentleri tarafından kodlanır. Ig ağır zincir V domaininde, yeniden düzenlenmiş V ve D segmentleri ile D ve J segmentlerin arasındaki birleşim (*junctional*) rezidülerinin yanı sıra D ve J segmentlerinin kendi sekansları “tamamlayıcılık belirleyici bölge-3” (*complementarity-determining region 3 / CDR3*) olarak bilinen üçüncü çok değişken (*hypervariable*) bölgeyi oluştururlar. Yeniden düzenlenmiş V ve J segmentleri arasındaki birleşim sekansları ile J segmentinin kendisi, Ig hafif zincirlerinin üçüncü çok değişken bölgesini oluşturur. CDR1 ve CDR2, her bir değişmemiş (*germline*) V gen segmentinin kendisinde kodlanır. Ig moleküllerinin değişken (V) ve sabit (C) domainleri, Ig katlantısı adı verilen üçüncül yapı dahil yapısal özellikleri paylaşırlar (33).

Ig lokuslarındaki kodlama yapmayan sekanslar yeniden düzenlenme ve gen ifadesinde önemli rol oynarlar. Ig genlerinin her bir kodlama yapan segmentine bitişik olarak farklı gen segmentlerinin yeniden düzenlenmesini sağlayan sekanslar bulunur. Ayrıca, gen ifadesini transkripsiyon seviyesinde düzenleyen lokus kontrol bölgeleri, ifadeyi artıran (*enhancer*) ve azaltan (*silencer*) faktör etkisi gösteren cis-etkili düzenleyici elementler ve değişken (V) gen promotörleri de mevcuttur (33).

### 2.2.6. V(D)J Rekombinasyonu

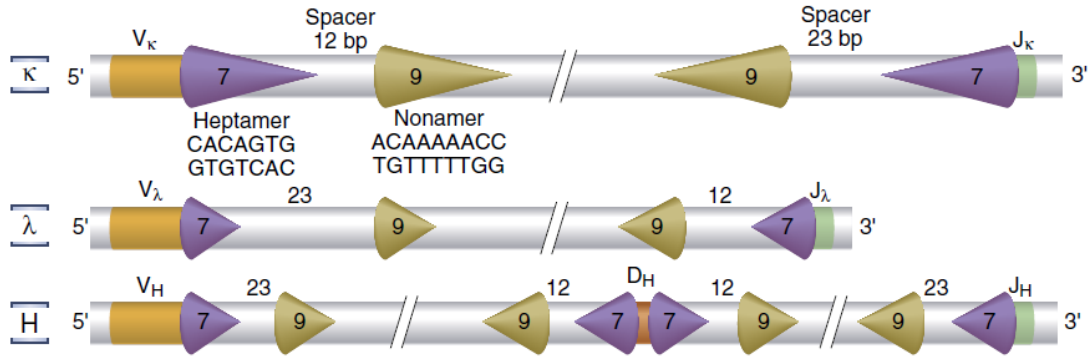
Değişmemiş (*germline*) genler, işlevsel antijen reseptörünün proteinlerini kodlayan mRNA'lara transkribe edilemezler. İşlevsel antijen reseptör genleri, rastgele

seçilen V, (D) ve J gen segmentlerini birleşik hale getiren DNA yeniden düzenlenme olaylarından sonra transkribe olur ve bu olay sadece gelişmekte olan B lenfositlerde gerçekleşir (52,53).

Herhangi bir Ig lokusundaki V(D)J rekombinasyonu; her bir lenfositteki bir V geninin, bir D segmentinin (mevcutsa) ve bir J segmentinin seçilmesi ve bu segmentlerin tek bir V(D)J ekzonunu oluşturmak üzere yeniden düzenlenmesini içerir. Oluşan V(D)J ekzonu antijen reseptörü proteininin değişken bölgesini kodlayacaktır. D segmentinden yoksun Ig hafif zincirinde, tek bir yeniden düzenlenme olayı ile, rastgele seçilen bir V genine, rastgele seçilen bir J segmenti eklenir. Ig ağır zinciri, D segmentleri içerir ve bu lokusta iki ayrı yeniden düzenlenme olayı ayrı ayrı başlatılır; önce bir D segmentine bir J segmenti ve daha sonra birleşik haldeki DJ segmentine bir V segmenti eklenir. Her yeniden düzenlenme olayı bir dizi sıralı adım içerir. İlk olarak, kromozomların belirli bölgelerindeki kromatinler yeniden düzenlenmeye aracılık eden enzimlerin antijen reseptörü gen parçacıklarına ulaşabilmesi için açılmalıdır. Daha sonra, seçilmiş iki gen parçacığı, yan yana getirilmelidir. Daha sonra bu iki parçacığın kodlama yapan uçlarında çift iplikli kırık meydana gelir, kırılmış uçlara nükleotidler eklenir veya çıkarılır ve son olarak; işlenmiş uçlar uygun bir şekilde transkribe edilebilen, klonal olarak benzersiz ve farklı antijen reseptörü genleri üretmek için bağlanır. C bölgeleri, *germline* J-C intronu ile ayrılan yeniden düzenlenmiş V(D)J ekzonundan sonra bulunur. Bu yeniden düzenlenmiş gen, bir birincil (nükleer) RNA transkriptini oluşturmak üzere transkribe edilir. Daha sonra RNA kesip çıkarma (*splicing*) işlemi ile lider ekzon, V(D)J ekzonu ve C bölgesinin ekzonları bir araya gelir. Antijen reseptörü zincirlerinden birini üretmek için membrana bağlı ribozomlarda mRNA oluşur. V, D ve J gen parçacıklarının farklı kombinasyonlarının kullanımı ve VDJ gen parçacıklarının ara bölgelerindeki (*junction*) nükleotidlerin eklenip çıkması antijen reseptörlerinin muazzam çeşitliliğine katkıda bulunur (52,53).

V(D)J rekombinasyona aracılık eden lenfosit-spesifik proteinler; her V segmentinin 3' ucunda, her J segmentinin 5' ucunda bulunan ve her D segmentinin her iki tarafını kuşatan “rekombinasyon sinyal sekansları” (RSS) adı verilen belirli DNA dizilerini tanırlar. RSS'ler; kodlama dizisine bitişik olan, heptamer olarak adlandırılan, yüksek oranda korunmuş 7 nükleotidden (genellikle CACAGTG) meydana gelir. Heptamerlerin ardından; tam olarak 12 veya 23 korunmamış nükleotidden oluşan bir

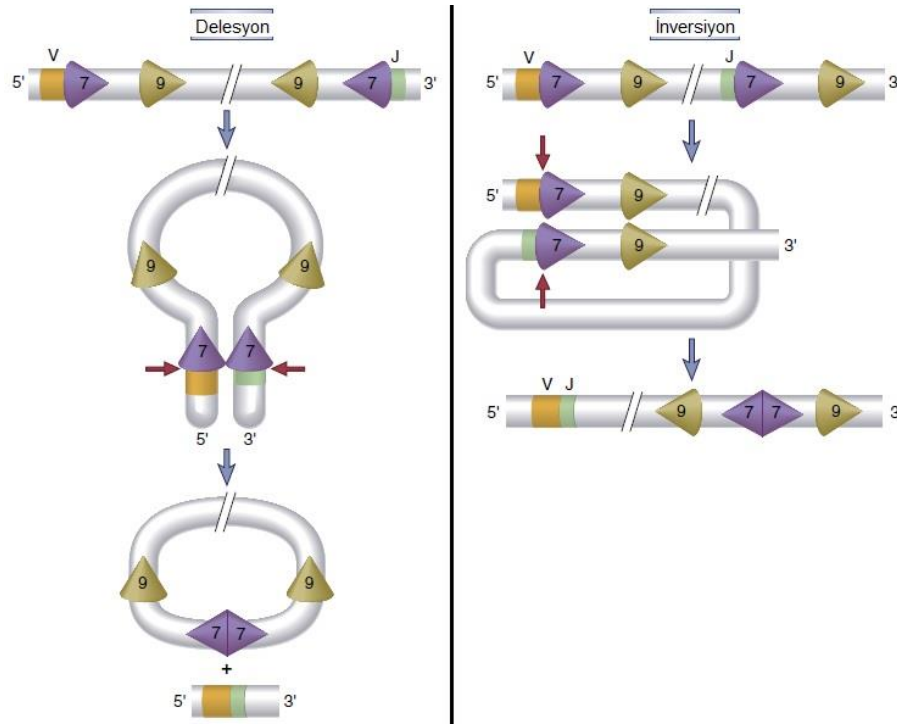
ara bölge (*spacer*) ve bunların ardından yüksek oranda korunmuş adenin-timin bakımından zengin 9 nükleotidlik bir *nonamer* gelir. 12 ve 23 nükleotidlik ara bölgeler, bir DNA sarmalının sırasıyla bir veya iki dönüşüne karşılık gelir ve muhtemelen iki farklı heptameri, rekombinasyon işlemini katalize eden enzimlere eş zamanlı erişilebilen pozisyonlara getirirler (Şekil 2.10.) (52,53).



**Şekil 2.10.** Rekombinasyon sinyal sekansları (RSS) (33).

V(D)J rekombinasyon sırasında, RSS'nin heptamerleri ile bitişiğindeki V, D veya J kodlama sekansları arasında çift zincir kırıkları meydana getirilir. Örneğin; Ig hafif zincir V-J rekombinasyonunda, bir V segmentinin 3' ucunda ve bir J segmentinin 5' ucunda kırık meydana getirilir. Aradaki çift zincirli DNA, sinyal uçlarını (heptamer ve RSS'nin geri kalanını içeren uçlar) içeren bir halka şeklinde çıkarılır; V ve J kodlama uçları birleştirilir (Şekil 2.11). Özellikle Ig  $\kappa$  lokusunda, bazı V genlerinde, RSS'ler; V<sub>κ</sub>'nın ve J<sub>κ</sub>'nın 3' ucundadır, bu nedenle birbirleriyle yüz yüze gelemezler. Bu durumda, aradaki DNA ters döner ve V ve J gen parçacıkları uygun şekilde hizalanır; birleştirilmiş RSS'ler çıkmaz ve kromozomda saklanır (Şekil 2.11.). Çoğu Ig gen yeniden düzenlenmesi delesyon ile meydana gelir; inversiyon ise Ig  $\kappa$  lokusundaki yeniden düzenlenmelerin %50'sinde meydana gelir. İki gen parçacığı arasındaki rekombinasyon, sadece parçacıklardan biri bir 12-nükleotidlik ara bölge diğeri de bir 23-nükleotidlik ara bölge tarafından kuşatılmışsa meydana gelir; buna 12/23 kuralı denir. Dolayısıyla, DNA sarmalının tek bir dönüşünü kapsayan bir ara bölgeye sahip bir RSS'si olan kodlama segmenti, her zaman sarmalın iki turn'ünü kapsayan bir spacer'a sahip bir RSS'si olan bir kodlama parçacığı ile yeniden

birleştirilir. Yandaki RSS'lerin türü (bir veya iki dönüş), uygun gen parçacıklarının yeniden birleşmesini sağlar. Örneğin; Ig ağır zincir lokusunda, hem V hem de J segmentlerini kuşatan RSS'ler 23 nükleotidlik ara bölgelere (iki dönüş) sahiptir ve bu nedenle doğrudan birleştirilemezler; önce D-J rekombinasyonu olur, ardından V-DJ rekombinasyonu olur, bunu mümkün kılan D parçacıklarının her iki tarafta 12-nükleotidlik ara bölgelerle kuşatılmış olmasıdır, böylece önce D-J birleştirilir, daha sonra V-DJ birleştirilir. Burada tarif edilen RSS'ler Ig genlerine özgüdür. Bu nedenle, V(D)J rekombinasyonu, yalnızca antijen reseptörü genlerinde meydana gelebilir (52,53).

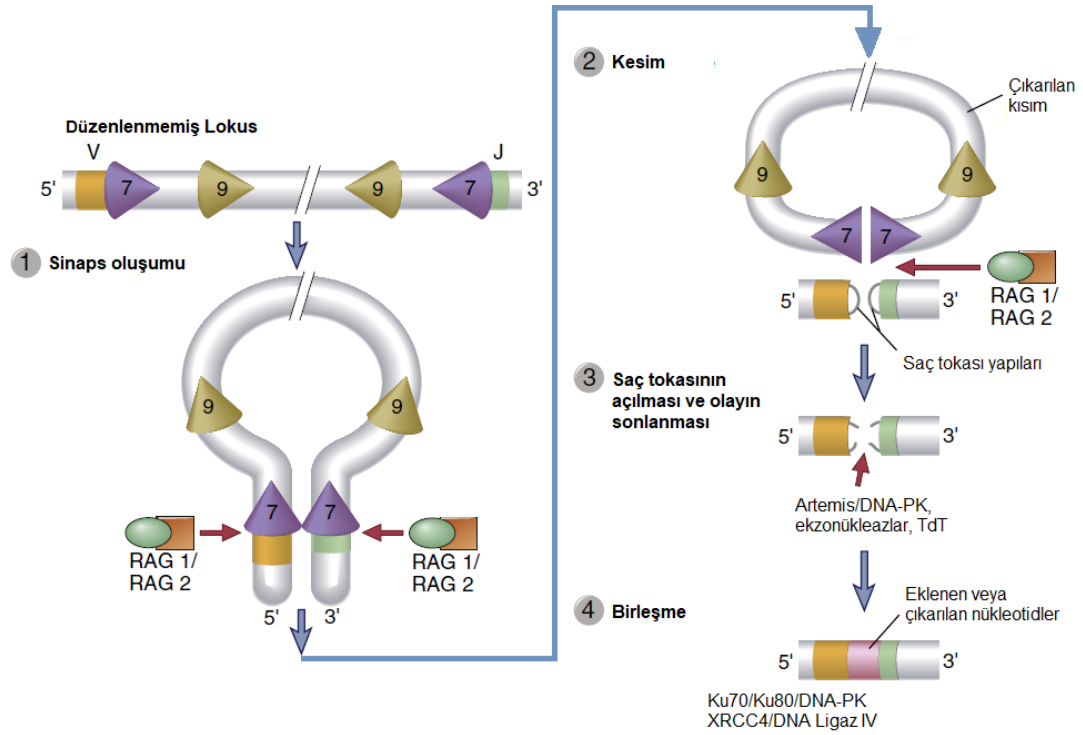


Şekil 2.11. Delesyon ve inversiyon (33).

### 2.2.7. V(D)J Rekombinasyonuun Mekanizması

Ig genlerinin yeniden düzenlenmesi, çeşitli enzimlerin aracılık ettiği özel bir tür "homolog olmayan" DNA rekombinasyon olayıdır. Bu enzimlerin bazıları sadece gelişmekte olan lenfositlerde bulunurken, diğerleri ubikuitöz DNA çift zincirli kırık onarımı enzimleridir. V(D)J rekombinasyonun mekanizması oldukça iyi anlaşılrsa da,

rekombinasyonda yer alan araçların spesifik lokuslara tam olarak nasıl erişebildiği henüz belirlenmemiştir. Rekombinasyona aracılık eden enzimlerin Ig lokuslarına erişebilirliği; kromatin yapısında ve DNA'daki epigenetik değişiklikler ve gen lokuslarındaki bazal transkripsiyonel aktivite dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar ile gelişmekte olan B hücrelerde düzenleniyor olması olasıdır (33).



Şekil 2.12. V(D)J rekombinasyon olayı (33).

V(D)J rekombinasyonu olayı, sıralı olarak birbirini takip eden dört ayrı olaya bölünebilir (Şekil 2.12.);

1. Sinaps oluşumu (*synapsis*): Antijen reseptör geninin bulunduğu kromozom kısımları rekombinasyona aracılık eden yapılara erişilebilir hale getirilir. Seçilen iki kodlama segmenti ve bunların bitişiğindeki RSS'leri bir kromozomal halka (*loop*) oluşumu ile bir araya getirilmekte ve müteakip olaylar için bu pozisyonda tutulmaktadır.
2. Kesim (*cleavage*): Çift zincir kırıkları, lenfoid spesifik olan yapılar tarafından RSS kodlama sekansı bağlantı noktalarında enzimlerce oluşturulur. Rekombinasyon Aktive Edici Gen 1 ve Rekombinasyon Aktive Edici Gen 2 (RAG1 ve RAG2) olarak adlandırılan lenfoid spesifik genler tarafından



kodlanan iki protein, V(D)J rekombinasyonda önemli bir rol oynayan, her bir protein molekülünden iki tane içeren bir kompleks oluşturur. RAG-1/RAG-2 kompleksi ayrıca V(D)J rekombinaz olarak da bilinir. RAG-1 proteini, bir restriksiyon endonükleaza benzer bir şekilde, bir heptamer ve bir kodlama yapan parçacık arasında bulunan birleşme noktasındaki DNA sekansını tanır ve bu sekansın kesimini sağlar, ancak sadece RAG-2 proteini ile kompleks haline geldiğinde enzimatik olarak aktiftir. RAG-2 proteini, RAG-1/RAG-2 tetramerini; lenfosit gelişiminin belirli aşamalarında ve belirli zamanlarında, belirli açık reseptör geni lokuslarına getiren erişilebilirlik faktörleri dahil olmak üzere diğer proteinlere bağlamaya yardımcı oluyor olabilir. RAG-1 ve RAG-2, kromozom katlanması veya sinaps oluşumu sürecinde gen parçacıklarını bir arada tutmaya katkıda bulunurlar. RAG-1 daha sonra kodlama yapan uç ve heptamer arasında bir (DNA'nın tek zincirinde) bir çentik (*nick*) oluşturur. Kodlama yapan uçtan salınan 3' OH daha sonra diğer DNA zincirindeki fosfodiester bağı ile bağlantır kurar ve kovalent bağlı saç tokası (*hairpin*) görünümü oluşur. Sinyal ucu (heptamer ve RSS'nin geri kalanı dahil olmak üzere) bir saç tokası oluşturmaz ve başka bir işleme tabi tutulmayan küt uçlu çift iplikli bir DNA son kısmı olarak kalır. Çift zincir kırığı; kodlama yapan segmentlerden birinin kapalı saç tokası yapısının, diğer kodlama yapan ucun kapalı saç tokası yapısının karşısında tutulması ve küt uçlu iki sinyali ucunun yan yana yerleştirilmesiyle sonuçlanır. RAG-1 ve RAG-2, çift zincir kırığı oluşturulmasından ayrı olarak, kodlama yapan uçların modifikasyonu ve ligasyon işleminden önce saç tokası uçlarını ve küt uçları bir arada tutar.

RAG genleri, lenfoid spesifiktir ve sadece gelişmekte olan B ve T hücrelerinde ifade edilirler. RAG proteinleri esas olarak hücre döngüsünün G0 ve G1 evrelerinde ifade edilir ve proliferen olan hücrelerde inaktive edilir. DNA kesimini ve rekombinasyonunu G0 ve G1 evrelerine sınırlandırmanın, DNA replikasyonu veya mitoz sırasında uygun olmayan DNA kırıkları meydana getirme riskini en aza indirdiği düşünülmektedir. Fonksiyonel RAG-1 veya RAG-2 genleri olmayan farelerde (*KO*), B veya T lenfosit gelişimi başarısız olur ve ayrıca RAG-1 veya RAG-2 eksikliği, hastaların tüm lenfositlerden yoksun olduğu AKİY'in nadir bir nedenidir.

3. Saç tokasının açılması ve olayın sonlanması: Kırılan kodlama uçları, baz eklenmesi veya çıkarılmasıyla modifiye edilir ve dolayısıyla daha fazla çeşitlilik oluşur. Çift zincir kırığının oluşmasından sonra, kodlama yapan uçlardaki saç tokaları açılmalıdır. Daha fazla çeşitlilik sağlamak için kodlama yapan uçlara bazlar eklenebilir veya çıkarılabilir. Artemis, kodlama yapan uçlardaki saç tokalarını açan bir endonükleazdır. Artemisin yokluğunda saç tokaları açılmaz ve olgun T ve B hücreler üretilemez. Artemis'teki mutasyonlar da AKİY'in nadir bir nedenidir. Terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) olarak adlandırılan lenfoid spesifik bir enzim, kırık DNA uçlarına bazlar ekler.
4. Birleşme (*joining*): Kırılan kodlama yapan uçlar ve sinyal uçları; bütün hücrelerde bulunan ve homolog olmayan uç birleşmesi olarak isimlendirilen bir çift zincir kırık onarım işlemi ile bir araya getirilir ve bağlanır. Homolog olmayan uç birleşmesinde bir dizi ubikuitöz faktör yer almaktadır. Ku70 ve Ku80; DNA uç bağlama proteinleridir, kırıklara bağlanırlar ve çift zincir DNA onarım enzimi olan DNA-bağımlı protein kinazın (DNA-PK) katalitik alt birimini oluşturur. AKİY hastalarında bu enzimi kodlayan gende mutasyonlar keşfedilmiştir. DNA-PK ayrıca, uç bağlama işleminde yer alan Artemis'i fosforile eder ve aktive eder. İşlenmiş kırık uçların bağlanması, DNA ligaz IV ve XRCC4 aracılığı ile gerçekleştirilir. XRCC4, ligazın katalitik olmayan ancak temel bir alt birimidir(33,46,52,53).

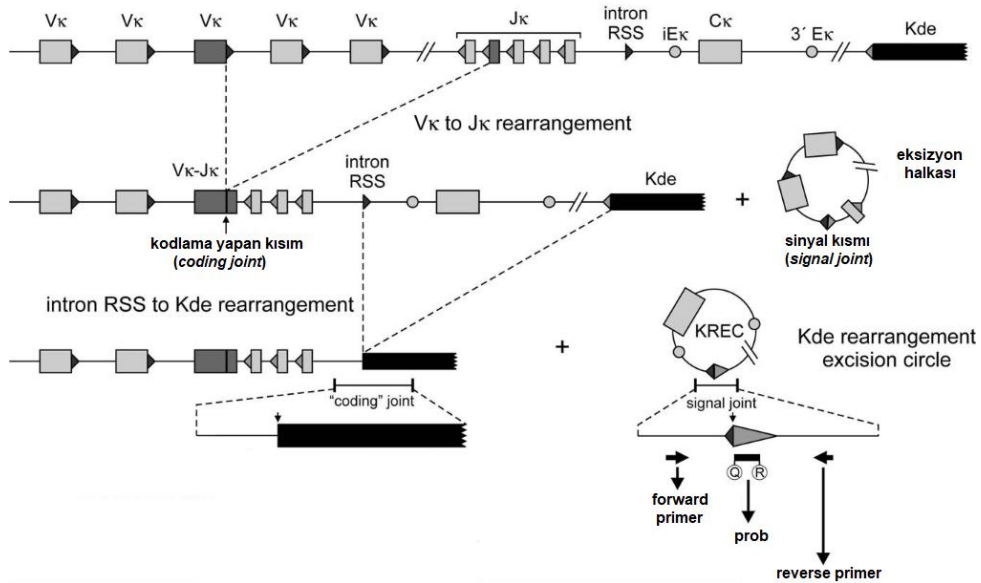
### 2.2.8. Kappa-Silici Rekombinasyon Eksizyon Halkası (KREC)

Kappa-Silici Rekombinasyon Eksizyon Halkaları (*Kappa-Deleting Recombination Excision Circle / KREC*) B hücre olgunlaşması sırasında fonksiyonel antijen reseptörü oluşturmak için meydana gelen yeniden düzelenme olayının ürünleridir (54). KREC'ler, Ig ağır zincir gen yeniden düzenlenmesini tamamladıktan sonra, Ig  $\kappa$  genlerini bir veya her iki allel üzerinde yeniden düzenlenmeyi başaramayan B lenfositlerde ortaya çıkarlar (55).

İnsan ve farelerin Ig  $\kappa$  kodlayan lokusunda, işlevsel olarak karakterize edilen üç gen ifadesini artıran eleman tanımlanmıştır (56–59). İlki KE5', Ig kappa birleşim bölgesi (IgJ $\kappa$ ) ve Ig  $\kappa$  sabit bölge (IgC $\kappa$ ) genleri arasındaki intronik bölgede yer alır;

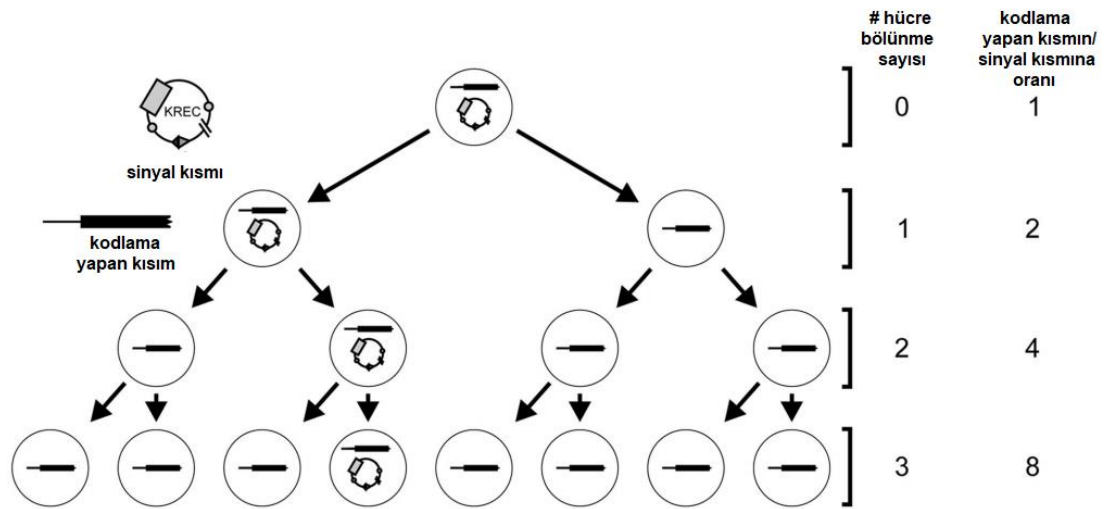
diğer ikisi, Ig C  $\kappa$  geninin 3' ucunun proksimal (KE3'P) ve distal bölgelerinde (KE3'D) yer alır (60–62). Bu elemanlar, spesifik transkripsiyon faktörlerine bağlanan spesifik nükleotid motifleri içerirler (Şekil 2.13.) (61,63,64).

B hücre farklılaşması sırasında, Ig hafif zincir geni yeniden düzenlenmesi,  $\kappa$  zincir geni yeniden düzenlenmeleri ile başlayan ve  $\lambda$  zincir geninin yeniden düzenlenmesiyle devam eden düzende gerçekleşir (65). Genellikle sadece tek tip Ig hafif zincir geni, belirli bir B hücresinde ifade edilir. Çoğu durumda,  $\lambda$  kodlayan genler, sadece  $\kappa$  kodlayan genlerin yeniden düzenlenmesi işlevsel olmayan ürünlerle sonuçlandığı zaman yeniden düzenlenir (66–68). Ig  $\kappa$  V bölge geni (IgV $\kappa$ ) ve Ig  $\kappa$  J bölge geni (IgJ $\kappa$ ) arasındaki yeniden düzenlenme, işlevsel olmayan bir IgV $\kappa$ -IgJ $\kappa$  ürünü üretiyorsa, lokus IgC $\kappa$  geninden sonra yer alan Kappa silici eleman (*Kappa-Deleting Element* /  $\kappa$ DE) ile bir yeniden düzenlenme yoluyla silinir (69).  $\kappa$ DE insanlarda ve farelerde tarif edilmiştir, ancak bu gen bölgelerinin diğer memelilerde mevcut olup olmadığı bilinmemektedir (69–71).  $\kappa$ DE aracılı Ig  $\kappa$  gen yeniden düzenlenmelerinin çoğu, IgJ $\kappa$ -IgC $\kappa$  intronunda bulunan RSS yoluyla gerçekleşir (69–71). Son zamanlardaki çalışmalar  $\kappa$ DE'nin RSS'ye komşu IgJ $\kappa$  genlerini rekombine edebileceğini göstermiştir (72). J $\kappa$ -C $\kappa$  arasındaki intronRSS'nin  $\kappa$ DE aracılığıyla yeniden düzenlenmesi, Ig $\kappa$  lokusunu işlev dışı hale getirir, Ig $\kappa$  lokusundaki herhangi bir başka yeniden düzenlenmeyi engeller (60,69).



Şekil 2.13. KREC yapısı (9).

KREC'ler; B hücre olgunlaşması sürecinde, alelik dışlanma (*exclusion*) ve izotipik dışlanma (*exclusion*) sırasında üretilir (69). KREC'lerin kodlama yapan kısmı (*coding joint / cj*) kromozomda kararlı bir şekilde kalırken, sinyal kısmı (*signal joint / sj*) genomik DNA'dan çıkartılır ve stabil epizomal yapılar olarak kalır (9). cjKREC seviyeleri, B hücresi bölünmesinden sonra aynı kalır, ancak sjKREC seviyeleri her bir hücre bölünmesi ile 2 kat azalır, çünkü sjKREC'ler hücre bölünmesi sırasında kopyalanmaz (Şekil 2.14.) (9).



Şekil 2.14. KREC'ler ve hücre bölünmesi (9).

VDJ rekombinasyonun ürünü olarak ortaya çıkan çift zincirli stabil KREC'ler, olgun B hücrelerin homeostatik proliferasyonunu göstermektedir (9). KREC'ler kemik iliğinden salınan B hücrelerinin yaklaşık %50'sinde rastgele mevcut olduğundan, ölçümleri yeni üretilen B lenfositlerinin miktarının güvenilir bir ölçümü olarak kabul edilir (73). Hücreler ölürse KREC'ler de yok olur (74).

### 2.2.9. KREC Seviyesi Belirlenmesinin Önemi

KREC seviyesi, primer immün yetmezliği olan çocuklarda, özellikle B hücre eksikliklerinin en ağır formu olan XLA ve XLA olmayan hipogammaglobülinemili hastalarda yakın zamanda değerlendirilmiştir (75). KREC ölçümü, bu iki hastalığın tanımlanması için potansiyel bir araç olarak önerilmiştir, çünkü B-hücre olgunlaşma kusurları, Igk'nın silinmesi olaylarından önce ortaya çıkmaktadır ve bu nedenle

KREC'ler bu hastalarda üretilmemeli / tespit edilmemelidir (75). Hastalara ait kan örneğinin bulunduğu *Guthrie* kağıtlarından elde edilen KREC'leri analiz edildiği çalışmada, 30 XLA ve 5 XLA olmayan hipogammaglobülinemi hastada KREC tespit edilememiştir (75).

T hücre reseptörü eksizyon halkaları (TREC) timusta V(D)J rekombinasyon sırasında T hücre öncüllerinin farklılaşması ile ortaya çıkan epizomal DNA parçalarıdır (6). İtalya'da YDİY hastaları ile yapılan bir TREC/KREC ölçümü çalışmasında hastaların kontrollere göre daha düşük KREC sayısına sahip olduğu gösterilmiştir (76). Çok yakın zamanda, Kamae ve arkadaşları, TREC'lerin ve KREC'lerin miktarının, farklı hastalarda YDİY patogenezi ve klinik şiddetini değerlendirmek için yararlı bir belirteç olabileceğini göstermiştir (77).

Yaşamı tehdit eden bir primer immün yetmezlik formu olan AKİY'in erken tanısı büyük önem taşımaktadır. Çünkü tekrarlayan enfeksiyonların ortaya çıkmasından ve aşılama programlarından önce tanı koyabilmek, kemik iliği transplantasyonu, enzim replasmanı veya gen terapisi gibi hayat kurtarıcı tedavilere olanak sağlar (78–84). Benzer şekilde, B hücre defektleri olan hastaların yaşam kalitesini ve prognozunu iyileştirmek için erken tanı ve tedavi önemlidir. Bununla birlikte, AKİY veya agammaglobulinemisi olan bebekler genellikle doğumda normal görünmektedir, aile öyküsünde immün yetmezliğe sahip değildir ve sonuç olarak, birçoğu yaşamı tehdit eden enfeksiyonlar ortaya çıkana kadar tanı alamamaktadır (85). TREC ölçümünün AKİY hastalarını altta yatan genetik defektlerden bağımsız olarak saptayabileceği ve agammaglobulinemili hastaların KREC ölçümü ile tanımlanabildiğinin gösterilmesi, TREC ve KREC ölçümlerinin AKİY ve agammaglobulineminin tespiti için yenidoğan tarama programlarında kullanılabileceğini önermektedir (75,86). ABD'nin bazı eyaletlerinde, AKİY için yeni doğan taraması tanı ve tedavi kılavuzlarıyla entegre edilmiş şekilde pilot çalışmaları yapılmıştır (85). XLA olan çocukların erken tanı almasının, yaşam kalitelerini önemli ölçüde artırması ve sağlık bakım maliyetlerinin azaltılmasına katkıda bulunması beklenmektedir (6). Gerçekten de, klinik fenotipleri AKİY'den daha az şiddetli olduğundan, tarama programının yokluğunda ilk yıllarında tanı konmamış hastalık riski, daha ciddi organ hasarının gelişmesine neden olabilir (6).

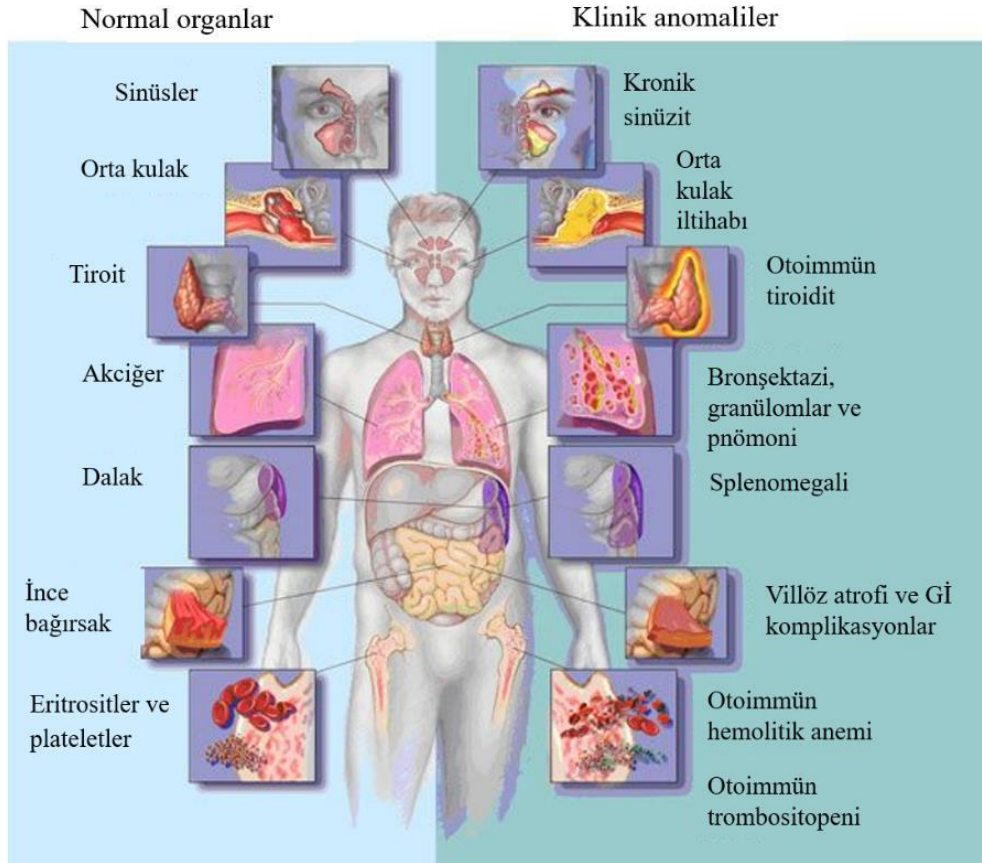
İtalya'da yapılan başka bir çalışmada TREC ve KREC'ler, kemik iliği tranplantasyonu yapılan AKİY, X-linked hiper IgM, Wiskott-Aldrich sendromu ve ailesel hemofagositik lenfohistiyositoz olan hastalarda ölçülmüş ve 12-79 ay arasında değişen bir süre boyunca takip edilmiştir. TREC'ler ve KREC'lerin transplantasyon sonrası artışlarının birbiriyle sıkı bir şekilde bağlantılı veya birbirinden bağımsız olabileceği ve bunu T-hücre repertuarının ve Ig üretiminin normalleşmesinin izlediği tespit edilmiştir (87).

#### **2.2.10. T Hücre Reseptörü Alfa Sabit Geni (TRAC)**

TREC ve KREC seviyesinin saptandığı, kantitatif real time polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile yapılan tüm çalışmalarda kontrol geni olarak TRAC (T Hücre Reseptörü Alfa Sabiti / *T Cell Receptor Alpha Constant*) geni kullanılmaktadır. TRAC geninin her hücrede iki kopyası bulunduğu için çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar ikiye bölünmektedir (87–90).

### **2.3. YDİY Klinik Özellikleri**

Yaygın değişken immün yetmezlik, ağır bir antikor eksikliği ile birlikte farklı klinik bulguların topluluğudur. Bu klinik bulgular; enfeksiyonlar, pulmoner komplikasyonlar, anemi ve trombositopeni, granülomlar, artrit, malignansiler, gastrointestinal sistem ve karaciğer komplikasyonları olarak belirtilebilir. Şekil 2.15'te YDİY'den etkilenen organlar gösterilmektedir.



Şekil 2.15. YDİY’de etkilenen organ sistemleri (91).

### 2.3.1. Enfeksiyonlar

YDİY hastalarında tekrarlayan enfeksiyonlar en sık görülen klinik bulgudur ve hastaların başlıca şikayetidir. Hastaların tümü enfeksiyon nedeniyle yılda birkaç kez hastaneye yatırılmaktadır (92). Sık görülen enfeksiyon tipleri pnömoni, gastrointestinal enfeksiyon, otitis media ve sinüzittir. Tekrarlayan pnömoni gibi solunum sisteminde ciddi hasar oluşturan enfeksiyonlar nedeniyle hastalarda fibrozis, anfizem, bronşektazi ve hatta solunum yetmezliği görülebilir (93). Bronşektaziye bağlı nedenlerle lobektomi gibi girişimlerde bulunulabilmektedir. YDİY’de ciddi enfeksiyon riski, yeterli immünoglobulin replasman tedavisi ile büyük ölçüde iyileştirilmiştir, ancak daha az ağır seyreden enfeksiyonlar persistan olabilir. Ig replasman tedavisi alan hastalarda devam eden enfeksiyonlar, bakteriler ya da solunum yolu virüsleri ile çoğunlukla üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarını içerir ve sinüs enfeksiyonu, pnömoniyeye göre çok daha yaygındır (94,95). Bazı çalışmalar artmış IgG

seviyelerinin elde edilmesinin, YDİY’de bu enfeksiyonların oranını azaltabileceğini öne sürmüşlerdir (96,97). Bu veriler, YDİY hastalarının çoğunda, enfeksiyon duyarlılığının, humoral immün sistem ile sınırlı kaldığını ve Ig replasmanının, humoral immün yetmezliği etkili bir şekilde azalttığını göstermektedir.

### **2.3.2. Pulmoner Komplikasyonlar**

Yaygın değişken immün yetmezlik hastalarında akciğer hastalığı genellikle solunum yolu hastalıkları ve intersitisyel akciğer hastalıkları şeklinde değerlendirilir. Solunum yolu hastalıkları enfeksiyon, kronik obstrüktif hastalık ve bronşektazi içerir. Bronşektazi, altta yatan pulmoner enfeksiyon öyküsü ile ilişkilidir ancak pulmoner enfeksiyon öyküsü olmayan hastalarda da görülebilir (98). İntersitisyel akciğer hastalıkları arasında foliküler bir düzenlenme olsun ya da olmasın lenfoid infiltratif hastalıklar, granüloma ve pnömoni yer almaktadır (99,100). Kombine infiltratif lenfositik ve granümatöz akciğer hastalığı granümatöz lenfositik interstisyel akciğer hastalığı (GLILD) olarak adlandırılır. GLILD, diğer kronik akciğer hastalığı türlerinden daha az sıklıkta görülür, hem hastalığın ilerlemesi, hem de diğer YDİY ile ilişkili morbidite ile ilişkisi nedeniyle önemli ölçüde artmış mortalite riski taşır (101,102). YDİY’de pulmoner hastalık çok yaygındır; bir çalışmada, bilgisayarlı tomografi taraması ile hastaların %64’ünde bronşektazi ve %72’sinde intersitisyel akciğer hastalığı saptanmıştır (98). Pulmoner hastalığın tedavisinde altta yatan problem hedeflenmektedir. Bronşektazi, immünoglobulin replasman tedavisinin başlatılmasıyla düzelmez; ancak, bakteriyel reinfeksiyon ve hastalık progresyonunu önlemek için yeterli immünoglobulin replasmanı gereklidir (103). Yanıt süresi net olmamasına rağmen, rituximab ve azatiyoprin kullanımı ile interstisyel akciğer hastalığının etkili tedavisi bildirilmiştir (100,104). Diğer immünosüpresif ilaçlarla ilgili deneyimi bildiren sınırlı veri vardır (105). Bir dereceye kadar histopatoloji tedavi seçerken faydalı olabilir. T hücre infiltrasyonu olanlarda kortikosteroidler ve diğer T hücre hedefli tedaviler hastalığı hafifletebilir. B hücresi infiltrasyonu ve folikül formasyonu olanlarda, steroidler daha az etkili olabilir ve alternatif yaklaşımlar gerektirebilir (106).



### 2.3.3. Hematolojik Bulgular

Yaygın değişken immün yetmezlikte hematolojik bulgular sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Hem trombositleri hem de kırmızı kan hücrelerini hem birbirinden bağımsız hem de eş zamanlı olarak etkileyen kan hücresi otoimmünitesi, YDİY’de en sık görülen otoimmün komplikasyondur (107). Otoimmün nötropeni, daha az sıklıkta da olsa ortaya çıkabilir. Hastaların %10-20’sinde otoimmün sitopeni vardır, sitopeni sıklıkla YDİY tanısı için ilk ipucudur (108). Sitopeni sıklıkla splenomegali ile ilişkilidir, bu durum bazı hastalarda sitopeninin muhtemel nedenidir, fakat splenomegalinin yokluğunda da sitopeni görülebilir (4). YDİY’de otoimmün sitopeninin uygun tedavisi ile ilgili olarak, çoğu hasta YDİY tanısı almadan önce idiopatik trombositopenik purpura (ITP) ile başvurduğu için sınırlı veri bulunmaktadır. İmmünoglobulin replasmanının başlatılması ITP’de işe yarayabilir; yeterli replasmanın sağlanması önemlidir. ITP tedavileri potansiyel olarak immün baskılayıcıdır (109). ITP’nin ilk tedavisi uzamış oral kortikosteroid tedavisidir. Kortikosteroidlerin etkisiz olduğu düşünülürse, birçok hasta refrakter olmaya devam etse de, yüksek doz intravenöz immünoglobülin (IVIG) denenebilir (110,111). Durum refrakter kalırsa, rituximab ikinci basamak tedavi olarak düşünülebilir (111). Retrospektif bir çalışmada standart dozda rituximab tedavisi ile, refrakter sitopenisi olan hastaların %50’sinde etkin bir yanıt elde edildiği rapor edilmiştir (110). İmmünomodölatörler ve splenektomi, diğer tüm terapilerin başarısız olduğu hastalarda son çaredir ancak sonraki enfeksiyon riskini genellikle arttıırırlar (111). Otoimmün hemolitik aneminin (OHA) tedavisi, ITP ile aynıdır; Bununla birlikte, yüksek doz IVIG’e yanıt OHA’da daha düşüktür ve hastalığın nüks etmesi beklenmelidir (109).

### 2.3.4. Granülom

Granülomlar, YDİY hastalarının küçük bir kısmında ortaya çıkar ve immün disregülasyonla ilişkilidir. Tek bir bölgedeki granüloma, sıklıkla vücudun diğer bölgelerinde ek granülomlar eşlik eder (102,112). En sık etkilenen organın akciğer olmasıyla birlikte; dalak, lenf nodları, karaciğer, bağırsak, kemik iliği, deri, beyin, parotid, retina ve böbrek de etkilenir (112,113). Granülomların boyutları değişebilir ve lenfoid foliküllerin içinde ve dışında görünebilirler ve çoğunlukla nektotizan değildirler (113–115). YDİY’de granülom varlığı, ilişkili otoimmünite ve

splenomegali olasılığını önemli ölçüde artırır (112,116). Granülomun etkili tedavisi belirlenmemiştir. Kortikosteroid tedavisi sıklıkla kullanılmaktadır ve bir retrospektif çalışmada, granülomu olan hastaların bir kısmında kısmen etkili olduğu rapor edilmiştir (112). IVIG yüksek dozda verilse dahi remisyona yol açmamaktadır. İnfliximab tedavisi, granümatöz hastalığı, steroidler de dahil olmak üzere diğer immünsüpresif tedaviye refrakter olan 5 YDİY hastasında klinik iyileşme ile sonuçlanmıştır (117). Ek vaka raporları, YDİY ile ilişkili granülomda TNF-bloke edici ajanlara olumlu yanıtlar belirtilmiştir (115,118,119).

### **2.3.5. Malignansi**

Malignansi, yetişkin YDİY kohortlarında erken mortalitenin ana nedenidir. YDİY'li yetişkin hastaların %20'lik bir kısmı bir çeşit kanser geliştirir (120). En sık görülen form lenfomadır, ancak hematopoetik olmayan kanserler de bildirilmiştir. Erken dönemde yapılan çalışmalar, YDİY hastalarında 33 kat artmış lenfoma veya mide kanseri riski olduğunu göstermiştir; bununla birlikte, daha yeni çalışmalarda sadece hafif düzeyde lenfoma riskini tanımlanmıştır (121,122).

### **2.3.6. Romatolojik Bulgular**

Yaygın değişken immün yetmezlikte romatolojik bulgular da sık görülür. Eklem tutulumu hem enfeksiyöz hem de enfeksiyöz olmayan süreçleri içerir. *Mycoplasma* ve *Ureaplasma* türlerine ait enfeksiyonlar, tedavi edilmezse, nadiren düşük dereceli kronik eklem iltihabına neden olabilir (123). Hem büyük hem de küçük eklemler dahil olmak üzere eklemlerin enfeksiyöz olmayan inflamasyonun, IVIG başlanmasıyla düzeldiği bildirilmiştir; bununla birlikte, persistan ve yıkıcı artrit vakaları bildirilmiştir (124,125). YDİY'de vaskülit de sık karşılaşılan bir klinik özelliktir (126).

### **2.3.7. Gastrointestinal Sistem ve Karaciğer Komplikasyonları**

Yaygın değişken immün yetmezlik hastalarında gastrointestinal inflamatuvar hastalık yaygındır. Manifestasyonlar çeşitli olabilir ve kronik enteropati, inflamatuvar bağırsak hastalığı, gastrit ve pernisiyöz anemiyi içerebilir; bununla birlikte, kronik enteropati en sık görülen komplikasyondur. YDİY ile ilişkili enteropatinin tipik

makroskopik bulguları nodüler lenfoid hiperplazi ve non-spesifik inflamasyondur. Mikroskopik bulgular plazma hücrelerinin eksikliği, lenfositlerin intraepitelyal infiltrasyonu ve hiperplastik lenfoid foliküllerdir (127). Diğer bulgular villöz düzleşme ve kript apoptozu içerebilir. YDİY’de enteropatinin nedeni bilinmemektedir. Bazen *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, CMV, *Salmonella* türleri ve *Campylobacter jejuni* gibi enfeksiyöz organizmalar izole edilir; ancak sıklıkla enfeksiyöz bir organizma bulunmaz (128). Enterik virüslerin, YDİY hastalarının gastrointestinal boşluğunda saptanması daha olasıdır; ancak bu virüslerin çoğu 3 ay içinde temizlenir (129). Yakın zamanda yayınlanan bir seride, kronik enteropatisi olan bazı erişkin YDİY hastalarında, kronik norovirüs enfeksiyonu olduğuna dair kanıtlar gösterilmiştir, iki hastada ribavirin tedavisi ile çözülmüştür (130). Açık olarak bir enfeksiyöz neden olmayan hastalar için, anti-Tümör Nekroz Faktörü (TNF) tedavisi ile düzelme olduğu rapor edilmiştir (131).

Yaygın değişken immün yetmezlikte karaciğer hastalığı, portal dolaşımın idiyopatik anormallikleri, primer biliyer siroz, hepatit ve nodüler rejeneratif hiperplazi (NRH) dahil olmak üzere çeşitlilik göstermektedir<sup>81</sup>. En sık görülen ciddi karaciğer hastalığı olan NRH, YDİY hastaların %5’inde görülmektedir (132). NRH sıklıkla lenfositik infiltrasyon, stabil fibrozis ve inflamatuvar enteropati ile ilişkilidir (132,133). Granülomlar ayrıca biyopside de görülebilir. YDİY’de portal dolaşım anormallikleri ve yüksek karaciğer enzimleri yaygın olarak görüldüğü için, NRH’nin düşünülenenden daha yaygın olması mümkündür (132,134). Semptomların biyopsiyi gerektirecek kadar şiddetli olduğu YDİY hastalarında, klinik seyri genellikle kötüdür, çoğu hastada portal hipertansiyon ve siroz gelişmektedir (106).

Karaciğer hastalığı, YDİY’de kötü bir komorbidite olabilir; sonuç olarak iyi yönetilmelidir. NRH; splenomegali, asit, varis ve hatta karaciğer yetmezliği ile sonuçlanan hepatit ve portal hipertansiyona progresif veya hızlı bir şekilde ilerleme kapasitesine sahiptir (132).

#### **2.4. YDİY Tanısı**

Otit, sinüzit, bronşiolit ve akciğerlerin dahil olduğu tekrarlayan bakteriyel enfeksiyon öyküsü olan yetişkinler veya çocuklarda YDİY’den şüphelenilmelidir. Laboratuvar özellikleri arasında; IgG sıklıkla IgA ve bazen IgM dahil olmak üzere

düşük seviyelerde serum immünoglobulin düzeyleri mevcuttur (135). Tanıya yardımcı bir diğer özellik, fonksiyonel antikor eksikliği olup olmadığını belirlemektir. Serum antikor seviyelerinin, kızamıkçık, tetanoz, kızamık, difteri, kabakulak, veya pnömokokal polisakkarit antijenlerine karşı aşı yanıtlarının ölçümü ile yapılır. YDİY tanısı almış olan hastalarda, bu aşuların çoğuna çok az yanıt görülmekte veya hiç yanıt görülmemektedir. B ve T hücrelerin sayısal ve fonksiyonel değerlendirmeleri de tanıda yol göstericidir. Gastrointestinal ve otoimmün göstergeleri olan hastalarda altta yatan bir immün yetmezlik açısından değerlendirilmelidir. YDİY tanısı olan hastaların yaklaşık %10'unda monogenik eksiklikler tanımlanabilmiştir. Ancak genetik tanı bu hastaların erken tanı ve tedavisi açısından büyük önem taşımaktadır. Hastaların klinik bulgularına göre saptanan aday genlerde klasik yöntemlerle dizileme yapılması en temel yaklaşımdır. Klasik Sanger dizileme çalışması dahil olmak üzere, DNA dizi analizi, genetik haritalama, yeni nesil dizileme yaklaşımları tanıda kullanılan testler arasındadır.

## 2.5. YDİY Tedavi

YDİY'nin etkin tedavisi, hem enfeksiyöz hem de nonenfeksiyöz komplikasyonların uygun bir şekilde tedavi edilmesine bağlıdır. IgG replasmanı genellikle enfeksiyonun önlenmesinde etkili olmakla birlikte, bronşektazisi olan hastalarda pulmoner fizyoterapi de uygulanabilir. Antibiyotik profilaksisi, persistan enfeksiyonu olan hastalarda sıklıkla kullanılır; ancak, bu uygulama tartışmalıdır. Hem antifungal hem de antiviral profilaksi genellikle gerekli değildir ve tekrarlayan fungal veya ciddi viral enfeksiyonları olan hastalar, kombine bir immün yetmezlik açısından değerlendirilmelidir. Enfeksiyöz olmayan komplikasyonların tedavisi, spesifik olarak komplikasyona özel tedavi ve yönetim yaklaşımları gerektirir. İmmünosüpresifler ve hatta sitotoksik terapileri içerebilir. Organ transplantasyonu ile ilgili sınırlı bir deneyim mevcut olmakla birlikte, kemik iliği transplantasyonu retrospektif olarak az sayıda hastada bildirilmiştir (106).

## 2.6. YDİY Hastalarının Sınıflandırılması

Yaygın değişken immün yetmezlik, klinik ve immünolojik özellikleri açısından çeşitlilik gösteren heterojen bir primer antikor eksikliği grubu olduğu için,

hastalar için uygun bir sınıflandırma gereklidir . Son yıllarda, B hücre popülasyonunun fenotiplendirilmesine dayanarak hastalığı sınıflandırmaya yönelik girişimler olmuştur.

2002 yılında, Warnatz ve arkadaşları tarafından Freiburg Sınıflaması önerilmiştir. YDIY hastalarını, izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre (CD19<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup> IgM<sup>-</sup> IgD<sup>-</sup>) popülasyonuna dayanan iki ana gruba (grup I ve grup II) ve CD21'i düşük seviyede ifade eden B hücre (CD19<sup>+</sup> CD21<sup>low</sup> CD38<sup>low</sup> IgM<sup>+</sup>) sayılarına dayanan iki alt gruba (Ia ve Ib) sınıflandırmışlardır (Tablo 2.3.) (2).

**Tablo 2.3.** Freiburg sınıflandırması (2).

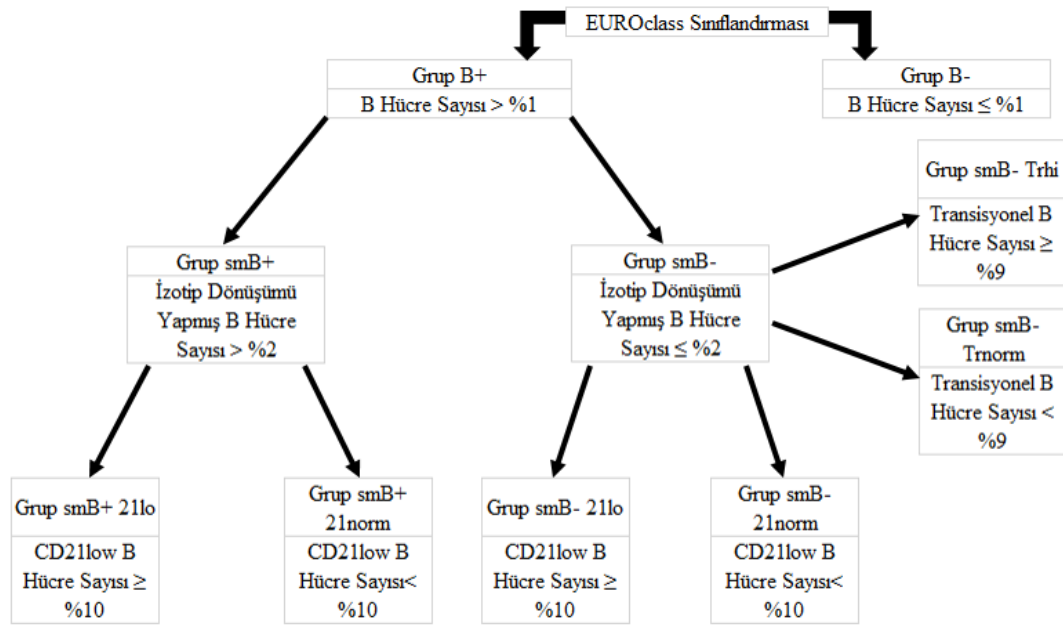
Freiburg Sınıflandırması	
Grup I:	İzotip Dönüşümü Yapmış B Hücre Sayısı < %0,4
Grup Ia:	CD21low B Hücre Sayısı > %20
Grup Ib:	CD21low B Hücre Sayısı < %20
Grup II:	İzotip Dönüşümü Yapmış B Hücre Sayısı Normal

Paris Sınıflandırması, YDIY hastalarını sadece hafıza B hücre (CD19<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup>) popülasyonlarına dayanarak üç gruba (MB0, MB1 ve MB2) kategorize etmek üzere önerilmiştir (Tablo 2.4.). Paris Sınıflandırmasına göre, MB0 ve MB1 grupları olarak kategorize edilen hastalarda MB2 grubundan daha fazla otoimmünite komplikasyonları gelişirken, MB0 grubundaki hastalarda artmış granümatöz hastalık ve splenomegali görülmüştür (3).

**Tablo 2.4.** Paris sınıflandırması (3).

Paris Sınıflandırması	
MB0:	CD27+ B Hücre Sayısı < %11
MB1:	CD27+ B Hücre Sayısı > %11
	İzotip Dönüşümü Yapmış B Hücre Sayısı < %8
MB2:	MB0 ve/veya MB1'e Dahil Olmayanlar

Wehr ve arkadaşları Freiburg ve Paris Sınıflandırmalarını birleştiren EUROclass isimli daha kapsamlı bir sınıflandırma (EUROclass) oluşturmuştur. EUROclass Sınıflandırmasına göre, izotip dönüşümü yapmış hafıza B ( $CD19^+ CD27^+ IgM^- IgD^-$ ) ve  $CD21$ 'i düşük seviyede ifade eden B hücrelerin ( $CD19^+ CD21^{low} CD38^{low} IgM^+$ ) yanı sıra, YDİY hastaları transisyonel B hücre ( $CD19^+ CD21^{int} CD38^{++} IgM^{++}$ ) popülasyonlarına göre alt gruplara ayrılmıştır (Şekil 2.16.). Bu sınıflandırma, hastaların çeşitli B-hücresi alt grupları ile splenomegali, granümatöz hastalık ve otoimmünite arasında bağlantı oluşturmaktadır (4).

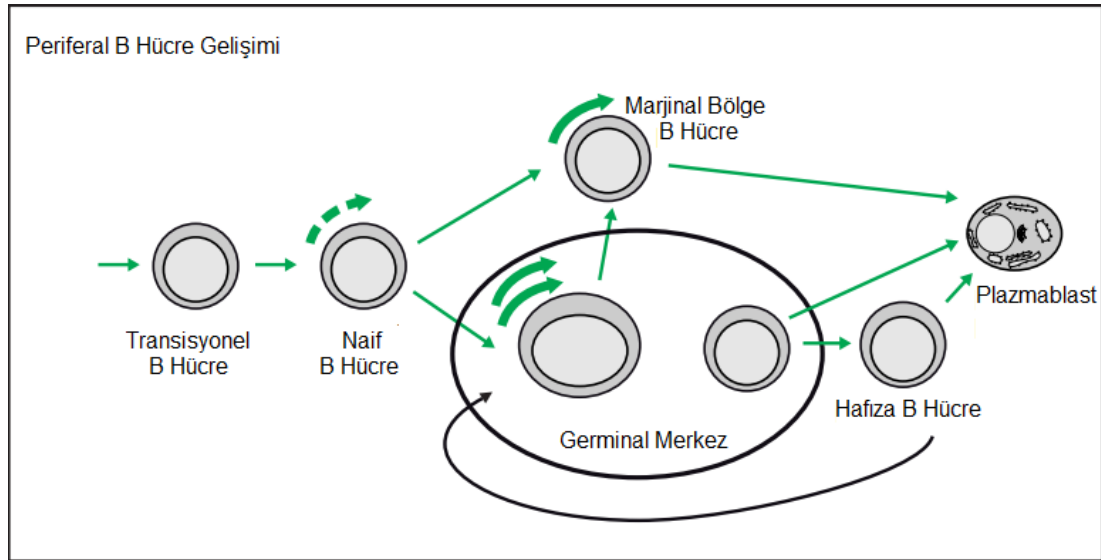


Şekil 2.16. EUROclass sınıflandırması (4).

Yakın zamanda, Driessen ve arkadaşları tarafından B hücresi alt grup anormalliklerine dayalı bir sınıflandırma önerilmiştir. B Hücre Paternleri (Rotterdam) sınıflandırmasına göre YDİY hastaları, B hücre olgunlaşma arrestine dayanarak beş farklı grup (Patern 1-5) şekilde sınıflandırılmıştır (Tablo2.5.) (Şekil 2.17.) (5).

**Tablo 2.5.** B hücre paternleri sınıflandırması (5).

B Hücre Paternleri Sınıflandırması	
Patern 1	Düşük Transisyonel B Hücre Sayısı + Düşük Hafıza B Hücre Sayısı
Patern 2	Düşük Naive Olgun B Hücre Sayısı, Düşük Marjinal Bölge B Hücre Sayısı, Düşük Hafıza B Hücre Sayısı
Patern 3	Düşük Marjinal Bölge B Hücre Sayısı ve Düşük Hafıza B Hücre Sayısı
Patern 4	Düşük İzotip Dönüşümü Yapmış Hafıza B Hücre Sayısı
Patern 5	Normal Marjinal Bölge ve Hafıza B Hücre Sayısı

**Şekil 2.17.** Periferal B hücre gelişimi (5).

## 2.7. YDİY Genetik Özellikleri

Yaygın Değişken İmmün Yetmezliğin klinik olarak heterojen olması, hem hastalığın tanısını hemde altta yatan genetik kusurunun saptanmasını zorlaştırmaktadır (136). YDİY vakalarının çoğunluğu sporadik olarak ortaya çıkar (137). Hastaların yaklaşık %5-25'inde aile öyküsü vardır ve bunların bir kısmı otozomal dominant(OD) kalıtım sergiler (137). YDİY hastalarının %2-10'unda monogenik bir neden tespit edilmiştir (137,138). İlk YDİY hastalık genleri, aday gen yaklaşımı ile tek geni ortadan kaldırılan (*KO*) fareler kullanılarak gösterilmiştir (139–142). Yeni nesil dizileme

teknolojileri ile otozomal resesif (OR) ve otozomal dominant (OD) katılan YDİY ilişkili genlerin keşfedilmesi hız kazanmıştır (143). Ayrıca, klinik YDİY tanısının bir çok genetik alt tipi kapsayan şemsiye bir tanı olduğu netlik kazanmıştır (143). Dahası, nadir monogenik formlarının dışında, YDİY'nin Mendelyan bir hastalıktan daha karmaşık kalıtmımlı bir hastalık olduğu ileri sürülmüştür (137,138,144). YDİY'nin intrinsik B-hücre defektlerinden kaynaklanabileceği, aynı zamanda T-hücresi kostimülasyonunun olmamasından da kaynaklanabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle patolojik arka planı çeşitlidir (30).

Tablo 2.6'da YDİY'ye neden olan monogenik eksiklik genleri, bu genlerin nasıl kalıtıldığı, fonksiyonları, eksikliklerdeki klinik özellikler ve immünoglobülin seviyeleri gösterilmektedir.



**Tablo 2.6.** YDİY ile ilişkili genler.

Gen	Protein Etkisi	Kalıtımı	Başlangıç Yaşı	Fonksiyonu	Ig Seviyeleri	Klinik Özellikleri
PIK3CD (145)	Fonksiyon Kazanımı	OD	Yenidoğan Erken çocukluk	PIK3CD geni, fosfatidilinositol 3-kinaz enziminin alt birimi olan p110 delta proteini kodlar. P110 delta alt birimini içeren PI3K- $\delta$ fosforilasyon ile diğer proteinlere bir dizi oksijen ve bir fosfat grubu ekler. Lenfositlerde PI3K-delta sinyali, hücre büyümesi, bölünmesi ve farklılaşması gibi birçok hücrenel aktivite için önemlidir.	İzotiplerin hepsinde azalma	SYE, GİS enfeksiyonu, bakteriyel cilt enfeksiyonları, derin abseler, siğiller, malignite, bronşiektazi, CMV/EBV viremisi, gelişme geriliği, otoimmünite (OI), lenfoproliferasyon, splenomegali, hepatomegali,
PIK3R1 (146)	Fonksiyon Kaybı	OD	Yenidoğan Çocukluk	PIK3R1 geni, PI3K enziminin en bol bulunan p85 $\alpha$ alt birimini kodlar. P85 $\alpha$ alt biriminin birincil işlevi, enzimin aktivitesini düzenlemektir. PI3K enzimi lenfosit proliferasyonu, farklılaşması ve fonksiyonunda önemli role sahiptir.	İzotiplerin hepsinde azalma	Benign lenfoid hiperplazi (BLH), SYE, GİS enfeksiyonu, OI, malignite, splenomegali, bakteriyel konjunktivit, CMV/EBV viremisi, gelişme geriliği, bronşiektazi, hepatomegali.
PTEN (146)	Fonksiyon Kaybı	OD	Çocukluk çağı Erişkin	PTEN geni, vücuttaki hemen hemen tüm dokularda bulunan PTEN enzimini kodlar. PTEN enzimi, protein ve lipidlerin fosfat gruplarını uzaklaştıran bir fosfatazdır ve tümör baskılayıcı olarak görev yapar. PI3K sinyalinin inhibisyonunda görevlidir. Ayrıca hücre göçü, adezyonu ve anjiyogeneze yardımcı olur.	İzotiplerin hepsinde azalma	Cowden sendromu, makrosefali, gelişme geriliği, otizm, malignite

**Tablo 2.6. (Devamı) YDİY ile ilişkili genler.**

Gen	Protein Etkisi	Kalıtımı	Başlangıç Yaşı	Fonksiyonu	Ig Seviyeleri	Klinik Özellikleri
CD19 (147,148)	Fonksiyon Kaybı (veya düşük seviyede ifade)	OR	Yenidoğan  Erken çocukluk	CD19, plazma hücreleri hariç tüm B hücre soyunda ve FDH'lerde ifade edilir. Sitoplazmik sinyal proteinlerini zara ulaşmasında bir adaptör protein olarak görev yapar, CD19/CD21 kompleksinin bir parçasıdır. B lenfosit gelişimi için bir biyobelirteçtir.	Düşük IgG ve IgA ve/veya IgM	SYE, GİS enfeksiyonları, bakteriyel konjunktivit, bakteriyel cilt enfeksiyonları, bronşektazi, hematüri, glomerülonefrit, IgA nefropati
CD81 (1)	Fonksiyon Kaybı	OR	Yenidoğan	CD81 proteini; hücre gelişimi, aktivasyonu, büyümesi ve hareketliliğinin düzenlenmesinde rol oynayan sinyal iletimine aracılık eder. İntegrinlerle kompleks oluşturan bir hücre yüzeyi glikoproteinidir.	Düşük IgG, düşük veya normal IgA ve IgM	SYE, otoimmün trombositopeni, glomerülonefrit, tanımlanmamış sistemik inflamatuvar sendrom
CD20 (MS4A1) (149)	Fonksiyon Kaybı	OR	Yenidoğan	MS4A1 geni tarafından kodlanan CD20, B hücrelerinin plazma hücrelerine gelişmesi ve farklılaşmasında rol oynayan bir membrana gömülü yüzey molekülüdür.	Düşük IgG, normal veya yüksek IgM ve IgA	Solunum yolu enfeksiyonu
GCS1 (MOGS) (11)	Fonksiyon Kaybı	OR	Yenidoğan	MOGS geni N-bağlı oligosakkarit işleme yolağının ilk enzim olan GCS1'i kodlar. GCS1 proteini, endoplazmik retikulumun lümeninde bulunur. Bu gendeki defektler, konjenital glikozilasyon bozukluğu tip IIb'ye sebep olur.	Ağır hipogamaglobulinemi	Bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, ağır nörolojik hastalık

**Tablo 2.6. (Devamı) YDİY ile ilişkili genler.**

Gen	Protein Etkisi	Kalıtımı	Başlangıç Yaşı	Fonksiyonu	Ig Seviyeleri	Klinik Özellikleri
TACI (TNFRSF13B) (150,151)	Fonksiyon Kaybı (genellikle)	OR veya OD	Erken çocukluk Erişkin	TNFRSF13B geni tarafından kodlanan TACI proteini B hücre yüzeyinde bulunur. Diğer proteinler ile etkileşerek hücre sinyalini artırır, B hücrenin sağ kalımı ve olgunlaşmasında ve antikor üretiminde rol oynar.	Düşük IgG ve IgA ve/veya IgM	SYE, GİS enfeksiyonları, bronşektazi, Oİ, BLH, splenomegali, granülomlar, malignite.
BAFF-R (TNFRSF13C) (152)	Fonksiyon Kazanımı veya Kaybı	OR	Yenidoğan Erişkin	TNFRSF13C geni tarafından kodlanan BAFF-R transmembran bir proteindir ve BAFF için reseptördür. BAFF-R, BAFF aracılık ettiği olgun B hücre sağkalımı için gerekli ana reseptördür.	Düşük IgG ve IgM	SYE, GİS enfeksiyonları, kolanjit, sakroilit, bronşektazi, Oİ, BLH, splenomegali, granülomlar, kronik diyare, gelişme geriliği
TWEAK (TNFSF12) (153)	Fonksiyon Kaybı	OD	Yenidoğan	TNFSF12 geni tarafından kodlanan TWEAK, tümör nekroz faktör (TNF) ligandı ailesine ait bir sitokindir. Hem membran-bağlı hem de salgılanan formda bulunabilir. Hücre tipine özgül bir şekilde apoptozu indükleyebilir. Endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu destekler.	Düşük IgM ve düşük IgA	SYE, pnömokokal menenjit, osteomyelit, otoimmün trombositopeni ve nötropeni, sigiller
CD21 (CR2) (154,155)	Fonksiyon Kaybı	OR	Erken çocukluk Çocukluk	Kompeleman reseptörü 2 (CR2), normal humoral immün yanıt ve otoimmünitenin gelişmesinde kritik rol oynayan komplemen aktivasyonu ailesinin düzenleyicilerinden biridir.	Düşük IgG	SYE, kilo kaybı ile kronik ishal, splenomegali, miyalji, rijidite

**Tablo 2.6. (Devamı) YDİY ile ilişkili genler.**

Gen	Protein Etkisi	Kalıtımı	Başlangıç Yaşı	Fonksiyonu	Ig Seviyeleri	Klinik Özellikleri
TRNT1 (156)	Fonksiyon Kaybı	OR	Çocukluk çağı	TRNT1 geni tarafından kodlanan protein, tRNA nükleotidiltransferaz/poli(A) polimeraz ailesine ait bir enzimdir. Bu enzim, korunmuş CCA triplet nükleotidinin tRNA moleküllerinin 3' terminusuna eklenmesini katalizler.	Hipogamaglobülinemi	Konjenital sideroblastik anemi, sağrlık, gelişimsel gecikme, periyodik ateş
TTC37 (157)	Fonksiyon Kaybı	OR	Çocukluk çağı	TTC37 geninin kodladığı protein, sitozolik eksozomların fonksiyonu için gerekli olan bir kompleksin parçasıdır. Eksozomların aşırı ve anormal mRNA'dan kurtulmadaki rolünün hücre büyümesi için önemli olduğunu düşünülmektedir.	Pnömonokok aşısına düşük antikor yanıtı	Tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, anormal saç bulguları: <i>Trichorrhexis nodosa</i>
NFκB1 (158)	Fonksiyon Kaybı	OD	Erken çocukluk Erişkin	NFκB; hemen hemen tüm hücre tiplerinde bulunan pleiotropik bir transkripsiyon faktörüdür. İnflamasyon, immünite, farklılaşma, hücre büyümesi, tümör oluşumu ve apoptoz gibi birçok biyolojik süreçle ilişkili uyarıcılar tarafından başlatılan bir dizi sinyal iletim olayının son noktasıdır. NFκB1 geni tarafından kodlanan protein proteazom aktivitesinin ardından; NFκB protein kompleksinin DNA bağlayan alt birimini ve rel proteinine özgü bir transkripsiyon inhibitörünü oluşturur.	Düşük veya normal IgG, düşük veya normal IgA, düşük veya normal IgM	SYE, GİS enfeksiyonları, Oİ, sinopulmoner enfeksiyonlar, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, piyoderma gangrenozum, bronşektazi, alopesi ve otoimmün tiroidit, BLH, splenomegali, hepatomegali, malignite.

**Tablo 2.6. (Devamı) YDİY ile ilişkili genler.**

Gen	Protein Etkisi	Kalıtımı	Başlangıç Yaşı	Fonksiyonu	Ig Seviyeleri	Klinik Özellikleri
NFκB2 (159)	Fonksiyon Kaybı	OD	Yenidoğan Çocukluk	NFκB2 geni NFκB kompleksinin bir alt birimini kodlar. Kodlanan protein, NFκB'nin dimer halinde olduğu yapıya bağlı olarak hem bir transkripsiyonel aktivatör hem de baskılayıcı işlevi görebilir.	Düşük IgG, IgA ve IgM	GİS enfeksiyonları, SYE, alopesi, onikomikoz, bronşektazi, hipofiz hormonu eksiklikleri, endokrinopati, <i>Herpes simpleks</i> enfeksiyonları,
IKAROS (IKZF1) (160)	Fonksiyon Kaybı	OD	Erken çocukluk Geç erişkin	IKZF1 geni, kromatin yeniden şekillenmesi ile ilişkili çinko-parmak DNA-bağlayıcı proteinler ailesine ait bir transkripsiyon faktörünü kodlar. Lenfosit farklılaşmasında görevlidir.	Düşük IgG, IgA, IgM	SYE, <i>S. pneumoniae</i> enfeksiyonları, GİS enfeksiyonları, bakteriyel cilt enfeksiyonları, aftöz ülserler, Oİ, malignite.
IRF2BP2 (161)	Fonksiyon Kazanımı	OD	Çocukluk çağı	IRF2BP2 geni, IRF2'nin transkripsiyonel baskılama bölgesi ile etkileşime giren bir protein kodlar. IRF2, interferon α ve β'nın IRF1 aracılı transkripsiyonel aktivasyonunu inhibe eder.	Hipogamaglobülinemi, IgA eksikliği	Tekrarlayan enfeksiyonlar, otoimmün ve inflamatuvar hastalıklar
ATP6AP1 (162)	Fonksiyon Kaybı	X geçişli	Çocukluk çağı	ATP6AP1 geni, organellerin asidifikasyonuna aracılık eden Vakuolar ATPaz enziminin S1 alt birimini kodlar. V-ATPaz bağımlı organel asidifikasyonu, zimojen aktivasyonu ve reseptör aracılı endositoz için gereklidir.	Hipogamaglobülinemi	Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar, hepatopati, lökopeni, düşük bakır seviyesi, hepatosplenomegali

**Tablo 2.6. (Devamı) YDİY ile ilişkili genler.**

Gen	Protein Etkisi	Kalıtımı	Başlangıç Yaşı	Fonksiyonu	Ig Seviyeleri	Klinik Özellikleri
ICOS (143,163)	Fonksiyon Kaybı	OR	Yenidoğan Erişkin	ICOS geni tarafından kodlanan protein, CD28 ve CTLA-4 hücre yüzey reseptörü ailesine aittir. T hücre yanıtı, lenfokin salgılanması, T ve B hücre arasındaki etkileşim, Td antijenlere karşı antikor yanıtları için gereklidir. CD40 aracılı Ig izotip dönüşümünde önemlidir.	Düşük IgG veya normal IgM veya normal IgA	SYE, GİS enfeksiyonları, Oİ, fırsatçı enfeksiyonlar, BLH, bakteriyel cilt enfeksiyonları, lokalize <i>H. simplex</i> enfeksiyonları, bronşektazi, splenomegali, hepatomegali, granülomlar, malignite.
CD27 (TNFRSF7) (153)	Fonksiyon Kaybı (veya düşük seviyede ifade)	OR	Yenidoğan Çocukluk	TNFRSF7 geninin kodladığı CD27 proteini, TNF-reseptör süper ailesinin bir üyesidir. T hücre immünitesi ve idamesi için gereklidir. Ligandı CD70'e bağlanarak B hücre aktivasyonu ve Ig üretimini düzenlemede önemli bir rol oynar.	Düşük veya normal veya yüksek IgG veya normal IgM veya normal IgA	SYE, bronşektazi, bakteriyel cilt enfeksiyonları, giardiazis, fulminan bakteriyel sepsis, kronik EBV viremisi, ciddi/atipik EBV ilişkili enfeksiyonlar, BLH, splenomegali, hepatomegali
IL21 (164,165)	Fonksiyon Kaybı	OR	Yenidoğan	İnterlökin-21 (IL-21), esas olarak CD4 <sup>+</sup> T hücreler ve foliküler T hücreler tarafından üretilir. Plazma ve hafıza B hücrelerinin farklılaşmasında önemlidir.	Düşük IgG, normal IgM, normal IgA, yüksek IgE	SYE, erken başlangıçlı İBH, gelişim geriliği, tekrarlayan oral aftöz ülserler.
IL21R (153)	Fonksiyon Kaybı (veya düşük seviyede ifade)	OR	Yenidoğan Erken çocukluk	IL-21R tip I sitokin reseptörlerindedir. IL-2, 4, 7, 9 ve 15'in reseptörleri tarafından paylaşılan ortak $\gamma$ zinciri ile heterodimerik reseptör kompleksi oluşturur. IL-21'in büyümeyi teşvik eden sinyalini iletir. T, B ve NK hücrelerin çoğalması ve farklılaşması için kritiktir.	Düşük veya normal IgG, IgA; normal veya yüksek IgM; normal veya yüksek IgE	SYE, GİS enfeksiyonları, fırsatçı enfeksiyonlar, akciğer tüberkülozu, bronşektazi, BLH, hepatosplenomegali, diskoid lupus/kronik inflamatuvar cilt hastalığı

**Tablo 2.6. (Devamı) YDİY ile ilişkili genler.**

Gen	Protein Etkisi	Kalıtımı	Başlangıç Yaşı	Fonksiyonu	Ig Seviyeleri	Klinik Özellikleri
CTLA4 (166,167)	Fonksiyon Kaybı	OR	Yenidoğan Erişkin	CTLA-4 geninin kodladığı protein T lenfosit yüzeyinde ifade edilen bir CD28 homologudur. T hücre yanıtının negatif düzenleyicisidir. Kostimülatör CD80/CD86 moleküllerinin CD8 T hücreler üzerindeki CTLA-4'e bağlanması, T hücre inhibisyonu ile sonuçlanır.	Düşük veya normal IgG, düşük veya normal IgM, düşük veya normal IgA	SYE, GİS enfeksiyonları, Oİ, BLH, lenfositik infiltrasyon, GLILD, bronşektazi, splenomegali, hepatomegali, malignite, gelişme geriliği, EBV ilişkili lenfoproliferasyon, fırsatçı enfeksiyonlar, siğiller, alerjik dermatit, granülomlar
LRBA (168,169)	Fonksiyon Kaybı	OR	Yenidoğan Çocukluk	LRBA geninin kodladığı protein endoplazmik retikulum, golgi aygıtı, endositik vezikül ve lizozomlarda yerleşik proteindir. İmmün efektör moleküllerin polarize sekresyonu ve/veya membran depozisyonunu sağlamak için sinyal transdüksiyonu ile vezikül trafiğinin düzenlenmesinde rol oynar. İnhibitör protein CTLA4'ün hücre yüzeyinde ifade edilmesinde rol oynar.	Düşük veya normal veya yüksek IgG, düşük veya normal IgM, normal veya yüksek IgA	Şiddetli Oİ, BLH, lenfositik infiltrasyon, GLILD, granülomlar, kronik akciğer hastalığı, lenfoproliferasyon, bronşektazi, splenomegali, hepatomegali, malignite, büyüme geriliği, SYE, GİS enfeksiyonları, bakteriyel cilt enfeksiyonları, derin abseler, siğiller, alerji, ürtiker
PRKCD (153)	Fonksiyon Kaybı	OR	Yenidoğan Erken çocukluk	PRKCD geni tarafından kodlanan protein, protein kinaz C ailesinin bir üyesidir. DNA hasarıyla indüklenen apoptoz sırasında pro-apoptotik, sitokin reseptörü ile başlatılan apoptoz sırasında anti-apoptotiktir. B hücre proliferasyonunun negatif düzenleyicisidir.	Düşük veya normal IgG, normal veya yüksek IgM, normal veya yüksek IgA	SLE benzeri Oİ, EBV/CMV ilişkili lenfoproliferasyon, BLH, splenomegali, hepatomegali, SYE, GİS enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, gelişim geriliği

**Tablo 2.6. (Devamı) YDİY ile ilişkili genler.**

Gen	Protein Etkisi	Kalıtmı	Başlangıç Yaşı	Fonksiyonu	Ig Seviyeleri	Klinik Özellikleri
PLCG2 (153)	Fonksiyon Kazanımı	OD	Yenidoğan Çocukluk	PLCG2 geni tarafından kodlanan protein; 1-fosfatidil-1D-miyoinositol 4,5-bisfosfatın 1D-miyoinositol 1,4,5-trisfosfat (IP3) ve diasilgliserole (DAG) dönüşümünü katalizler. IP3 ve DAG, hücre membranında büyüme faktörü ve immün sistem reseptörlerinden sinyal iletilmesi için önemlidir.	Düşük veya normal IgG, düşük veya normal IgM, düşük veya normal IgA, normal veya yüksek IgA	Soğuk ürtiker, atopi, cilt lezyonları, SYE, <i>Varicella zoster</i> enfeksiyonları, bakteriyel cilt enfeksiyonları, Oİ.
RAC2 (170)	Fonksiyon Kaybı	OR	Yenidoğan Çocukluk	RAC2 geni, guanozin trifosfat (GTP) metabolize edici proteinlerin Ras süper ailesinin bir üyesini kodlar. Kodlanan protein sekresyon, fagositoz ve hücre polarizasyonu gibi süreçlerin düzenleyicisidir. Ayrıca reaktif oksijen türlerinin oluşumunda da rol oynamaktadır.	Düşük IgG, düşük IgM ve düşük IgA	SYE, gelişim geriliği, bronşektazi, artralji, otoimmün endokrinopati, BLH, glomerülonefrit, besin alerjisi, koagülopati
BLK (171)	Fonksiyon Kaybı	OD	Yenidoğan	BLK geni, tipik olarak hücre çoğalması ve farklılaşmasıyla ilgili bir non-reseptör tirozin kinazı kodlar. B hücre reseptör sinyali, B hücre gelişimi ve farklılaşmasında rol oynar.	Düşük IgG, düşük veya normal IgA, düşük veya normal IgM	SYE, bakteriyel deri enfeksiyonlar
VAV1 (172)	Fonksiyon Kaybı	OD	Erişkin	VAV1, VAV gen ailesinin bir üyesidir. VAV proteinleri, aktin hücre iskeleti elemanlarının yeniden düzenlenmesi ve transkripsiyon değişikliklerine yol açan yolları aktive eden GTPazlar için guanin nükleotid değişim faktörleridir. VAV1 proteini hematopoezde önemlidir, T ve B hücre gelişiminde rol oynar.	Düşük IgG, IgM/IgA eksikliği	SYE, GİS enfeksiyonları, genitoüriner enfeksiyonlar, bronşektazi



### 3. BİREYLER VE YÖNTEM

#### 3.1. Bireyler

Yaygın değişken immün yetmezlik tanısı almış 30 hasta ve 41 sağlıklı birey aydınlatılmış onamları alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı İmmünoloji Bilim Dalı'nda YDİY tanısı almıştır. Sağlıklı kontroller ve hasta bireyler aynı yaş grubunda olup Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin farklı bölümlerine başvuran ve immün yetmezliği olmayan bireyler arasından seçilmiştir.

#### 3.2. Yöntem

Hasta ve kontrollerden alınan kan örneklerinden; B hücre alt grup yüzdeleri ve sayıları uygun antikorlarla işaretlenerek akım sitometri yöntemiyle ölçülmüştür periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA örneklerinden gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (*real time quantitative polymerase chain reaction/RT-qPCR*) ile KREC sayıları ölçülmüştür. Akım sitometri analizi, DNA izolasyonu ve RT-qPCR Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı İmmünoloji Bölümü'nde yapılmıştır. Bakteri kültürü ve plazmit izolasyonu Bilgi Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'nde yapılmıştır. TREC-KREC-TRAC genlerini içeren plazmit Prof. Dr. Luisa Imberti tarafından Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesine gönderilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS 23.0 yazılımı kullanılmıştır.

##### 3.2.1. Akım Sitometri

Hastalar ve sağlıklı kontrollerden EDTA'lı tüplere 5 cc kan toplandı. 5 ml'lik polistren kapaksız tüplerin içine 1 ml kan ve 4 ml PBS (*phosphate buffered saline*) eklendi. Tüplerin ağzı parafilm ile kapatıldı. Dakikada 2000 devirde (*round per minure/RPM*) 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. 2 farklı 5 ml'lik polistren kapaksız tüp içine 100'er µL PBS ile yıkanmış kan pipetlendi. 1. tüpe; PerCP-işaretli anti-CD19, APC-işaretli anti-CD27, PE-işaretli anti-IgM ve FITC-işaretli anti-IgD monoklonal antikorlarından 10'ar µL, 2. tüpe; APC-işaretli anti-CD21, FITC-işaretli

anti-CD38, PerCP-işaretli anti-CD19 ve PE-işaretli anti-IgM monoklonal antikorlarından 10'ar  $\mu\text{L}$  pipetlendi. Vorteks ile kısa süre karıştırıldı ve 20-25 dakika oda ısısında karanlıkta bekletildi. Daha sonra her bir tüpe 1000  $\mu\text{L}$  BD-Lysing Solution eklendi. Vorteks ile kısa süre karıştırıldı ve 8-10 dakika oda ısısında karanlıkta bekletildi. Bütün tüpler 1300 RPM'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Bütün tüplere 1000  $\mu\text{L}$  PBS eklendi. Dakikada 1050 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Bütün tüplere 1000  $\mu\text{L}$  PBS eklendi. Vorteks ile kısa süre karıştırıldı. Applied Biosystems™ Attune™ Acoustic Focusing Cytometer cihazı ile değerlendirildi. Granülaritelere ve büyüklüklerine göre lenfoid hücreler seçildi. Seçilen hücrelerin arasından CD19<sup>+</sup> olanlar seçildi. Ardından CD27 ve IgD ifadelerine göre naif B hücreler R3 kapısından, marjinal bölge B hücreler R4 kapısından, izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücreler R5 kapısından seçildi. Ayrıca IgM ifadesine göre sadece IgM ifade eden hafıza B hücreler R6 kapısından seçildi. IgM ve CD38 ifadelerine göre R7 kapısından transisyonel B hücreler ve R8 kapısından plazmablastlar seçildi. Ayrıca CD21 ve CD38 ifadelerine göre düşük CD21 ifade eden hücreler seçildi. Seçilen hücrelerin yüzey belirteçleri aşağıdaki gibidir;

Naif B hücre; CD19<sup>+</sup> CD27<sup>-</sup> IgM<sup>+</sup> IgD<sup>+</sup>

Marjinal bölge B hücre; CD19<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup> IgM<sup>++</sup> IgD<sup>+</sup>

İzotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre; CD19<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup> IgM<sup>-</sup> IgD<sup>-</sup>

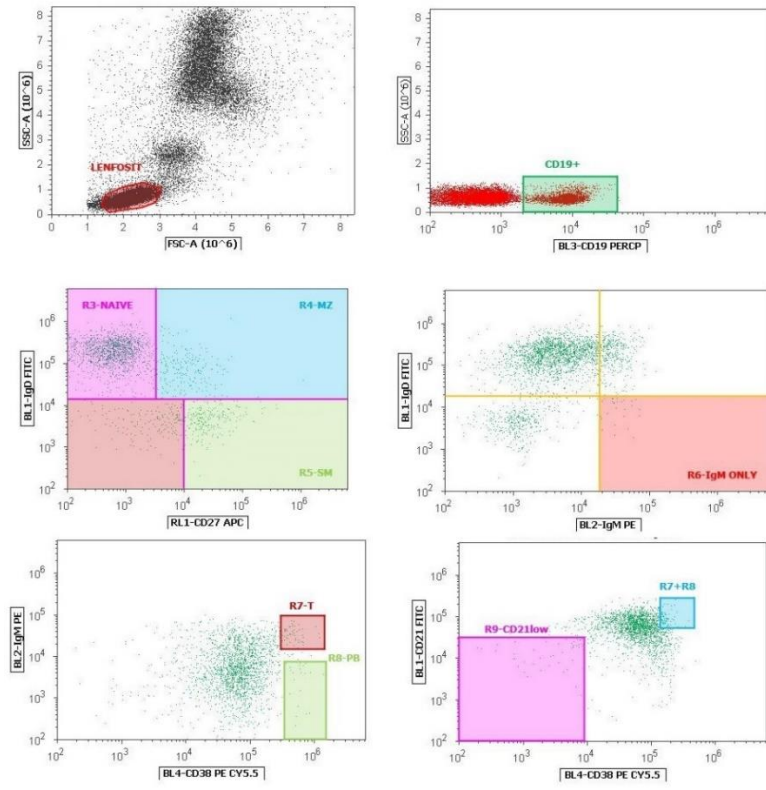
Sadece IgM ifade eden hafıza B hücre; CD19<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup> IgM<sup>++</sup> IgD<sup>-</sup>

Transisyonel B hücre; CD19<sup>+</sup> CD21<sup>int</sup> CD38<sup>++</sup> IgM<sup>++</sup>

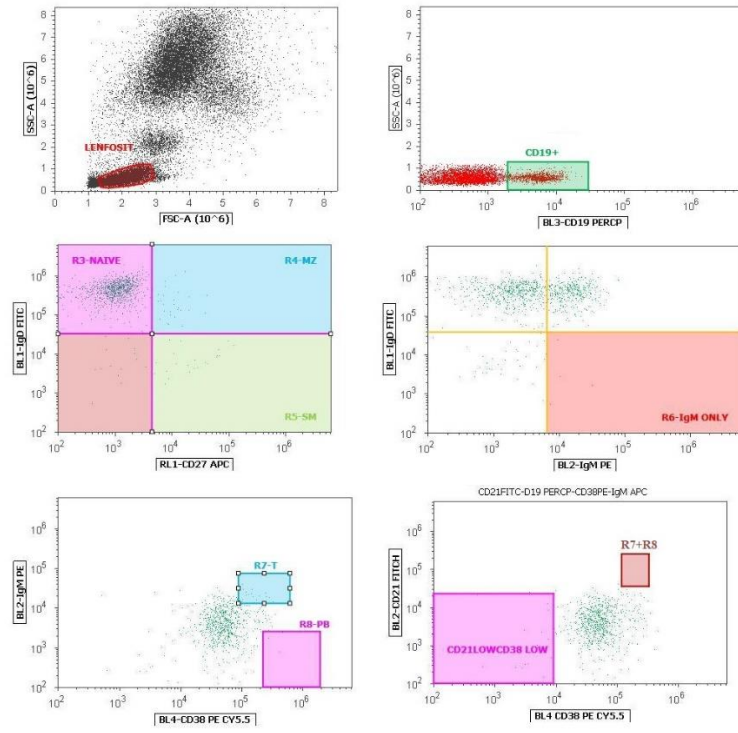
CD21'i düşük seviyede ifade eden B hücre; CD19<sup>+</sup> CD21<sup>low</sup> CD38<sup>low</sup> IgM<sup>+</sup>

Plazmablast; CD19<sup>low</sup> CD21<sup>int</sup> CD38<sup>+++</sup> IgM<sup>+(-)</sup>

Bir kontrol ve bir hastaya ait akım sitometri görüntüleri Şekil 3.1.'de ve Şekil 3.2.'de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Bir kontrole ait akım sitometri görüntüsü.



Şekil 3.2. Bir hastaya ait akım sitometri görüntüsü.

### 3.2.2. DNA İzolasyonu

EDTA'lı tüpler içinde bulunan hasta ve kontrollere ait kan örneklerinden, QIAGEN BioRobot EZ1 cihazında QIAGEN EZ1 DNA Blood 200µL Kit kullanılarak DNA izole edildi. Kite ait protokole göre 2 ml'lik örnek tüpleri içine 200 µL tam kan pipetlendi. Pipetlemeden önce kan örneklerinin yeniden süspansen olduğundan emin olunmadır. Biorobot EZ1 cihazı çalıştırılarak "Protocols" menüsünden uygun protokol seçilerek otomatik pürifikasyon işlemi yapıldı. Pürifiye genomik DNA'yı içeren elüsyon tüpleri, RT-qPCR çalışması yapılana kadar -20°C'de saklandı.

### 3.2.3. Bakteri Kültürü

Bakteri kültürü için Luria Bertani sıvı besi yeri hazırlanmıştır. 500 ml steril distile su üzerine 12,5 gr LB eklenerek hazırlandı ve otoklava konuldu.

12 ml'lik steril kültür tüplerine; 2000 µL LB besi yeri, 2 µL antibiyotik, 20 µL daha önce TREC-KREC-TRAC plazmitin transfekte edildiği *E. coli* eklendi. 37°C'de 1 gün inkübasyona bırakılarak kültürü yapıldı.

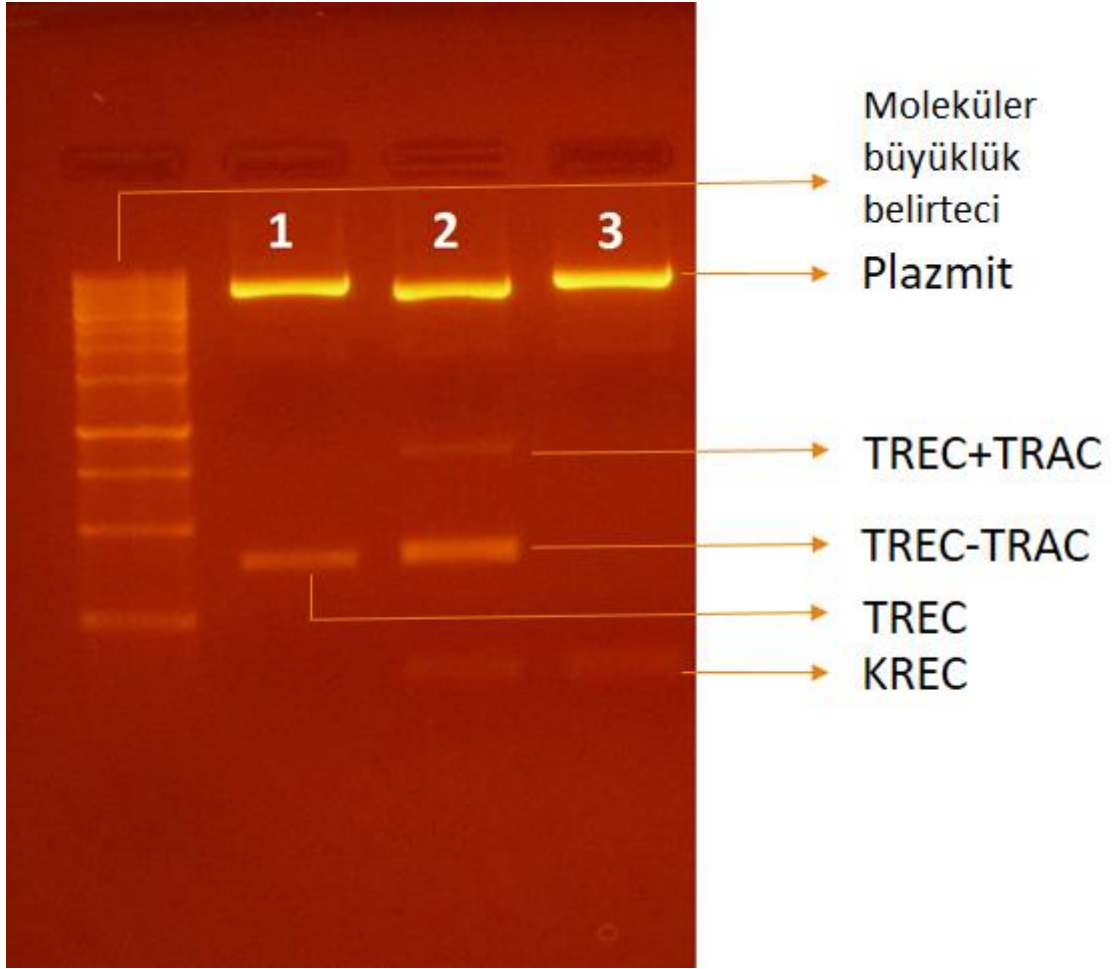
### 3.2.4. Plazmit İzolasyonu

Kültürü yapılan bakterilerden TREC-KREC-TRAC genlerini içeren plazmit GenElute™ Plasmid Miniprep Kit kullanılarak izole edildi. 2 ml'lik tüplere bakteri kültürünü içeren tüpten 1'er ml pipetlendi. 1 dakika maksimum hızda santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Peletlerin üzerine 200 µL Resuspension Solution pipetlendi. Homojen bir görüntü elde edilene kadar vorteks ile karıştırıldı. Ardından 200 µL Lysis Solution pipetlendi ve dikkatli bir şekilde tüpler 6-8 defa ters çevrilerek karışması sağlandı. 5 dakika oda ısısında bekletildi. Bakteriye ait genomik DNA ile kontaminasyonun engellenmesi için bu adımda vorteks yapılmaz. Bakteri hücrelerinin lizisinin ardından tüplere 350 µl Neutralization/Binding Solution pipetlendi. Tüpler 4-6 defa ters çevrilerek karışması sağlandı. 10 dakika maksimum hızda santrifüj edildi. GenElute Miniprep Binding Kolonları elüsyon tüpleri üzerine yerleştirildi ve kolonlara 500 µl Column Preparation Solution pipetlendi. 1 dakika maksimum hızda santrifüj edildi. Elüsyon tüpüne geçen sıvı atıldı. Bir önceki aşamada elde edilen lizatlar kolonlar üzerine pipetlendi. 1 dakika maksimum hızda santrifüj edildi. Elüsyon tüpüne

geçen sıvı atıldı. Kolonlara 750 µl Wash Solution pipetlendi. 1 dakika maksimum hızda santrifüj edildi. Elüsyon tüpüne geçen sıvı atıldı. Wash Solution içinde bulunan etanolün uzaklaştırılması amaçlanarak kolonlara herhangi bir solüsyon ekmeden 2 dakika maksimum hızda santrifüj edildi. Kolonlar yeni elüsyon tüpleri üzerine yerleştirildi ve 100 µl steril distile su pipetlendi. 1 dakika oda ısısında bekletildi. 1 dakika maksimum hızda santrifüj edildi. Kolonlar atıldı. Nanodrop Spektrofotometre ile izole edilen plazmitlerin konsantrasyonları ölçüldükten sonra elüsyon tüpleri -20°C'de saklandı.

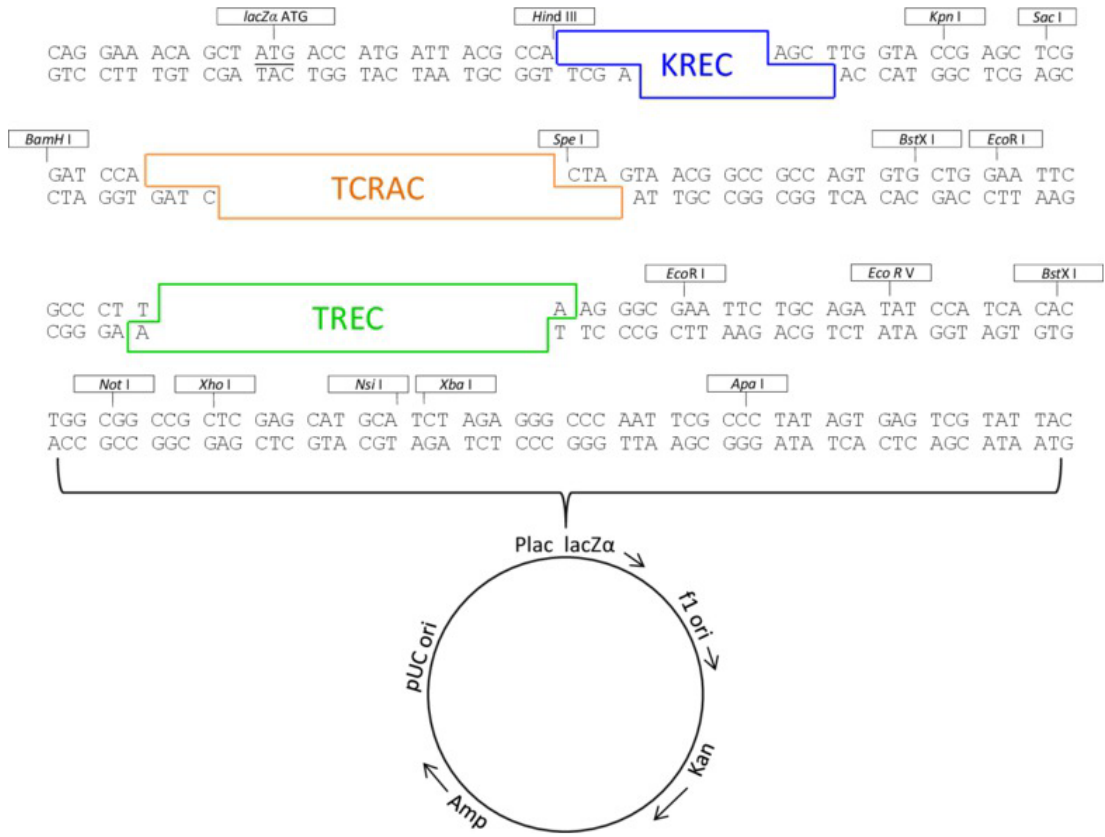
İzole edilen TREC-KREC-TRAC içeren plazmitin TREC, KREC ve TRAC dizilerini içerip içermediğini agaroz jelde görüntülemek için EcoRI ve HindIII restriksiyon enzimleri ile kesim yapıldı. 3 tane 0,2 ml'lik tüpe; 5µl plazmit DNA, 2 µl Buffer, 12,5 µl steril distile su pipetlendi. 1. tüpe yalnızca 0,5 µl EcoRI, 2. tüpe 0,5 µl EcoRI ve 0,5 µl HindIII, 3. tüpe yalnızca 0,5 µl HindIII pipetlendi. Tüpler hafifçe çevrildi. 1,5 saat 37°C'de inkübasyon yapıldı.

0,9 gram agaroz hassas tartı ile tartıldı ve erlene koyuldu. Ardından 80 ml Tris-acetate-EDTA (TAE) buffer eklendi. Hafifçe karıştırıldı ve mikrodalga fırında kaynatıldı. Ardından biraz soğuması beklendi ve 1 damla Etidyum bromür eklenerek karıştırıldı. Daha sonra elektroforez tepsinine döküldü ve 15 dakika polimerize olması beklendi. Restriksiyon enzimleri ile inkübe edilerek kesilen plazmit DNA, jel yükleme boyası ile boyanarak hazırlanan jele yüklendi. 90 voltta 30 dakika yürütüldü ve Kodak GL 1500 Gel Logic görüntüleme sistemi ile görüntülendi (Şekil 3.3.).



**Şekil 3.3.** Restriksiyon enzimleri ile kesimden sonra agaroz jel TREC-KREC-TRAC dizileri.

1. reaksiyon tüpünde yalnızca *EcorI* restriksiyon enzimi olduğu ve sadece *EcorI* bölgesinden kesim olduğu için yalnızca TREC sekansı görülmektedir. 2. reaksiyon tüpünde hem *EcorI* hem de *HindIII* restriksiyon enzimleri olduğu ve her iki bölgeden kesim olduğu için TREC ve TRAC sekansları birlikte, TREC ve TRAC sekansları ayrı ayrı (baz çifti sayıları birbirine benzer olduğu için üst üste çakışık halde) ve KREC sekansları görülmektedir. 3. reaksiyon tüpünde yalnızca *HindIII* restriksiyon enzimi olduğu ve sadece *HindIII* bölgesinden kesim olduğu için yalnızca KREC sekansı görülmektedir (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Plazmitteki kesim bölgeleri.

### 3.2.5. Gerçek Zamanlı Kantitatif Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Hastalar ve sağlıklı kontrollerde KREC ve TRAC sayısının ölçülmesi için Tablo 3.1’de gösterilen KREC ve TRAC gen bölgelerine özel primer ve Taqman prob dizileri kullanıldı.

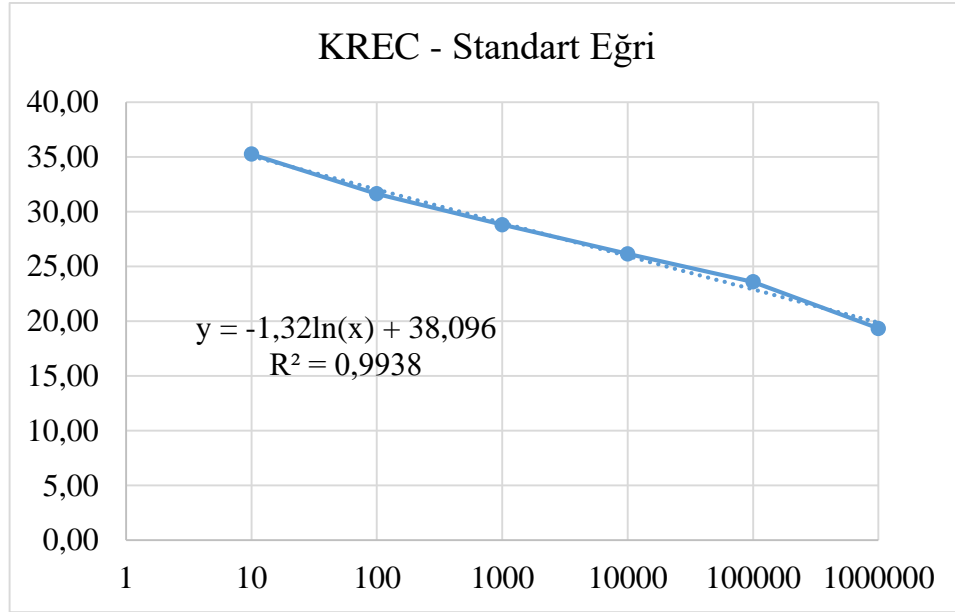
İzole edilen genomik DNA’ların konsantrasyonları NanoDrop spektrofotometre ile ölçüldü. DNA örnekleri 1 µL’de 10 ng olacak şekilde DNase içermeyen distile su ile seyreltildi. Her bir PCR reaksiyonu için; son hacim 20µL olacak şekilde 50 ng DNA, 1 µL forward primer, 1 µL reverse primer, 0,2 µL prob, 10 µL 2x TaqMan Universal PCR Master Mix ve 2,65 µL DNase ve RNase içermeyen distile su 0,1 ml’lik PCR tüplerine eklendi (Tablo 3.1.). Tüm pipetlemeler soğuk blok üzerinde yapıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu Corbett RotorGene 6000 cihazında gerçekleştirildi. T Hücre Reseptörü Alfa Sabit Geni(TRAC) *housekeeping* gen olarak

kullanılmıştır. KREC ve TRAC kopya sayıları, KREC ve TRAC'ın bir gen kopyasını kodlayan üçlü plazmitin seri dilüsyonlarının amplifikasyonu ile elde edilen benzersiz bir standart eğri kullanılarak hesaplanmıştır (Şekil 3.5). Seri dilüsyonlar  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$ ,  $10^2$  ve  $10^1$  plasmid kopyası içerecek şekilde yapılmıştır (Şekil 3.6). Tüm örnekler iki kuyucukta çalışılmıştır. RT-qPCR ile elde edilen CT değerlerinin ortalaması alınarak hesaplamalar yapılmıştır. RT-qPCR protokolü;  $50^\circ\text{C}$ 'de 2 dakika,  $95^\circ\text{C}$ 'de 10 dakika, 45 döngü boyunca  $95^\circ\text{C}$ 'de 15 saniye,  $60^\circ\text{C}$ 'de 1 dakika (primer/prob bağlanması ve uzaması için) şeklindedir.  $10^6$  periferel kan mononükleer hücre (PBMC) başına düşen KREC sayısı =  $(\text{KREC sayısı} \times 10^6) / (\text{TRAC sayısı}/2)$  formülü ile hesaplanmıştır. Bu formülde TRAC sayısı ikiye bölünmektedir çünkü her hücrede iki kopyası mevcuttur. Bu formül ile elde edilen değer ile 1 ml kanda bulunan lenfosit ve monosit sayılarının hesaplanmasının ardından KREC/ml sayısı hesaplanmıştır ( $\text{KREC/ml} = (10^6 \text{ PBMC başına düşen KREC sayısı}) \times (1 \text{ ml kanda bulunan lenfosit+monosit sayısı})/10^6$ ).

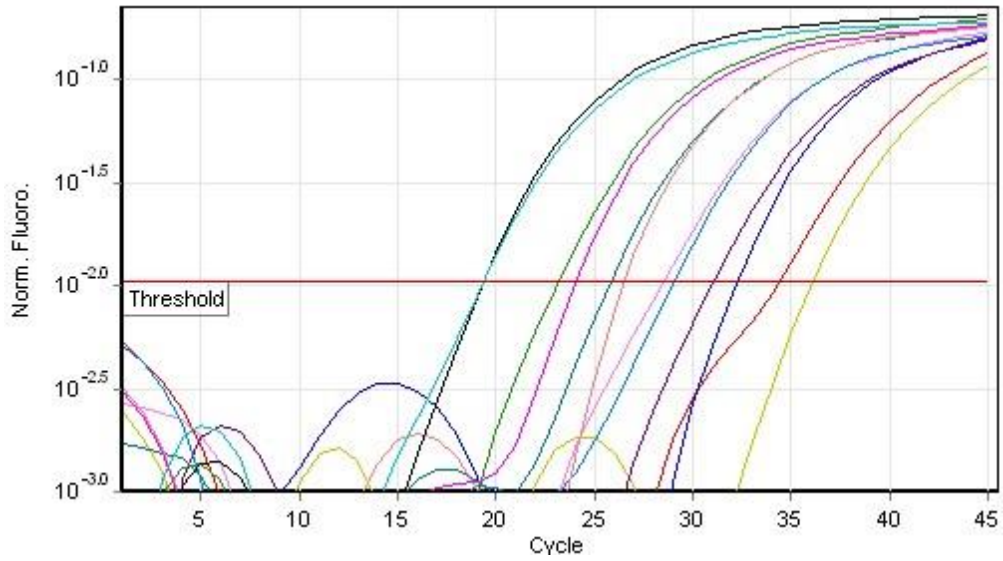
**Tablo 3.1.** RT-qPCR için kullanılan primer ve prob dizileri.

KREC Forward Primer	5'-TCCCTTAGTGGCATTATTTGTATCACT-3'
KREC Reverse Primer	5'-AGGAGCCAGCT TTACCCTAGAGT-3'
KREC Prob	5'-FAM-TCTGCACGGGCAGCAGGTTGG-TAMRA-3'
TRAC Forward Primer	5'-TGGCCTAACCCCTGATCCTCTT-3'
TRAC Reverse Primer	5'-GGATTTAGAGTCTCTCAGCTGGTACAC-3'
TRAC Prob	5'-FAM-TCCCACAGATATCCAGAACCCTGACCC-TAMRA-3'





**Şekil 3.5.** KREC için standart eğri.



### 3.2.6. İstatistiksel Analizler

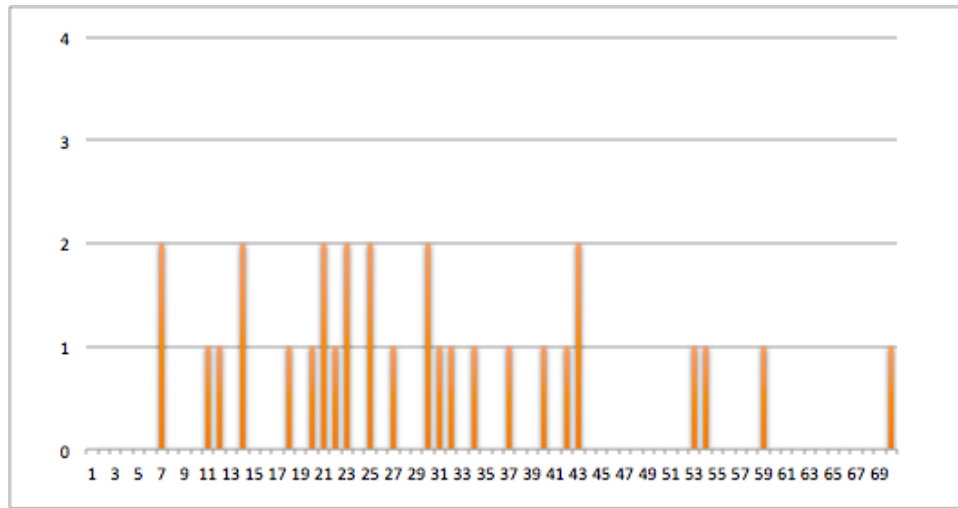
Veri Analizi: Her bir hasta için tanı ve son ölçülen immünooglobülin seviyeleri, CD3<sup>+</sup> T hücre, CD4<sup>+</sup> T hücre, CD8<sup>+</sup> T hücre ve CD16-56<sup>+</sup> NK hücre sayıları, takip edildikleri süre boyunca ölçülen minimum lenfosit sayıları, toplam B hücre sayıları (CD19<sup>+</sup>), B hücre alt gruplarının sayıları, KREC sayıları; Freiburg, Paris EUROclass

ve B Hücre Paternleri Sınıflandırmalarına göre dahil oldukları gruplar Excel tablosuna halinde kaydedildi. Her bir sağlıklı kontrol için toplam B hücre sayıları, B hücre alt gruplarının sayıları, KREC sayıları Excel tablosu halinde kaydedildi. Ardından bu veriler SPSS 23.0 yazılımına aktarıldı. Normallik varsayımının sınanmasında Shapiro-Wilk testi, örneklerin dağılımlarının simetrisinin gösterilmesi için ise histogram ve kutu-çizgi grafikleri kullanıldı. Normal dağılmayan örnekleme değişkenler arasındaki ilişkinin yönü ve şiddeti Spearman korelasyon testi ile hesaplandı. Bağımsız grupların karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanıldı.

#### 4. BULGULAR

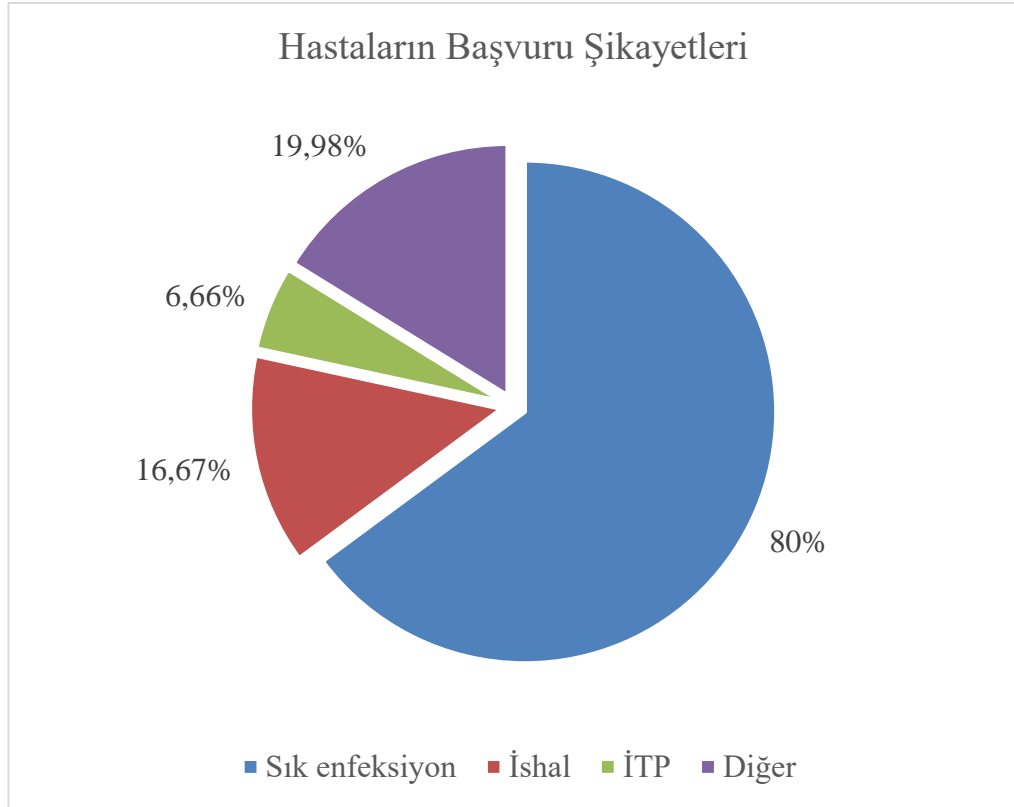
Hasta grubunda cinsiyetler arası dağılım oranı 1/1 olup birbirine eşittir (15 erkek, 15 kadın). Hasta grubundaki bireylerin (n=30) ortalama yaşı  $28,5 \pm 15,6$  yıldır (Şekil 4.1). Hastaların başvuru yaşı  $18,5 \pm 16,5$  yıl iken ortalama tanı yaşı  $20,5 \pm 15,8$  yıldır. Hastaların ortalama takip süresi ortanca değeri 6 yıldır (1-37 yıl). Hastaların %33'ünün ebeveynleri arasında akrabalık vardır.

Kontrol grubunda cinsiyetler arası dağılım oranı yaklaşık 1/1'dir (21 erkek, 20 kadın). Kontrol grubundaki bireylerin (n=41) ortalama yaşı  $15 \pm 11,1$  yıldır.



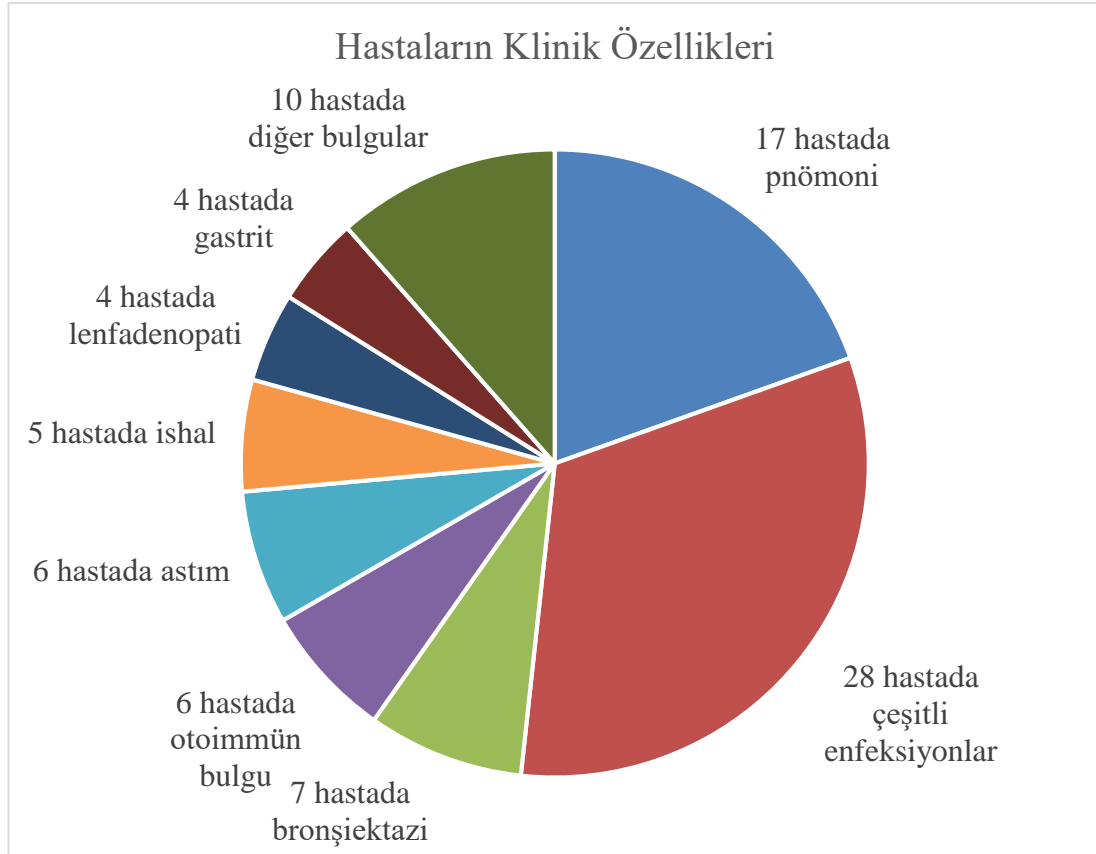
Şekil 4.1. Hasta grubunda yaş dağılımı.

Hastaların başvuru şikayetlerinin %80'ini sık enfeksiyon, %16,67'sini ishal, %6,66'sını immün trombositopenik purpura ve %19,98'ini diğer şikayetler (artrit, lenfadenopati, pnömoni, ürtiker, anjiyoödem, otoimmün hemotilik anemi) oluşturmaktadır (Şekil 4.2.) .



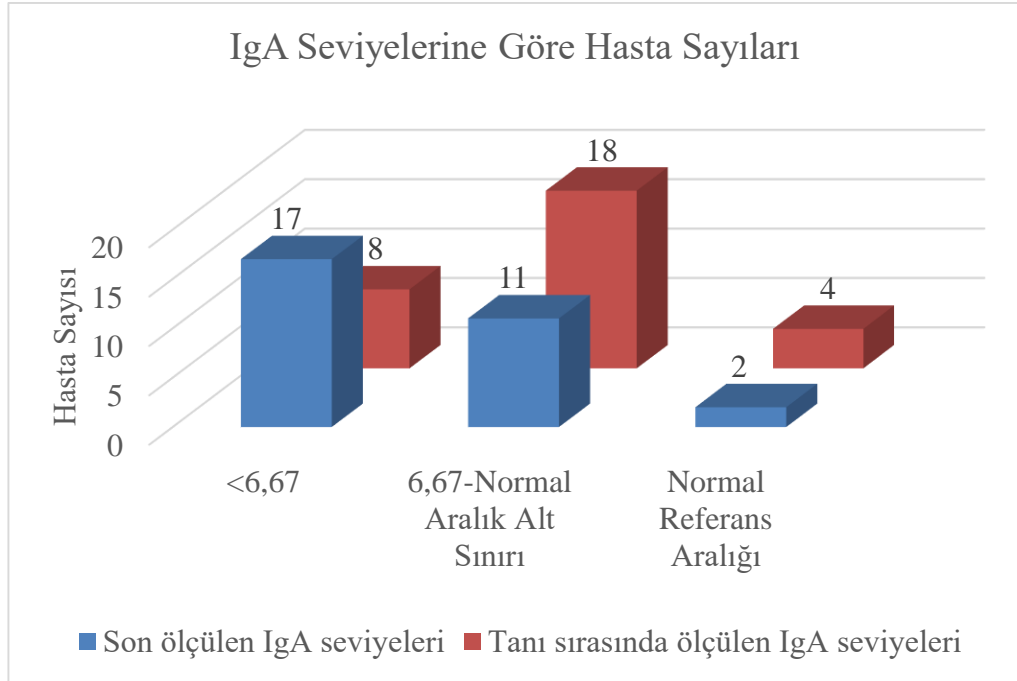
**Şekil 4.2.** YDIY hastalarının başvuru şikayetleri.

Hastaların klinik özellikleri değerlendirildiğinde; 17 hastada pnömoni, 28 hastada diğer enfeksiyonlar (10 hastada üst solunum yolu enfeksiyonu, 7'şer hastada otit ve sinüzit, 2 hastada tonsilit, 1'er hastada bronşit ve menenjit), 7 hastada bronşiektazi, 6 hastada otoimmün bulgular (3 hastada immün trombositopenik purpura, 2 hastada otoimmün hemolitik anemi, 1 hastada alopesi areata), 6 hastada astım, 5 hastada ishal, 4 hastada gastrit, 10 hastada diğer bulgular (2'şer hastada hepatosplenomegali ve çölyak, 1'er hastada splenomegali, sklerozan kolanjit, anjiyoödem, granümatöz lenfadenit, kronik karaciğer hastalığı, ürtiker) görülmüştür (Şekil 4.3).



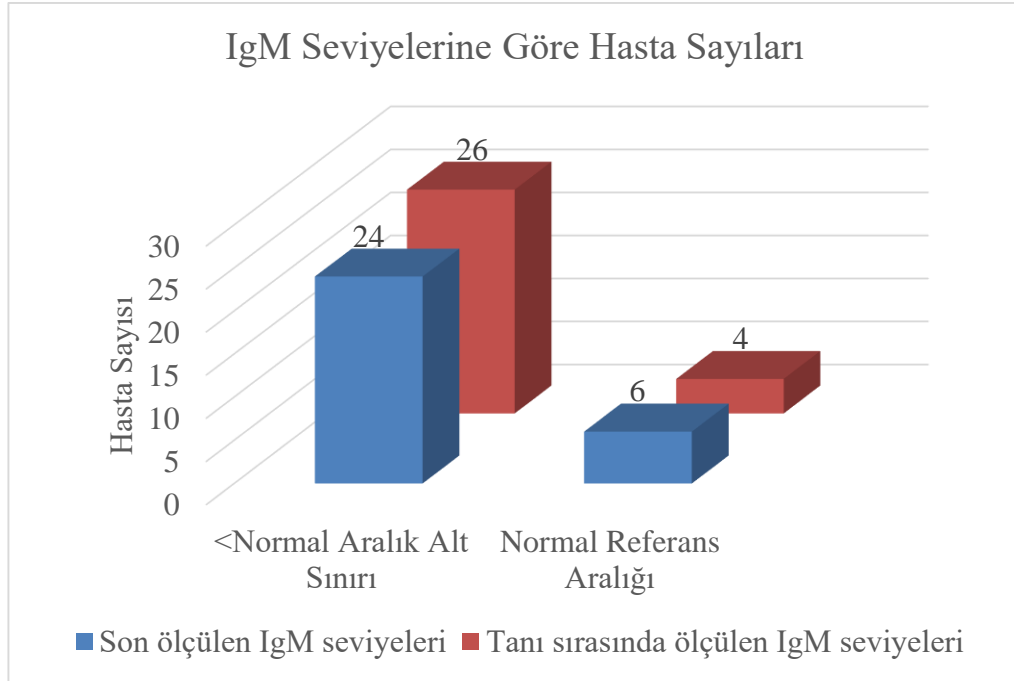
**Şekil 4.3.** YDIY hastalarında görülen klinik özellikler.

Tanı sırasında ölçülen IgA seviyeleri hastaların %26,67'sinin (n=8) selektif IgA eksikliği düzeyinde (6,67 mg/dL'nin altında); %60'ının (n=18) parsiyel IgA eksikliği düzeyinde (6,67 mg/dL ile normal aralık alt sınırı arasında); %13,33'ünün ise (n=4) yaşa göre normal referans aralığındadır. Son ölçülen IgA seviyeleri hastaların %56,67'sinin (n=17) 6,67 mg/dL'nin altında; %36,67'sinin (n=11) 6,67 mg/dL ile normal aralık alt sınırının arasında; %6,67'sinin ise (n=2) yaşa göre normal referans aralığındadır (Şekil 4.4).



**Şekil 4.4.** IgA seviyelerine göre hasta sayıları.

Hastaların %86,7'sinin (n=26) tanı sırasında ölçülen IgM seviyeleri yaşa göre normal referans alt sınırının altında; %13,3'ünün (n=4) yaşa göre normal referans aralığındadır. Hastaların %80'inin (n=24) son ölçülen IgM seviyeleri yaşa göre normal referans alt sınırının altında; %20'sinin (n=6) yaşa göre normal referans aralığındadır (Şekil 4.5.)



**Şekil 4.5.** IgM seviyelerine göre hasta sayıları

Hastaların %43,3'nün (n=13) tanı sırasında ölçülen IgE seviyeleri <1 IU/L; %26,6'sının (n=8) normal düzeyin altında, %30'unun (n=9) yaşa göre normal referans aralığındadır.

Hastaların %36,67'sinin (n=11) CD3<sup>+</sup> hücre sayısı yaşa göre normal referans aralığının altındadır, %46,67'sininki (n=14) yaşa göre normal referans aralığındadır, %16,67'sininki (n=5) ise yaşa göre normal referans aralığının üstündedir.

Hastaların %46,67'sinin (n=14) CD4<sup>+</sup> hücre sayısı yaşa göre normal referans aralığının altındadır, %50'sininki (n=15) yaşa göre normal referans aralığındadır, %3,33'ünün (n=1) ise yaşa göre normal referans aralığının üstündedir.

Hastaların %16,67'sinin (n=5) CD8<sup>+</sup> hücre sayısı yaşa göre normal referans aralığının altındadır, %60'ının (n=18) yaşa göre normal referans aralığındadır, %23,33'ünün (n=7) ise yaşa göre normal referans aralığının üstündedir.

Hastaların %23,33'ünün (n=7) CD16-56<sup>+</sup> hücre sayısı yaşa göre normal referans aralığının altındadır, %70'inin (n=21) yaşa göre normal referans aralığındadır, %6,67'ünün (n=2) ise yaşa göre normal referans aralığının üstündedir.

Hastaların 66,67'sinin (n=20) CD19<sup>+</sup> hücre sayısı yaşa göre normal referans aralığının altındadır, %30'ununki (n=9) yaşa göre normal referans aralığındadır, %3,33'ününki (n=1) ise yaşa göre normal referans aralığının üstündedir.

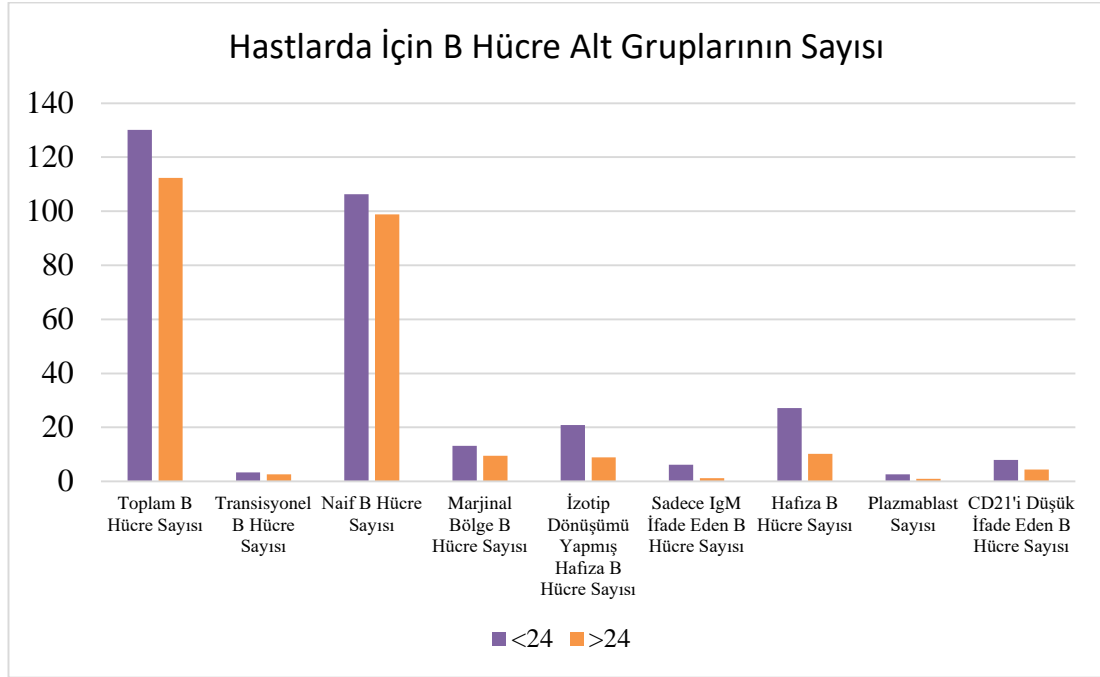
Tanı sırasında ölçülen IgM seviyesi yaşa göre normal referans aralığının altında olan 3 hastanın son ölçülen IgM seviyesi yaşa göre normal referans aralığındadır. Buna ek olarak, tanı sırasında ölçülen IgM seviyesi yaşa göre normal referans aralığında olan 1 hastanın IgM seviyesi yaşa göre normal referans aralığının altına düşmüştür. Ayrıca tanı sırasında ölçülen IgM seviyesi yaşa göre normal referans aralığının üstünde olan 1 hastanın son ölçülen IgM seviyesi hala yaşa göre normal referans aralığının üstündedir. Hastalara ait tanı sırasında ölçülen ve son ölçülen IgA seviyeleri bakımından böyle bir farklılık bulunmamıştır.

Transisyonel B hücre yüzdesi yaş gruplarına ait referansa göre; hastaların %33,3'ünde (n=10) düşük, %46,7'sinde (n=14) normal seviyede, %20'sinde (n=6) yüksek bulunmuştur. Naif B hücre yüzdesi yaş gruplarına ait referansa göre; hastaların %3,3'ünde (n=1) düşük, %36,7'sinde (n=11) normal seviyede, %60'ında (n=18) yüksek bulunmuştur. Marjinal bölge B hücre yüzdesi yaş gruplarına ait referansa göre; hastaların %53,3'ünde (n=16) düşük, %43,3'ünde (n=13) normal seviyede, %3,3'ünde (n=1) yüksek bulunmuştur. İzotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre yüzdesi yaş gruplarına ait referansa göre; hastaların %46,7'sinde (n=14) düşük, %26,7'sinde (n=8) normal seviyede, %26,7'sinde (n=8) yüksek bulunmuştur. Toplam hafıza B hücre yüzdesi yaş gruplarına ait referansa göre; hastaların %50'sinde (n=15) düşük, %36,7'sinde (n=11) normal seviyede, %13,3'ünde (n=4) yüksek bulunmuştur. Plazmablast yüzdesi yaş gruplarına ait referansa göre; hastaların %26,7'sinde (n=8) düşük, %56,7'sinde (n=17) normal seviyede, %16,7'sinde (n=5) yüksek bulunmuştur. CD21'i düşük ifade eden B hücre yüzdesi yaş gruplarına ait referansa göre; hastaların %16,7'sinde (n=5) düşük, %56,7'sinde (n=17) normal seviyede, %26,7'sinde (n=8) yüksek bulunmuştur.

Hasta grubu 24 yaşın altındakiler ve 24 yaşın üstündekiler olmak üzere 2 gruba bölünerek birbirleriyle karşılaştırıldığında, 24 yaş üstündekilere göre 24 yaşın altındaki hasta bireylerin ortalama toplam B hücre sayıları ve ortalama transisyonel B hücre, ortalama naif B hücre, ortalama marjinal bölge B hücre, ortalama izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre, ortalama IgM ifade eden hafıza B hücre, ortalama



toplam hafıza B Hücre, ortalama plazmablast, ortalama CD21'i düşük seviyede ifade eden B hücre sayıları daha yüksektir (Şekil 4.6.).

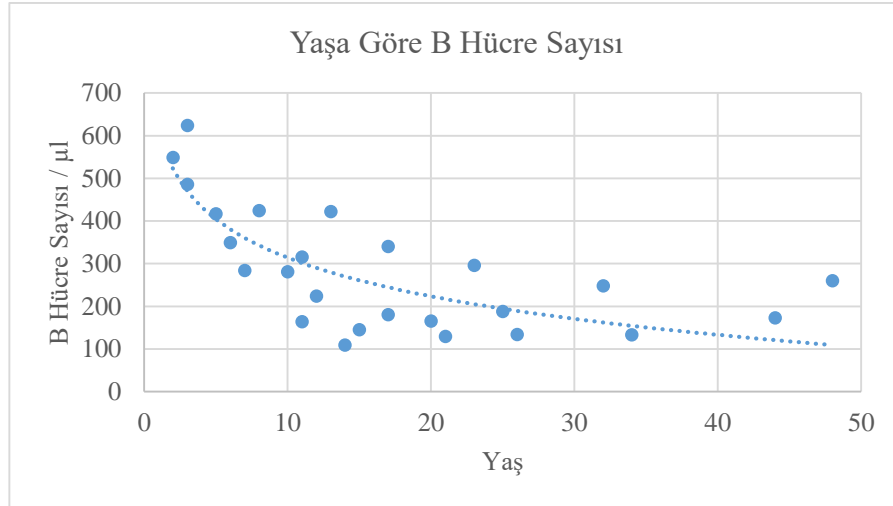


**Şekil 4.6.** 24 yaşın altındaki ve üstündeki hasta gruplarının ortalama toplam B hücre (/µl) ve B hücre alt gruplarının sayıları (/µl)

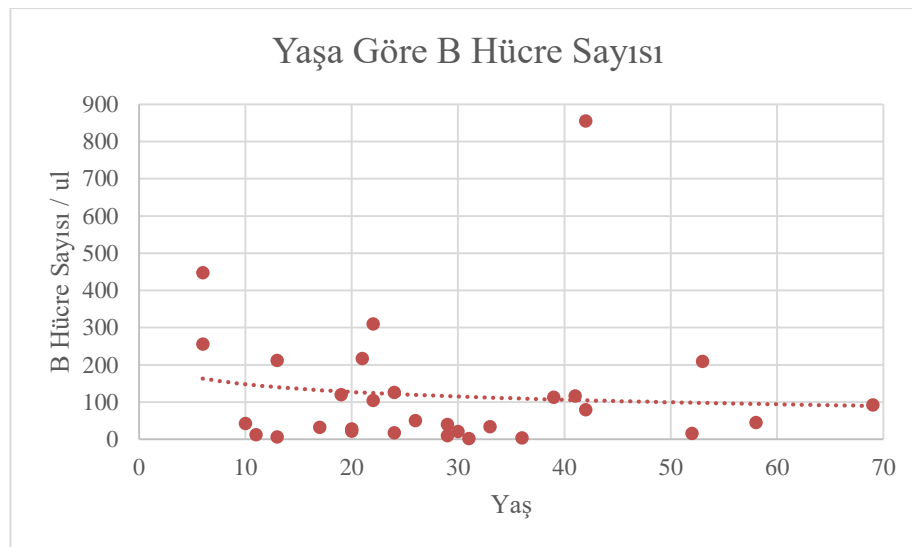
Kontrol grubuna ait B hücre sayıları bireylerin yaşlarına bağlı olarak azalmaktadır. Kontrol grubu için B hücre sayısı ( $CD19^+$ ) ve yaş arasında negatif bir korelasyon vardır ( $p<0,01$ ). Bu korelasyon şekil 4.7'de gösterilmektedir.

Kontrol grubuna ait B hücre alt gruplarından naif B hücre ( $CD19^+ CD27^- IgM^+ IgD^+$ ) sayıları ve transisyonel B hücre ( $CD19^+ CD21^{int} CD38^{++} IgM^{++}$ ) sayıları ve yaş arasında negatif bir korelasyon vardır ( $p<0,01$ ). Diğer B hücre altgrupları ile yaş arasında korelasyon bulunamamıştır.

Hasta grubu için B hücre ve B hücre alt grupları arasında kontrol grubunda olan yaş ile negatif korelasyon bulunamamıştır (Şekil 4.8.).



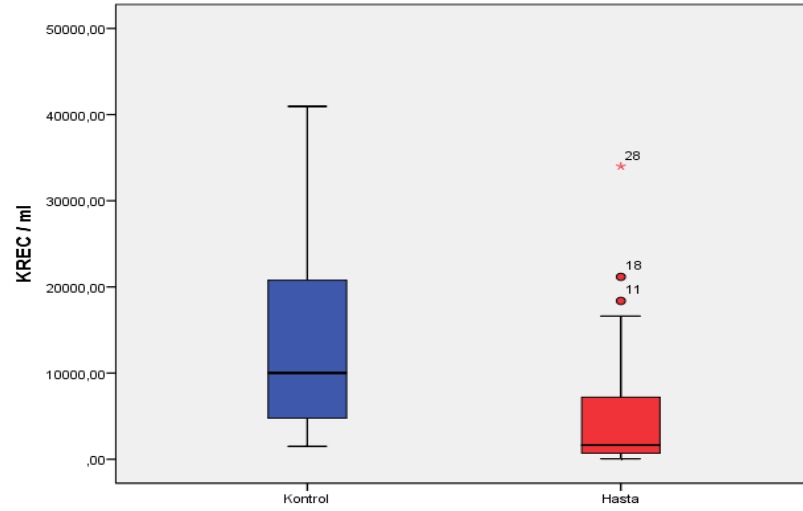
Şekil 4.7. Kontrol grubunda yaşa göre B hücre sayısı (/µl).



Şekil 4.8. Hasta grubunda yaşa göre B hücre sayısı (/µl).

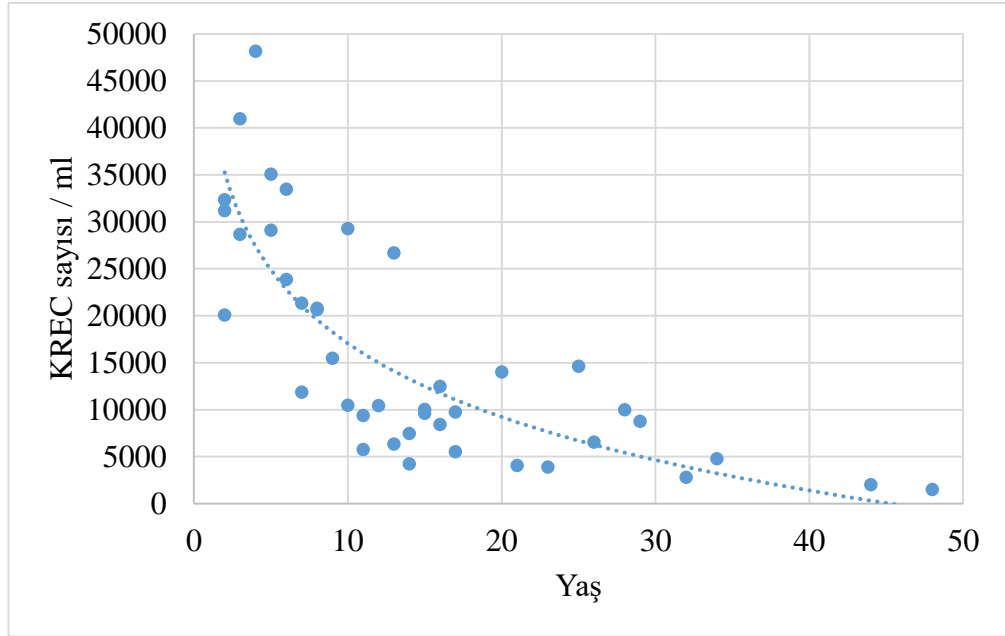
B hücre gelişimi için biyobelirteç olarak değerlendirilen hasta grubuna ait KREC ortanca sayısı 1644 kopya/ml (47 - 34.000), kontrol grubuna ait KREC ortanca sayısı ise 10477 kopya/ml (1.500 - 48.415) olarak bulunmuştur (Şekil 4.8.). Hasta grubuna ait KREC ortanca sayısı (1644 kopya/ml (47 - 34.000)), sağlıklı 41 kontrolün arasından seçilen hasta grubu ile aynı yaş ortalamasına sahip 19 kontrolün KREC ortanca sayısından (8767 kopya/ml (1.500-29.285)) düşük olarak bulunmuştur

( $p < 0,005$ ). Buna ek olarak, hasta grubuna ve kontrol grubuna ait KREC sayıları ile cinsiyetler arasında ilişki bulunmamıştır.

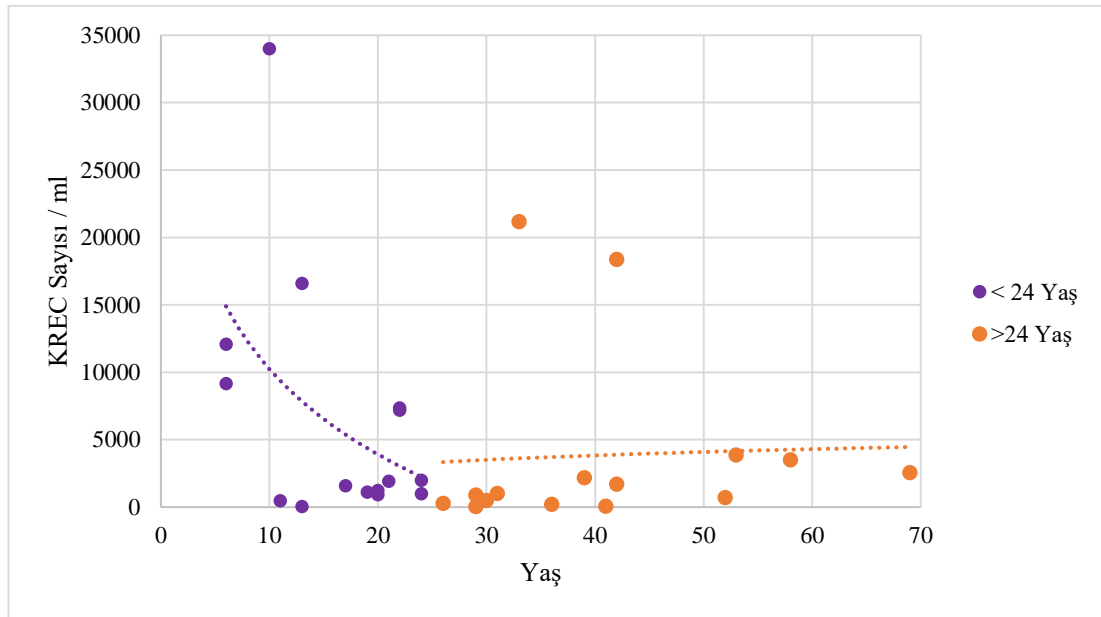


**Şekil 4.9.** Kontrol ve hasta grubunda KREC sayısı grafiği.

Kontrol grubuna ait KREC sayıları bireylerin yaşlarına bağlı olarak azalmaktadır. Kontrol grubu için KREC sayısı ve yaş arasında negatif bir korelasyon vardır ( $p < 0,01$ ). Bu korelasyon şekil 4.9.'da gösterilmektedir. Hasta grubu için böyle bir korelasyon bulunamamıştır. Ancak 24 yaşın altındaki hasta bireylerde KREC sayıları 24 yaşın üstündeki bireylere göre daha yüksekti (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Kontrol grubunda yaşa göre KREC sayısı.



Şekil 4.11. Hasta Grubunda Yaşa Göre KREC Sayısı

Hem hasta grubu hem de kontrol grubu için KREC sayıları ve toplam B hücre (CD19<sup>+</sup>) sayıları arasında korelasyon vardır ( $p < 0,01$ ). Buna ek olarak kontrol gruba ait B hücre alt gruplarının (transisyonel B hücre, naif B hücre, izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre ve hafıza B hücre) sayıları ile KREC sayıları arasında bir korelasyon



Hastalar son ölçülen IgA seviyelerine göre 3 gruba bölündü. Grup I'e son ölçülen IgA seviyesi <6,67 mg/dL olan 17 hasta dahil edildi. Grup II'ye son ölçülen IgA seviyesi 6,67 mg/dL'den yaşa göre normal referans aralığı alt sınırına kadar olan 11 hasta dahil edildi. Grup III'e son ölçülen IgA seviyesi yaşa göre normal referans aralığında olan 2 hasta dahil edildi. Grup I ile Grup II karşılaştırıldığında; Grup II'de izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre ve toplam hafıza B hücre sayılarının ortancası daha yüksekti ( $p<0,01$ ). Grup I ile grup III, grup II ile grup III karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Hastalar tanı IgM seviyelerine göre 2 gruba bölündü. Grup I'e tanı IgM seviyesi yaşa göre normal referans alt sınırının altında olan 26 hasta dahil edildi. Grup II'ye tanı IgM seviyesi yaşa göre normal referans aralığında olan 4 hasta dahil edildi. Grup I ile grup II karşılaştırıldığında; Grup II'de CD4<sup>+</sup> T hücre sayıları ve KREC sayılarının ortancası Grup I'e göre daha yüksekti ( $p<0,05$ ).

Hastalar son ölçülen IgM seviyelerine göre 2 gruba bölündü. Grup I'e son ölçülen IgM seviyesi yaşa göre normal referans alt sınırının altında olan 24 hasta dahil edildi. Grup II'ye son ölçülen IgM seviyesi yaşa göre normal referans aralığında olan 6 hasta dahil edildi. Grup I ile grup II karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Hastalar CD4<sup>+</sup> T hücre sayılarına göre 2 gruba bölündü. Grup I'e CD4<sup>+</sup> T hücre sayıları 300'ün altında olan 6 hasta, Grup II'ye CD4<sup>+</sup> T hücre sayıları 300'ün üstünde olan 24 hasta dahil edildi (173). Grup I ve grup II karşılaştırıldığında; Grup II'de izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre sayıları, sadece IgM ifade eden hafıza B hücre sayıları, toplam hafıza B hücre sayıları ve CD3<sup>+</sup> T hücre sayılarının ortancası Grup I'e göre daha yüksekti ( $p<0,05$ ).

Hastalar takip edildikleri süre içinde ölçülen minimum lenfosit sayısına göre 2 gruba bölündü. Grup I'e minimum lenfosit sayısı 1000'in altında olan 18 hasta, grup II'ye minimum lenfosit sayısı 1000'in üstünde olan 12 hasta dahil edildi. Grup I ve grup II karşılaştırıldığında; Grup II'de transisyonel B hücre sayılarının ortancası Grup I'e göre daha yüksekti. ( $p<0,05$ ).

B hücre alt gruplarının sayılarının yaşa bağlı olarak sağlıklı popülasyondaki referans aralıkları belirlenmiştir (Tablo 4.1.).

**Tablo 4.1.** B hücre alt gruplarının sayılarının yaşa göre referans aralıkları.

Yaş Grubu	B Hücre Sayısı (/µl)	Transisyonel B Hücre Sayısı (/µl)	Naif B Hücre Sayısı (/µl)	Marjinal Bölge B Hücre Sayısı (/µl)	İzotip Dönüşümü Yapmış Hafıza B Hücre Sayısı (/µl)	Hafıza B Hücre Sayısı (/µl)	Plasmablast Sayısı (/µl)
2-6	363-609	4-11	307-500	24-53	78-154	83-171	2-4
7-12	179-397	3-8	144-309	12-75	30-151	47-181	0,5-2
13-17	116-406	1-11	89-319	4-76	13-250	24-280	1-5
>18	131-296	1-6	75-243	10-40	20-111	34-127	1-6

Çalışmaya dahil edilen 30 hasta Freiburg, Paris, EUROclass ve B Hücre Paternleri sınıflandırmalarına göre sınıflandırılmıştır (Tablo 4.2.). Tablo 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6'da her bir sınıflandırmadaki alta gruplara göre hasta sayıları ve bu gruplara ait KREC sayılarının ortalama, ortanca, minimum ve maksimum değerleri gösterilmektedir.

**Tablo 4.2.** YDİY sınıflandırmalarına göre sınıflandırılan hastalar.

Hasta No	Freiburg Sınıflandırması	Paris Sınıflandırması	EUROclass Sınıflandırması	B Hücre Paternleri Sınıflandırması
1	Grup II	MB2	smB+ CD21norm	Pattern_5
2	Grup II	MB0	smB- CD21lo Tri-norm	Pattern_4
3	Grup II	MB2	B-	Pattern_1*
4	Grup II	MB2	smB+ CD21norm	Pattern_5
5	Grup II	MB0	smB+ CD21norm	Pattern_4
6	Grup II	MB1	smB+ CD21norm	Pattern_4
7	Grup Ia	MB0	B-	Pattern_1*
8	Grup Ib	MB0	smB- CD21lo Tri-norm	Pattern_2
9	Grup Ib	MB0	smB- CD21norm Tri-norm	Pattern_4
10	Grup II	MB2	smB+ CD21lo	Pattern_1*
11	Grup II	MB0	smB- CD21norm Tri-norm	Pattern_4
12	Grup II	MB2	B-	Pattern_2
13	Grup II	MB1	B-	Pattern_1*
14	Grup II	MB0	smB+ CD21norm	Pattern_1
15	Grup Ib	MB0	smB- CD21norm Tri-high	Pattern_4
16	Grup II	MB2	smB+ CD21norm	Pattern_5
17	Grup II	MB2	smB+ CD21norm	Pattern_1*
18	Grup II	MB0	B-	Pattern_1*
19	Grup II	MB2	B-	Pattern_2
20	Grup II	MB2	smB+ CD21norm	Pattern_2
21	Grup Ib	MB0	smB- CD21lo Tri-norm	Pattern_2
22	Grup II	MB2	smB+ CD21norm	Pattern_2
23	Grup II	MB0	smB+ CD21norm	Pattern_4
24	Grup Ib	MB0	smB- CD21norm Tri-norm	Pattern_1*
25	Grup II	MB2	smB+ CD21lo	Pattern_5
26	Grup II	MB2	smB+ CD21norm	Pattern_2
27	Grup II	MB2	smB+ CD21norm	Pattern_5
28	Grup II	MB2	smB+ CD21norm	Pattern_1*
29	Grup II	MB2	smB+ CD21norm	Pattern_2
30	Grup II	MB2	B-	Pattern_1*

\*: Bu hastaların B hücre alt gruplarının hepsinde azalma vardır.

**Tablo 4.3.** Freiburg sınıflandırmasına ait grupların KREC sayıları.

Freiburg Sınıflandırması	KREC Sayısı/mL				Toplam Hasta Sayısı
	Ortalama	Ortanca	Minimum	Maksimum	
Grup Ia	217	217	217	217	1
Grup Ib	1567,8	1582	62	3504	5
Grup II	6073,79	1959	47	34000	24



**Tablo 4.4.** Paris sınıflandırmasına ait grupların KREC sayıları.

Paris Sınıflandırması	KREC Sayısı/mL				Toplam Hasta Sayısı
	Ortalama	Ortanca	Minimum	Maksimum	
MB0	5020,75	1847	62	21169	12
MB1	4820,5	4820,5	484	9157	2
MB2	5246,06	1130	47	34000	16

**Tablo 4.5.** EUROclass sınıflandırmasına ait grupların KREC sayıları.

EUROclass Sınıflandırması	KREC Sayısı/mL				Toplam Hasta Sayısı
	Ortalama	Ortanca	Minimum	Maksimum	
B-	3450	507	50	21169	7
smB+ CD21lo	988,5	988,5	47	1930	2
smB+ CD21norm	7106,57	3217	287	34000	14
smB- CD21lo Tri-norm	1518,33	1582	985	1988	3
smB- CD21norm Tri-norm	7315,33	3504	62	18380	3
smB- CD21norm Tri-high	1706	1706	1706	1706	1

**Tablo 4.6.** B hücre paternleri sınıflandırmasına ait grupların KREC sayıları.

B Hücre Paternleri Sınıflandırması	KREC Sayısı/mL				Toplam Hasta Sayısı
	Ortalama	Ortanca	Minimum	Maksimum	
Patern1	6942,3	971	47	34000	10
Patern2	1016,5	944	50	2574	8
Patern4	4942,43	1988	62	18380	7
Patern5	8335	7204	1930	16607	5

## 5. TARTIŞMA

Yaygın değişken immün yetmezlik, B hücre farklılaşması ve antikor yapımında bozukluk ile seyreden, aşılara zayıf yanıt oluşması ve tekrarlayan enfeksiyonlar ile karakterize heterojen bir hastalıktır. Çeşitli klinik ve immünolojik özellikleri olan YDİY, primer antikor eksikliklerinin heterojen bir grubudur (1).

Son yıllarda, B hücre popülasyonlarının fenotiplendirmesine dayalı olarak hastalığın sınıflandırılmasına yönelik girişimlerde bulunulmuştur. 2002 yılında, Freiburg Sınıflaması ile, daha sonra Paris Sınıflandırması ile ve son olarak EUROclass Sınıflandırması ile YDİY hastaları sınıflandırılmıştır(2-4). Yakın zamanda, Driessen ve arkadaşları B hücre alt grup anormalliklerine dayalı bir sınıflandırma önermiştir (5). YDİY hasta gruplarını homojen alt gruplara ayırma girişimi lenfosit alt gruplarının belirlenmesine ve akım sitometri ile fonksiyonel analizlere dayanmaktadır. Çalışmamızda da B hücre alt gruplarını ve KREC sayılarını belirleyerek hastalarımızda B hücre gelişim basamaklarını değerlendirdik. Aynı zamanda belirli yaş aralıklarından kontrol grubu seçerek yaşa bağlı olarak sağlıklı popülasyonda B hücre alt grup sayılarının referans aralıklarını belirledik. Bu aralıkların literatürdeki aralıklarla ilişkili olduğu görülmüştür (5). Kontrol birey sayısının artışının korelasyonu artıracağı düşünülmektedir.

Hastaların başvuru yaşı  $18,5 \pm 16,5$  iken ortalama tanı yaşı  $20,5 \pm 15,8$ 'tir. YDİY tanısı yaklaşık olarak 20-40 yaşları arasında konmaktadır.

Ülkemizdeki diğer primer immün yetmezlik kohortlarından farklı olarak ebeveynlerin akraba evliliği oranı nispeten düşük (%33,3) bulunmuştur (18,19).

En sık klinik bulgu, diğer çalışmalara benzer şekilde tekrarlayan üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarıydı (174).

Yaygın değişken immün yetmezlik hastalığı kriterinde IgG düşüklüğüne ilaveten diğer Ig düzeylerinde farklılıklar görülmektedir. Hastaların IgA düzeylerinde takip süresince azalma olduğu dikkat çekmektedir. Son ölçülen IgA seviyeleri hastaların %56,67'sinin (n=17) 6,67 mg/dL'nin altına düşmüştür. IgM düzeylerinde takip süresince azalma olmadığı dikkat çekmektedir. Çalışmamızda da son ölçümlere göre IgA düzeylerinin %13 civarında hastada normal düzeyde, IgM düzeylerinin %20 civarında hastada normal olduğu görülmüştür.

İlerleyen yaş, immün sistemde değişikliklere yol açar. Bu duruma genel olarak immün yaşlanma denir (175–178). Bu değişiklikler aşılama veya enfeksiyona karşı refrakter yanıtlarla sonuçlanır, önceden oluşturulmuş koruyucu immünitede azalmaya ve hastalık morbiditesinde artışa neden olur (178–181). B hücreler; antikor üretimi, antijen sunumu ve düzenleyici işlevler de dahil olmak üzere koruyucu immünitenin oluşturulmasında ve korunmasında merkezi rol oynar (182). Buna göre, yaşın B hücrelerinin üretimini ve davranışını nasıl etkilediğinin değerlendirilmesi immün yaşlanmayı anlamak için önemlidir. B hücrelerde yaşa bağlı değişikliklerle ilgili çalışmalar, B hücre öncülleri ve B hücrelerin fonksiyonel kapasitelerinde azalmayı, farklı alt grupların miktarı, reseptör repertuarın çeşitliliği ve klonotipik kompozisyonunda değişiklikleri göstermiştir (183).

Çalışmamızda da immün yaşlanmayla uyumlu olarak kontrol grubuna ait B hücre sayıları bireylerin yaşlarına bağlı olarak azalmaktadır.

Kontrol grubunda toplam B hücre sayılarının yanı sıra B hücre alt gruplarından naif B hücre sayıları ve transisyonel B hücre sayıları ile yaş arasında negatif korelasyon vardır, sonuç olarak yaş arttıkça B hücre sayısı azalmaktadır. 2008 ve 2011 yıllarında, Frasca ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, dolaşımdaki B (CD19<sup>+</sup>) hücrelerin yüzdelerinin ve sayılarının yaşla birlikte önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (184,185). Frasca ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada, antikor üretimi ve çeşitliliği için gerekli olan izotip dönüşümü ve somatik rekombinasyonun yaşlı insanlarda bozulduğu rapor edilmiştir (186). Bu durumda B hücre lenfopoezi azalır, bu da yeni üretilen naif B hücrelerine kıyasla, (T hücrelerinin durumuna paralel olarak) antijenle karşılaşmış hücrelerin yüzdesinde bir artışa yol açar (187). Ayrıca B hücresi seleksiyonunda, yaşlanma ile birlikte otoreaktif hücrelerin sıklığının artmasına yol açan bir kayma olduğuna işaret eden bulgular da vardır (188). Çalışmamızda hasta grubu için yaşla korelasyon bulunmamıştır. Bu durum, hasta kohortumuzdaki bireylerin çoğunda B hücre sayılarının ve dolayısıyla B hücre alt gruplarının sayılarının düşük olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Yaygın değişken immün yetmezlik, yetersiz immünoglobulin sekresyonuna yol açan B lenfosit farklılaşmasında başarısızlık ile karakterize olan bir primer immün yetmezliktir. Bu çalışmada; toplam B hücre sayısı, transisyonel B hücre sayısı, naif B hücre sayısı, marjinal bölge B hücre sayısı, izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre

sayısı, sadece IgM ifade eden B hücre sayısı, toplam hafıza B hücre sayısı, plazmablast sayısı ve CD21'i düşük ifade eden B hücre sayısı hasta grubunda kontrollere kıyasla düşük bulunmuştur. Bright ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada YDİY hastalarının izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre sayılarının kontrollerle kıyaslandığında düşük olduğu bildirilmiştir (189). 2016 yılında, Yazdani ve arkadaşları tarafından YDİY tanısı alan 30 hasta ve 30 sağlıklı kontrol ile yapılan bir çalışmada, hasta grubuna ait B hücre alt gruplarında (toplam B hücre, marjinal bölge B hücre, izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre, sadece IgM ifade eden hafıza B hücre, toplam hafıza B hücre ve plazmablast) önemli bir azalma ve CD21'i düşük ifade eden B hücre sayısı bakımından önemli bir artış olduğu gösterilmiştir (190). Bizim çalışmamızda CD21'i düşük ifade eden B hücre sayısı hasta grubunda Yazdani ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak düşük bulunmuştur. Bunun nedeni hasta grupları arasındaki genetik heterojenite olabilir. Ancak farklı çalışmalarda farklı sonuçların olduğu görülmektedir. Avustralya'da, YDİY tanısı alan 53 hasta ve sağlıklı 39 kontrol ile yapılan bir çalışmada, YDİY'li hastaların toplam B hücre, izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre, toplam hafıza B hücre CD21'i düşük ifade eden B hücre, transisyonel B hücre ve plazmablast sayılarında kontrollerle karşılaştırıldığında önemli bir azalma olduğu rapor edilmiştir (191).

Ağır kombine immün yetmezlik ve B lenfosit eksiklikleri (agamaglobulinemi) yönünden yenidoğan taramasında TREC ve KREC sayılarının değerlendirilmesi önem taşımaktadır (75,86). Yenidoğan taramasına ek olarak, çeşitli primer immün yetmezliklerin şiddeti ve progresyonunda TREC ve KREC sayılarının klinik belirteçler olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir (77). Her ne kadar YDİY hala B hücre fonksiyon bozukluğunun baskın olduğu bir hastalık olarak kabul edilse de, birçok hasta birey T hücre gelişimi ve fonksiyonunda önemli anormallikler sergilemektedir (1,192). Yine bu hasta grubunda yeni nesil gen dizileme analizlerinde T hücreleri etkileyen hipomorfik mutasyonlar bulunabilmektedir (153). Bu nedenlerle yaygın değişken immün yetmezlikteki T hücre fonksiyon bozukluğu ile kombine immün yetmezlik (KİY) arasında kesin bir çizgi çizilememektedir (1). YDİY'yi daha iyi sınıflandırmak ve KİY'i YDİY'den ayırt etmek için yeni belirteçlerin belirlenmesi gerekmektedir. Hem TREC'lerin hem de KREC'lerin ölçümü, KİY ile YDİY ayrımı için iyi bir klinik belirteç olarak kullanılabilir (137).

Yaygın değişken immün yetmezlik tanısı almış 30 hastalık serimizde KREC sayıları bakımından hasta grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, KREC sayısının cinsiyetten etkilenmediği gösterilmiştir. Ayrıca, kontrol grubunda KREC kopya sayıları ile yaş arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur. Hasta grubu için yaş-KREC sayısı arasında bu tür bir korelasyon bulunmamıştır. Bu durum hasta grubunda B hücre sayılarının düşük olmasından kaynaklanıyor olabilir. Atschekzei (193) ve arkadaşları tarafından YDİY'li 134 hasta ve sağlıklı 50 kontrol ile yapılan bir çalışmada; YDİY hastalarında KREC kopya sayısının sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu, ayrıca YDİY hastalarında KREC kopya sayısının yaş ile negatif korelasyona sahip olduğu bildirilmiştir. Serena (76) ve arkadaşları tarafından YDİY'li 37 hasta ve sağlıklı 78 kontrol ile yapılan bir çalışmada da hasta grubuna ait KREC ortanca değerinin kontrol grubuna ait KREC ortanca değerinden düşük olduğunu, KREC sayısının yaşla birlikte değişmediğini ve cinsiyetten etkilenmediği bildirilmiştir.

Bu çalışmada hem hasta grubu hem de kontrol grubu için KREC sayıları ve B (CD19<sup>+</sup>) hücre sayıları arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Buna ek olarak kontrol grubu için transisyonel B hücre, naif B hücre, izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre ve hafıza B hücre sayıları ile KREC sayıları arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Ayrıca hasta grubunda KREC sayıları ile plazmablast, naif B hücre, sadece IgM ifade eden B hücre ve CD21<sup>+</sup> düşük ifade eden B hücre sayıları arasında korelasyon vardır. Serena ve arkadaşları tarafından yapılan; sağlıklı 48 kontrolün dahil edildiği, enzim replasman tedavisi alan ve hematopetik kök hücre transplantasyonu yapılan AKİY'li 13 hastada immün rekonstitüsyonun değerlendirildiği bir çalışmada CD19<sup>+</sup> B hücre sayısı ile KREC sayısı arasında güçlü bir pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir (194). Yine Korsunskiy ve arkadaşları tarafından yapılan immün yetmezlik olabileceği düşünölen 931 bireye ait TREC ve KREC sayılarının lenfosit alt grupları ile ilişkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise CD19<sup>+</sup> B hücre sayısı ile KREC sayısı arasında orta seviyede bir pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir (195). Mensen ve arkadaşları tarafından yapılan hematolojik malignitesi olan ve hematopetik kök hücre transplantasyonu yapılan 15 hastada TREC ve KREC sayılarının lenfosit alt grupları ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, bizim çalışmamızdaki gibi, transisyonel, naif B ve CD27<sup>+</sup> hafıza B hücrelerin KREC sayıları ile yüksek oranda

ilişkili olduğu bildirilmiştir (88). Çalışmamızda hasta grubunda B hücre alt gruplarından plazmablast, naif B hücre, sadece IgM ifade eden B hücre ve CD21'i düşük ifade eden B hücre ile KREC sayıları arasında bir korelasyon olmasının sebebi hastalığın heterojenitesindeki ülkeler arasındaki farklılıktan kaynaklanıyor olabilir.

YDİY'de B hücreler etkilenmiş olmasına rağmen, geniş deneysel veriler, T hücre anormalliklerinin de hastaların büyük bir kısmında görülebileceğini göstermektedir (196). TREC'ler, naif T hücreler, invaryant NKT hücreler ve regülatör T hücrelerin sayısındaki azalmalar, timus kinetiğindeki azalmayı gösterirken, CD8<sup>+</sup> T hücreleri, antijene bağımlı veya antijenden bağımsız bir şekilde azalabilir (196). T hücre fenotipleri, bir çok YDİY kohortunda araştırılmıştır ve bu araştırmalar sonucunda naif CD4<sup>+</sup> T hücrelerde azalma en sık saptanan sonuç olmuştur (197–199). Bununla birlikte, çoğu çalışmada ana sorun, çalışılan YDİY hasta gruplarının heterojenliği ve laboratuvar fenotiplerini klinik olarak iyi tanımlanmış fenotiplerle ilişkilendirmede karşılaşılan zorluklardır (198,200). Bateman ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada YDİY hastalarına ait iki kostimülatör molekülün (CD28/27) de ifade edildiği erken bir farklılaşma aşamasında olan CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin sayısının, kontrol grupları ile kıyaslandığında önemli ölçüde düşük olduğu gösterilmiştir (201).

Humoral immüitenin bir özelliği, uzun ömürlü hafıza B hücrelerinin ve konakçı savunma için gerekli olan yüksek afiniteli antikoları üreten plazma hücrelerinin üretilmesidir (202). Bir olgun naif B hücresinin bir T bağımlı antijene yanıt vermek üzere aktivasyonu; antijen moleküllerinin B hücre reseptörüne bağlanmasını, CD4<sup>+</sup> Th efektör hücresi ile intrasellüler bağlantının kurulmasını ve CD4<sup>+</sup> Th efektör hücreden salınan sitokinlerin (özellikle interlökin-4) B hücre yüzeyindeki sitokin reseptörlerine bağlanmasını gerektirir. Bu durum göz önüne alındığında, tanı IgM seviyesi yaşa göre normal referans alt sınırının altında olan YDİY hastalarının CD4<sup>+</sup> T hücre sayılarının düşük olması beklenebilir (202).

Çalışmamızda; tanı IgM seviyesi yaşa göre normal olan 4 hastanın CD4<sup>+</sup> T hücre sayıları ve KREC sayılarının ortancası, IgM seviyesi düşük olan 26 hasta ile karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur. Ayrıca, CD4<sup>+</sup> T hücre sayıları 300'ün altında olan 6 hastada, izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre sayıları, sadece IgM ifade eden hafıza B hücre sayıları, toplam hafıza B hücre sayıları ve CD3<sup>+</sup> T hücre sayıları; CD4<sup>+</sup> T hücre sayıları 300'ün üstünde olan 24 hastaya göre anlamlı olarak daha düşük

bulunmuştur. CD4<sup>+</sup> T hücre lenfopenisi olmayan hastalarla karşılaştırıldığında; CD4<sup>+</sup> T hücre lenfopenisi olan hastaların özellikle izotip dönüşümü yapmış hafıza B hücre sayıları, sadece IgM ifade eden hafıza B hücre sayıları ve toplam hafıza B hücre sayılarının düşük olması; B hücre aktivasyonu, immünoglobülin üretimi ve izotip dönüşümü için gerekli olan T hücre - B hücre etkileşiminin CD4<sup>+</sup> T hücre düşüklüğü nedeniyle uygun şekilde gerçekleşmemesi olabilir.

Çalışmamızda minimum lenfosit sayısı 1000'in altında ve üstünde olan hastalar karşılaştırıldığında transisyonel B hücre sayıları minimum lenfosit sayısı 1000'in üzerinde olan hastalarda daha yüksektir. B hücre gelişim basamakları göz önüne alındığında, transisyonel B hücreler kemik iliğinden perifere ilk çıkan hücre grubudur (203). Çalışmamızın bu sonucu transisyonel B hücre aşamasını veya önceki aşamaları etkileyen bir nedenin varlığını düşündürmektedir. Birlikte T hücre düşüklüğünün görülüyor olması, bu nedenin T ve hücrelerini birlikte etkileyen bir genetik neden olabileceğini de düşündürmektedir (204).

Bu çalışmada YDİY hastaları; Freiburg, Paris, EUROclass ve B Hücre Paternleri/Rotterdam Sınıflandırmalarına göre sınıflandırılmıştır. Freiburg Sınıflandırmasına göre hastalarımızın Grup II'de (n=24, %80), Paris Sınıflandırmasına göre MB2'de (n=16, %53,3) kümelendiği dikkat çekmektedir. Bu durum YDİY'nin patogenezinin karmaşık olmasından, dolayısıyla B hücre olgunlaşması sırasında farklı aşamalarda bozukluklar olmasından kaynaklanıyor olabilir. Piqueras (3) ve arkadaşlarının çalışmasına göre otoimmün komplikasyonlar, granüloamatöz hastalık ve splenomegalinin fazla olduğu grup olan MB0 grubuna dahil olan hastalar (n=12) ayrıntılı olarak değerlendirildiğinde hastaların 1/3'ünde lenfadenopati ve/veya splenomegali mevcut olduğu görülmüştür.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Sağlıklı kontrol grubunda toplam B hücre, transisyonel B hücre ve naif B hücre sayılarının artan yaş ile birlikte azaldığı saptanmıştır ( $p<0,01$ ).
2. Hasta grubuna ait KREC ortanca sayısı (1644 kopya/ml (47 - 34.000)), sağlıklı 41 kontrolün arasından seçilen hasta grubu ile aynı yaş ortalamasına sahip 19 kontrolün KREC ortanca sayısından (8767 kopya/ml (1.500-29.285)) düşük olarak bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
3. Hem hasta hem de kontrol grubunda KREC sayıları ile toplam B hücre sayıları arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ( $p<0,01$ ). Bu nedenle KREC sayıları düşük bulunan bireylerin B hücre yetmezlikleri açısından izlenmesi önerilmektedir.
4. Sağlıklı kontrol grubuna ait KREC sayılarının artan yaş ile birlikte azaldığı ( $p<0,01$ ) ve KREC sayılarının cinsiyetten etkilenmediği saptanmıştır.
5. Kontrol grubuna ait KREC sayıları ile B hücre alt gruplarının (transisyonel B hücre, naif B hücre, izotip dönüşü yapmış hafıza B hücre ve toplam hafıza B hücre) sayıları arasında da pozitif bir korelasyon bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
6. Hastaların IgA düzeylerinde takip süresince azalma olduğu ancak IgM düzeylerinde takip süresince azalma olmadığı dikkat çekmektedir.
7. Bu çalışmada hastalar tanı sırasında ve son ölçülen IgA ve IgM seviyelerine, CD4<sup>+</sup> T hücre lenfopenisi olma durumuna, takip edildikleri süre boyunca ölçülen minimum lenfosit sayılarına göre gruplandırılarak birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında saptanan istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirli grup hastalarda T ve B hücre etkileşiminin önemine işaret etmekte, bu durum da YDIY'nin heterojenliğini göstermektedir.
8. Bu çalışma ile sağlıklı popülasyona ait B hücre alt grup referans değerleri tablosu oluşturulmuştur.



## 7. KAYNAKLAR

1. Yong PFK, Thaventhiran JED, Grimbacher B. “A Rose is a Rose is a Rose,” but CVID is Not CVID. Common Variable Immune Deficiency (CVID), What do we Know in 2011? [Internet]. 1. baskı. C. 111, *Advances in Immunology*. Elsevier Inc.; 2011. 47-107 s. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-385991-4.00002-7>
2. Warnatz K, Denz A, Dra R, Braun M, Groth C, Wolff-vorbeck G, vd. Severe deficiency of switchedmemory B cells (CD27+IgM-IgD-) in subgroups of patients with common variable immunodeficiency: a new approach to classify a heterogeneous disease. *Blood*. 2002;99(5):1544–51.
3. Piqueras B, Galicier L, Cruyssen FBDER. Common Variable Immunodeficiency Patient Classification Based on Impaired B Cell Memory Differentiation Correlates with Clinical Aspects. *J Clin Immunol*. 2003;23(5):385–400.
4. Wehr C, Kivioja T, Schmitt C, Ferry B, Witte T, Eren E, vd. The EUROclass trial: defining subgroups in common variableimmunodeficiency. *Blood*. 2008;111(1):77–86.
5. Driessen GJ, Van Zelm MC, Van Hagen PM, Hartwig NG, Trip M, Warris A, vd. B-cell replication history and somatic hypermutation status identify distinct pathophysiologic backgrounds in common variable immunodeficiency. *Blood*. 2011;118(26):6814–23.
6. Serana F, Chiarini M, Zanotti C, Sottini A, Bertoli D, Bosio A, vd. Use of V(D)J recombination excision circles to identify T- and B-cell defects and to monitor the treatment in primary and acquired immunodeficiencies. *J Transl Med* [Internet]. 2013;11(1):1. Available at: *Journal of Translational Medicine*
7. Chiarini M, Zanotti C, Serana F, Sottini A, Bertoli D, Caimi L, vd. T-cell receptor and K-deleting recombination excision circles in newborn screening of T-and B-cell defects: review of the literature and future challenges. *J Public health Res* [Internet]. 2013;2(1):9–16. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov.proxy.unibs.it/pmc/articles/PMC4140322/pdf/jphr-2013-1-e3.pdf>
8. Sottini A, Serana F, Bertoli D, Chiarini M, Valotti M, Vaglio Tessitore M, vd. Simultaneous Quantification of T-Cell Receptor Excision Circles (TRECs) and K-Deleting Recombination Excision Circles (KRECs) by Real-time PCR. *J Vis Exp* [Internet]. 2014;(94):1–10. Available at: <http://www.jove.com/video/52184/simultaneous-quantification-t-cell-receptor-excision-circles-trecs-k>
9. van Zelm MC, Szczepański T, van der Burg M, van Dongen JJM. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B cell expansion. *J Exp Med* [Internet]. 2007;204(3):645–55. Available at: <http://www.jem.org/lookup/doi/10.1084/jem.20060964>
10. BRUTON OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* [Internet]. Haziran 1952 [kaynak 29 Ekim 2018];9(6):722–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14929630>

11. Picard C, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, vd. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2018;38(1):96–128.
12. Yu JE, Orange JS, Demirdag YY. New primary immunodeficiency diseases. *Curr Opin Pediatr* [Internet]. 2018;1. Available at: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00008480-900000000-98929>
13. Al-Mousa H, Al-Saud B. Primary immunodeficiency diseases in highly consanguineous populations from Middle East and North Africa: Epidemiology, diagnosis, and care. *Front Immunol*. 2017;8(JUN):1–7.
14. Tadmouri GO, Nair P, Obeid T, Al Ali MT, Al Khaja N, Hamamy HA. Consanguinity and reproductive health among Arabs. *Reprod Health*. 2009;6(1):1–9.
15. Aghamohammadi A, Mohammadinejad P, Abolhassani H, Mirminachi B, Movahedi M, Gharagozlou M, vd. Primary immunodeficiency disorders in Iran: Update and new insights from the third report of the national registry. *J Clin Immunol*. 2014;34(4):478–90.
16. Rubin Z, Pappalardo A, Schwartz A, Antoon JW. Prevalence and Outcomes of Primary Immunodeficiency in Hospitalized Children in the United States. *J Allergy Clin Immunol Pract* [Internet]. 2018;6(5):1705–1710.e1. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2017.12.848>
17. Francisco S, Ave P, Francisco S, Morena D La, Scott G, Scott P, vd. HHS Public Access Author manuscript 11 Screening Programs in the United States. 2015;312(7):729–38.
18. Kilic SS, Ozel M, Hafizoglu D, Karaca NE, Aksu G, Kutukculer N. The Prevalences and Patient Characteristics of Primary Immunodeficiency Diseases in Turkey—Two Centers Study. *J Clin Immunol* [Internet]. 15 Ocak 2013 [kaynak 29 Ekim 2018];33(1):74–83. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10875-012-9763-3>
19. Sanal O, Tezcan I. Thirty years of primary immunodeficiencies in Turkey. *Ann N Y Acad Sci*. 2011;1238(1):15–23.
20. ESID. ESID Registry – Working Definitions for Clinical Diagnosis of PID. 2015;(Cid):1–15.
21. Ameratunga R, Brewerton M, Slade C, Slade C, Jordan A, Gillis D, vd. Comparison of diagnostic criteria for common variable immunodeficiency disorder. *Front Immunol* [Internet]. 2014;5(415):1–9. Available at: [http://www.allergyspecialist.co.nz/Comparison\\_of\\_diagnostic\\_criteria\\_for\\_common\\_variable\\_immunodeficiency\\_disorder.pdf](http://www.allergyspecialist.co.nz/Comparison_of_diagnostic_criteria_for_common_variable_immunodeficiency_disorder.pdf)
22. ESID - European Society for Immunodeficiencies [Internet]. [kaynak 01 Kasım 2018]. Available at: <https://esid.org/Working-Parties/Clinical-Working-Party/Resources/Diagnostic-criteria-for-PID2>
23. Marschall K, Hoernes M, Bitzenhofer-Grüber M, Jandus P, Duppenthaler A, Wuillemin WA, vd. The Swiss National Registry for Primary

- Immunodeficiencies: report on the first 6 years' activity from 2008 to 2014. *Clin Exp Immunol*. 2015;182(1):45–50.
24. Ludviksson BR, Sigurdardottir ST, Johannsson JH, Haraldsson A, Hardarson TO. Epidemiology of Primary Immunodeficiency in Iceland. *J Clin Immunol*. 2015;35(1):75–9.
  25. The C, Pid F. The French national registry of primary immunodeficiency diseases. *Clin Immunol* [Internet]. 2010;135(2):264–72. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2010.02.021>
  26. Edgar JDM, Buckland M, Guzman D, Conlon NP, Knerr V, Bangs C, vd. The United Kingdom Primary Immune Deficiency (UKPID) Registry: Report of the first 4 years' activity 2008-2012. *Clin Exp Immunol*. 2014;175(1):68–78.
  27. Matamoros Florí N, Mila Llambi J, Español Boren T, Raga Borja S, Fontan Casariego G. Primary immunodeficiency syndrome in Spain: first report of the National Registry in Children and Adults. *J Clin Immunol* [Internet]. Temmuz 1997 [kaynak 01 Kasım 2018];17(4):333–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9258772>
  28. Westh L, Mogensen TH, Dalgaard LS, Bernth Jensen JM, Katzenstein T, Hansen A-BE, vd. Identification and Characterization of a Nationwide Danish Adult Common Variable Immunodeficiency Cohort. *Scand J Immunol* [Internet]. Haziran 2017 [kaynak 01 Kasım 2018];85(6):450–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28370285>
  29. Stray-Pedersen A, Abrahamsen TG, Frøland SS. Primary immunodeficiency diseases in Norway. *J Clin Immunol* [Internet]. Kasım 2000 [kaynak 01 Kasım 2018];20(6):477–85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11202238>
  30. Gathmann B, Mahlaoui N, CEREDIH L, Gérard L, Oksenhendler E, Warnatz K, vd. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. Temmuz 2014 [kaynak 31 Ekim 2018];134(1):116–26. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674914000293>
  31. Lebien TW, Tedder TF. B lymphocytes: How they develop and function. *Blood*. 2008;112(5):1570–80.
  32. GOOD RA, ZAK SJ. Disturbances in gamma globulin synthesis as experiments of nature. *Pediatrics* [Internet]. Temmuz 1956 [kaynak 02 Kasım 2018];18(1):109–49. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13335330>
  33. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology [Internet]. 2015 [kaynak 07 Kasım 2018]. Available at: <http://www.worldcat.org/title/cellular-and-molecular-immunology/oclc/885376285>
  34. Pieper K, Grimbacher B, Eibel H. B-cell biology and development. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2013;131(4):959–71. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2013.01.046>

35. Gathings WE, Lawton AR, Cooper MD. Immunofluorescent studies of the development of pre-B cells, B lymphocytes and immunoglobulin isotype diversity in humans. *Eur J Immunol*. 1977;7(11):804–10.
36. Geisberger R, Lamers M, Achatz G. The riddle of the dual expression of IgM and IgD. *Immunology*. 2006;118(4):429–37.
37. Pillai S, Cariappa A. The follicular versus marginal zone B lymphocyte cell fate decision. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2009;9(11):767–77. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nri2656>
38. Tonegawa S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature* [Internet]. 14 Nisan 1983 [kaynak 07 Kasım 2018];302(5909):575–81. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/302575a0>
39. Alt FW, Blackwell TK, Yancopoulos GD, Alt FW, Blackwell TK, Yancopoulos GD. Development of the Primary Antibody Repertoire Linked references are available on JSTOR for this article: Development of the Primary Antibody Repertoire. 2016;238(4830):1079–87.
40. Alt FW, Yancopoulos GD, Blackwell TK, Wood' C, Thomas1' E, Boss1' M, vd. Ordered rearrangement of immunoglobulin heavy chain variable region segments. *EMBO Journal*. 1984;3(6):1209–19.
41. Kudo A, Melchers F. A second gene, VpreB in the lambda 5 locus of the mouse, which appears to be selectively expressed in pre-B lymphocytes. *EMBO J*. 1987;6(8):2267–72.
42. Sakaguchi N, Melchers F.  $\lambda 5$ , a new light-chain-related locus selectively expressed in pre-B lymphocytes. *Nature* [Internet]. 11 Aralık 1986 [kaynak 07 Kasım 2018];324(6097):579–82. Available at: <http://www.nature.com/articles/324579a0>
43. Kerr WG, Cooper MD, Feng L, Burrows PD, Hendershot LM. Mu heavy chains can associate with a pseudo-light chain complex ( $\psi$  L) in human pre-B cell lines. *Int Immunol* [Internet]. 1989 [kaynak 07 Kasım 2018];1(4):355–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2518725>
44. Karasuyama H, Kudo A, Melchers F. The proteins encoded by the VpreB and lambda 5 pre-B cell-specific genes can associate with each other and with mu heavy chain. *J Exp Med* [Internet]. 1990;172(3):969–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2117638> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2188555>
45. Takeshi T. The Products of Pre-B Cell-specific Genes ( $\lambda 5$  and VpreB). *Jem*. 1990;172(September):973–6.
46. Mak TW, Saunders ME (Scientific editor), Jett BD, Augmentation of (work): Mak TW. Primer to The immune response. 2. baskı. 2014. 702 s.
47. Vihinen M. Bruton tyrosine kinase (BTK) in X-linked agammaglobulinemia (XLA). *Front Biosci* [Internet]. 2000;5(1):d917. Available at: <http://www.bioscience.org/2000/v5/d/vihinen/list.htm>
48. Liu M, Schatz DG. Balancing AID and DNA repair during somatic hypermutation [Internet]. C. 30, Trends in Immunology. 2009 [kaynak 30 Aralık

- 2018]. s. 173–81. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19303358>
49. Neuberger MS. Antibody diversification by somatic mutation: From Burnet onwards [Internet]. C. 86, Immunology and Cell Biology. 2008 [kaynak 30 Aralık 2018]. s. 124–32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18180793>
  50. Peled JU, Kuang FL, Iglesias-Ussel MD, Roa S, Kalis SL, Goodman MF, vd. The Biochemistry of Somatic Hypermutation. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 27 Nisan 2008 [kaynak 30 Aralık 2018];26(1):481–511. Available at: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.immunol.26.021607.090236>
  51. Cerutti A. The regulation of IgA class switching [Internet]. C. 8, Nature Reviews Immunology. Nature Publishing Group; 2008 [kaynak 31 Aralık 2018]. s. 421–34. Available at: <http://www.nature.com/articles/nri2322>
  52. Schatz DG, Ji Y. Recombination centres and the orchestration of V(D)J recombination [Internet]. C. 11, Nature Reviews Immunology. 2011 [kaynak 04 Ocak 2019]. s. 251–63. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21394103>
  53. Jung D, Giallourakis C, Mostoslavsky R, Alt FW. MECHANISM AND CONTROL OF V(D)J RECOMBINATION AT THE IMMUNOGLOBULIN HEAVY CHAIN LOCUS. *Annu Rev Immunol* [Internet]. Nisan 2006 [kaynak 04 Ocak 2019];24(1):541–70. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16551259>
  54. Siminovitch KA, Bakhshi A, Goldman P, Korsmeyer SJ. A uniform deleting element mediates the loss of kappa genes in human B cells. *Nature* [Internet]. [kaynak 03 Aralık 2018];316(6025):260–2. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3927169>
  55. Beishuizen A, De Bruijn MAC, Pongers-Willemse MJ, Verhoeven MAJ, Van Wering ER, Hählen K, vd. Heterogeneity in junctional regions of immunoglobulin kappa deleting element rearrangements in B cell leukemias: A new molecular target for detection of minimal residual disease. *Leukemia*. 1997;11(12):2200–7.
  56. Gimble JM, Max EE. Human immunoglobulin kappa gene enhancer: chromatin structure analysis at high resolution. *Mol Cell Biol*. 1987;7(1):15–25.
  57. Liu Z, Garrard WT. Long-Range Interactions between Three Transcriptional Enhancers, Active V Gene Promoters, and a 3' Boundary Sequence Spanning 46 Kilobases. *Mol Cell Biol* [Internet]. 2005;25(8):3220–31. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1069589&tool=pmcentrez&rendertype=abstract%5Cnhttp://mcb.asm.org/cgi/doi/10.1128/MCB.25.8.3220-3231.2005>
  58. Meyer KB, Sharpe MJ, Surani MA, Neuberger MS. The importance of the 3'-enhancer region in immunoglobulin x gene expression. *Nucleic Acids Res*. 1990;18(19):5609–15.
  59. Xiang Y, Garrard WT. The Downstream Transcriptional Enhancer, Ed,

- Positively Regulates Mouse Igk Gene Expression and Somatic Hypermutation. 2009;180(10):6725–32.
60. Inlay M, Alt FW, Baltimore D, Xu Y. Essential roles of the  $\kappa$  light chain intronic enhancer and 3' enhancer in  $\kappa$  rearrangement and demethylation. *Nat Immunol*. 2002;3(5):463–8.
  61. Lenardo M, Pierce JW BD. Protein-Binding Sites in Ig Gene Enhancers Determine Transcriptional Activity and Inducibility. *Science* (80- ). 1987;236(4808):1573–7.
  62. Xu Y, Davidson L, Alt FW, Baltimore D. Deletion of the IgK Light Chain Intronic Enhancer/Matrix Attachment Region Impairs but Does Not Abolish VKJK Rearrangement. 2009;4:2009.
  63. Pongubala JMR, Nagulapalli S, Klemsz MJ, Mckercher SR, Maki RA, Atchison ' ML. PU.1 Recruits a Second Nuclear Factor to a Site Important for Immunoglobulin K 3' Enhancer Activity. *Mol Cell Biol* [Internet]. 1992;12(1):368–78. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC364131/pdf/molcellb00025-0390.pdf>
  64. Schanke JT, Van Ness BG. Organization of the transcription factor binding sites in the kappa Ig intron enhancer. Effects of position, orientation, and spacing. *J Immunol* [Internet]. 15 Kasım 1994 [kaynak 04 Aralık 2018];153(10):4565–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7963528>
  65. Alt FW, Enea V, Bothwell ALM, Baltimore D. Activity of multiple light chain genes in murine myeloma cells producing a single, functional light chain. *Cell*. 1980;21(1):1–12.
  66. Hieter PA, Korsmeyer SJ, Waldmann TA, Leder P. Human immunoglobulin kappa light-chain genes are deleted or rearranged in lambda-producing B cells. *Nature* [Internet]. 02 Nisan 1981 [kaynak 04 Aralık 2018];290(5805):368–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6783958>
  67. Korsmeyer SJ, Hieter PA, Sharrow SO, Goldman CK, Leder P WT. Normal human B cells display ordered light chain gene rearrangements and deletions. *J Exp Med*. 1982;156(October):975–85.
  68. Van der Burg M, Tümkaya T, Boerma M, De Bruin-Versteeg S, Langerak AW, Van Dongen JJM. Ordered recombination of immunoglobulin light chain genes occurs at the IGK locus but seems less strict at the IGL locus. *Blood*. 2001;97(4):1001–8.
  69. Siminovitch KA, Bakhshi A, Goldman P KS. A uniform deleting element mediates the loss of kappa genes in human B cells. *Nature* [Internet]. 1985;316(6003):260–2. Available at: <http://www.nature.com/nature/journal/v313/n5997/abs/313047a0.html>
  70. Graninger WB, Goldman PL, Morton CC, O'Brien SJ KS. The kappa-deleting element. Germline and rearranged, duplicated and dispersed forms. *J Exp Med*. 1988;167(February):488–501.
  71. Langerak AW, Nadel B, Torbal A De, Wolvers-tettero ILM, Gastel-mol EJ Van,

- Verhaaf B, vd. Unraveling the consecutive recombination events in the human IGK locus. *J Immunol*. 2004;173:3878–3888.
72. Seriu T, Hansen-Hagge TE, Stark Y, Bartram CR. Immunoglobulin kappa gene rearrangements between the kappa deleting element and Jkappa recombination signal sequences in acute lymphoblastic leukemia and normal hematopoiesis. *Leukemia* [Internet]. Nisan 2000 [kaynak 04 Aralık 2018];14(4):671–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10764153>
  73. van Dongen JJM, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PAS, Hummel M, Lavender FL, vd. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: Report of the BIOMED-2 concerted action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003;17(12):2257–317.
  74. Motta M, Chiarini M, Ghidini C, Zanotti C, Lamorgese C, Caimi L, vd. Quantification of newly produced B and T lymphocytes in untreated chronic lymphocytic leukemia patients. *J Transl Med* [Internet]. 2010;8(1):111. Available at: <http://www.translational-medicine.com/content/8/1/111>
  75. Nakagawa N, Imai K, Kanegane H, Sato H, Yamada M, Kondoh K, vd. Quantification of  $\kappa$ -deleting recombination excision circles in Guthrie cards for the identification of early B-cell maturation defects. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(1):223–5.
  76. Serana F, Airò P, Chiarini M, Zanotti C, Scarsi M, Frassi M, vd. Thymic and bone marrow output in patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2011;31(4):540–9.
  77. Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsuiki N, Ohara O, vd. Common variable immunodeficiency classification by quantifying T-cell receptor and immunoglobulin  $\kappa$ -deleting recombination excision circles. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(5):1437–40.
  78. Hershfield MS, Buckley RH, Greenberg ML, Melton AL, Schiff R, Hatem C, Kurtzberg J, Markert ML, Kobayashi RH, Kobayashi AL AA. Treatment of adenosine deaminase deficiency with polyethylene glycol-modified adenosine deaminase. *N Engl J Med*. 1987;316:589–596.
  79. Transplantation HS, The FOR, Of T, Combined S. Hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med*. 1999;340:508–16.
  80. Mitnick CD, Shin SS, Seung KJ, Rich ML, Atwood SS, Furin JJ, vd. Gene Therapy for Immunodeficiency Due to Adenosine Deaminase Deficiency. *N Engl J Med*. 2009;360:447–458.
  81. Hacein-Bey-Abina S, Hauer J, Lim A, Picard C, Wang GP, Berry CC, vd. Efficacy of Gene Therapy for X-Linked Severe Combined Immunodeficiency. *N Engl J Med* [Internet]. 2010;363(4):355–64. Available at: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1000164>
  82. Gaspar HB, Cooray S, Gilmour KC, Parsley KL, Adams S, Howe SJ, vd. Immunodeficiency: Long-term persistence of a polyclonal t cell repertoire after

- gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *Sci Transl Med*. 2011;3(97):1–8.
83. Brown L, Xu-Bayford J, Allwood Z, Slatter M, Cant A, Davies EG, vd. Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly improved survival outcome: The case for newborn screening. *Obstet Gynecol Surv*. 2011;66(7):398–9.
  84. Buckley RH. Transplantation of hematopoietic stem cells in human severe combined immunodeficiency: Longterm outcomes. *Immunol Res*. 2011;49(1–3):25–43.
  85. Puck JM. Population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency: Steps toward implementation. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120(4):760–8.
  86. Morinishi Y, Imai K, Nakagawa N, Sato H, Horiuchi K, Ohtsuka Y, vd. Identification of severe combined immunodeficiency by T-cell receptor excision circles quantification using neonatal Guthrie cards. *J Pediatr* [Internet]. 2009;155(6):829–33. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.05.026>
  87. Sottini A, Ghidini C, Zanotti C, Chiarini M, Caimi L, Lanfranchi A, vd. Simultaneous quantification of recent thymic T-cell and bone marrow B-cell emigrants in patients with primary immunodeficiency undergone to stem cell transplantation. *Clin Immunol* [Internet]. 2010;136(2):217–27. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2010.04.005>
  88. Mensen A, Ochs C, Stroux A, Wittenbecher F, Szyska M, Imberti L, vd. Utilization of TREC and KREC quantification for the monitoring of early T- and B-cell neogenesis in adult patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Transl Med*. 2013;11(1):6–9.
  89. Lev A, Simon AJ, Bareket M, Bielorai B, Hutt D, Amariglio N, vd. The kinetics of early T and B cell immune recovery after bone marrow transplantation in RAG-2-deficient SCID patients. *PLoS One*. 2012;7(1).
  90. Barbaro M, Ohlsson A, Borte S, Jonsson S, Zetterström RH, King J, vd. Newborn Screening for Severe Primary Immunodeficiency Diseases in Sweden—a 2-Year Pilot TREC and KREC Screening Study. *J Clin Immunol* [Internet]. 2017;37(1):51–60. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s10875-016-0347-5>
  91. M.A. P, J.T. L, J.B. H, D.E. M, R.S. A. Common variable immunodeficiency: a new look at an old disease. *Lancet* [Internet]. 2008;372(9637):489–502. Available at: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed8&NEWS=N&AN=2008373052>
  92. Kumar Y, Bhatia A. Common variable immunodeficiency in adults: Current diagnostic protocol and laboratory measures. *Expert Rev Clin Immunol*. 2013;9(10):959–77.
  93. Lin LJ, Wang YC, Liu XM. Clinical and immunological features of common



- variable immunodeficiency in China. *Chin Med J (Engl)*. 2015;128(3):310–5.
94. Quinti I, Soresina A, Guerra A, Rondelli R, Spadaro G, Agostini C, vd. Effectiveness of immunoglobulin replacement therapy on clinical outcome in patients with primary antibody deficiencies: Results from a multicenter prospective cohort study. *J Clin Immunol*. 2011;31(3):315–22.
  95. Lucas M, Lee M, Lortan J, Lopez-Granados E, Misbah S, Chapel H. Infection outcomes in patients with common variable immunodeficiency disorders: Relationship to immunoglobulin therapy over 22 years. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010;125(6):1354–1360.e4. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2010.02.040>
  96. Orange JS, Grossman WJ, Navickis RJ, Wilkes MM. Impact of trough IgG on pneumonia incidence in primary immunodeficiency: A meta-analysis of clinical studies. *Clin Immunol* [Internet]. 2010;137(1):21–30. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2010.06.012>
  97. Ballou M. Optimizing immunoglobulin treatment for patients with primary immunodeficiency disease to prevent pneumonia and infection incidence: Review of the current data. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2013;111(6 SUPPL.):S2–5. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2013.06.013>
  98. Maarschalk-Ellerbroek LJ, de Jong PA, van Montfrans JM, Lammers JWJ, Bloem AC, Hoepelman AIM, vd. CT Screening for Pulmonary Pathology in Common Variable Immunodeficiency Disorders and the Correlation with Clinical and Immunological Parameters. *J Clin Immunol*. 2014;34(6):642–54.
  99. Hampson FA, Chandra A, Sreaton NJ, Condliffe A, Kumararatne DS, Exley AR, vd. Respiratory disease in common variable immunodeficiency and other primary immunodeficiency disorders. *Clin Radiol*. 2012;67(6):587–95.
  100. Maglione PJ, Ko HM, Beasley MB, Strauchen JA, Cunningham-Rundles C. Tertiary lymphoid neogenesis is a component of pulmonary lymphoid hyperplasia in patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2014;133(2):535–42. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2013.08.022>
  101. Bates CA, Ellison MC, Lynch DA, Cool CD, Brown KK, Routes JM. Granulomatous-lymphocytic lung disease shortens survival in common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(2):415–21.
  102. Bouvry D, Mouthon L, Brillet PY, Kambouchner M, Ducroix JP, Cottin V, vd. Granulomatosis-associated common variable immunodeficiency disorder: A case - Control study versus sarcoidosis. *Eur Respir J*. 2013;41(1):115–22.
  103. Roifman CM, Levison H GE. High-dose versus low-dose intravenous immunoglobulin in hypogammaglobulinaemia and chronic lung disease. *Lancet*. 1987;1:1075–7.
  104. Chase NM, Verbsky JW, Hintermeyer MK, Waukau JK, Tomita-Mitchell A, Casper JT, vd. Use of combination chemotherapy for treatment of granulomatous and lymphocytic interstitial lung disease (GLILD) in patients

- with common variable immunodeficiency (CVID). *J Clin Immunol*. 2013;33(1):30–9.
105. Prasse A, Kayser G, Warnatz K. Common variable immunodeficiency-associated granulomatous and interstitial lung disease. *Curr Opin Pulm Med*. 2013;19(5):503–9.
  106. Abbott JK, Gelfand EW. Common Variable Immunodeficiency. Diagnosis, Management, and Treatment. *Immunol Allergy Clin North Am* [Internet]. 2015;35(4):637–58. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.iac.2015.07.009>
  107. Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: Clinical and immunological features of 248 patients. *Clin Immunol*. 1999;92(1):34–48.
  108. Boileau J, Mouillot G, Gérard L, Carmagnat M, Rabian C, Oksenhendler E, vd. Autoimmunity in common variable immunodeficiency: Correlation with lymphocyte phenotype in the French DEFI study. *J Autoimmun* [Internet]. 2011;36(1):25–32. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaut.2010.10.002>
  109. Wang J, Cunningham-Rundles C. Treatment and outcome of autoimmune hematologic disease in common variable immunodeficiency (CVID). *J Autoimmun*. 2005;25(1):57–62.
  110. Gobert D, Bussel JB, Cunningham-Rundles C, Galicier L, Dechartres A, Berezne A, vd. Efficacy and safety of rituximab in common variable immunodeficiency-associated immune cytopenias: A retrospective multicentre study on 33 patients. *Br J Haematol*. 2011;155(4):498–508.
  111. Cunningham-Rundles C. Hematologic complications of primary immune deficiencies. *Blood Rev*. 2002;16(1):61–4.
  112. Boursiquot JN, Gérard L, Malphettes M, Fieschi C, Galicier L, Boutboul D, vd. Granulomatous disease in CVID: Retrospective analysis of clinical characteristics and treatment efficacy in a cohort of 59 patients. *J Clin Immunol*. 2013;33(1):84–95.
  113. Ardeniz Ö, Cunningham-Rundles C. Granulomatous disease in common variable immunodeficiency. *Clin Immunol* [Internet]. 01 Kasım 2009 [kaynak 30 Aralık 2018];133(2):198–207. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1521661609006615>
  114. Unger S, Seidl M, Schmitt-Graeff A, Böhm J, Schrenk K, Wehr C, vd. Ill-Defined Germinal Centers and Severely Reduced Plasma Cells are Histological Hallmarks of Lymphadenopathy in Patients with Common Variable Immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2014;34(6):615–26.
  115. Hatab AZ, Ballas ZK. Caseating granulomatous disease in common variable immunodeficiency treated with infliximab [3]. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116(5):1161–2.
  116. Mechanic LJ, Dikman S, Cunningham-Rundles C. Granulomatous Disease in Common Variable Immunodeficiency. *Ann Intern Med* [Internet]. 15 Ekim 1997 [kaynak 30 Aralık 2018];127(8\_Part\_1):613. Available at: [http://annals.org/article.aspx?doi=10.7326/0003-4819-127-8\\_Part\\_1-](http://annals.org/article.aspx?doi=10.7326/0003-4819-127-8_Part_1-)

199710150-00005

117. Franxman TJ, Howe LE, Baker JR. Infliximab for Treatment of Granulomatous Disease in Patients with Common Variable Immunodeficiency. *J Clin Immunol* [Internet]. 27 Ekim 2014 [kaynak 30 Aralık 2018];34(7):820–7. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10875-014-0079-3>
118. Lin JH, Liebhaber M, Roberts RL, Dyer Z, Stiehm ER. Etanercept treatment of cutaneous granulomas in common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 01 Nisan 2006 [kaynak 30 Aralık 2018];117(4):878–82. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674906002934>
119. Thatayatikom A, Thatayatikom S, White AJ. Infliximab treatment for severe granulomatous disease in common variable immunodeficiency: A case report and review of the literature [Internet]. C. 95, *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*. Elsevier; 2005 [kaynak 30 Aralık 2018]. s. 293–300. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1081120610612288>
120. Quinti I, Agostini C, Tabolli S, Brunetti G, Cinetto F, Pecoraro A, vd. Malignancies are the major cause of death in patients with adult onset common variable immunodeficiency [Internet]. C. 120, *Blood*. American Society of Hematology; 2012 [kaynak 30 Aralık 2018]. s. 1953–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22936739>
121. Kinlen LJ, Webster ADB, Bird AG, Haile R, Peto J, Soothill JF, vd. PROSPECTIVE STUDY OF CANCER IN PATIENTS WITH HYPOGAMMAGLOBULINAEMIA. *Lancet* [Internet]. 02 Şubat 1985 [kaynak 30 Aralık 2018];325(8423):263–6. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673685910372>
122. Vajdic CM, Mao L, Van Leeuwen MT, Kirkpatrick P, Grulich AE, Riminton S. Are antibody deficiency disorders associated with a narrower range of cancers than other forms of immunodeficiency? *Blood* [Internet]. 26 Ağustos 2010 [kaynak 30 Aralık 2018];116(8):1228–34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20466855>
123. Bloom KA, Chung D, Cunningham-Rundles C. Osteoarticular infectious complications in patients with primary immunodeficiencies [Internet]. C. 20, *Current Opinion in Rheumatology*. Current Opinion in Rheumatology; 2008 [kaynak 30 Aralık 2018]. s. 480–5. Available at: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00002281-200807000-00018>
124. Lee AH, Levinson AI, Schumacher HR. Hypogammaglobulinemia and rheumatic disease. *Semin Arthritis Rheum* [Internet]. 01 Şubat 1993 [kaynak 30 Aralık 2018];22(4):252–64. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0049017293800730>
125. Swierkot J, Lewandowicz-Uszynska A, Chlebicki A, Szmyrka-Kaczmarek M, Polańska B, Jankowski A, vd. Rheumatoid arthritis in a patient with common variable immunodeficiency: Difficulty in diagnosis and therapy. *Clin Rheumatol* [Internet]. 07 Şubat 2006 [kaynak 30 Aralık 2018];25(1):92–4. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10067-005-1141-6>

126. Cunningham-Rundles C. The many faces of common variable immunodeficiency. *Hematology* [Internet]. 2012 [kaynak 30 Aralık 2018];1:301–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23233596>
127. Malamut G, Verkarre V, Suarez F, Viallard JF, Lascaux AS, Cosnes J, vd. The enteropathy associated with common variable immunodeficiency: The delineated frontiers with celiac disease. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 15 Ekim 2010 [kaynak 30 Aralık 2018];105(10):2262–75. Available at: <http://www.nature.com/articles/ajg2010214>
128. Agarwal S, Mayer L. Diagnosis and Treatment of Gastrointestinal Disorders in Patients With Primary Immunodeficiency [Internet]. C. 11, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. W.B. Saunders; 2013 [kaynak 30 Aralık 2018]. s. 1050–63. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1542356513003133>
129. van de Ven AAJM, Janssen WJM, Schulz LS, van Loon AM, Voorkamp K, Sanders EAM, vd. Increased Prevalence of Gastrointestinal Viruses and Diminished Secretory Immunoglobulin a Levels in Antibody Deficiencies. *J Clin Immunol* [Internet]. 19 Kasım 2014 [kaynak 30 Aralık 2018];34(8):962–70. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10875-014-0087-3>
130. Woodward JM, Gkrania-Klotsas E, Cordero-Ng AY, Aravinthan A, Bandoh BN, Liu H, vd. The role of chronic norovirus infection in the enteropathy associated with common variable immunodeficiency. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 27 Şubat 2015 [kaynak 30 Aralık 2018];110(2):320–7. Available at: <http://www.nature.com/articles/ajg2014432>
131. Chua I, Standish R, Lear S, Harbord M, Eren E, Raeiszadeh M, vd. Anti-tumour necrosis factor- $\alpha$  therapy for severe enteropathy in patients with common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Exp Immunol* [Internet]. 05 Eylül 2007 [kaynak 30 Aralık 2018];150(2):306–11. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2249.2007.03481.x>
132. Fuss IJ, Friend J, Yang Z, He JP, Hooda L, Boyer J, vd. Nodular regenerative hyperplasia in Common Variable Immunodeficiency. *J Clin Immunol* [Internet]. 19 Mayıs 2013 [kaynak 30 Aralık 2018];33(4):748–58. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10875-013-9873-6>
133. Daniels JA, Torbenson M, Vivekanandan P, Anders RA, Boitnott JK. Hepatitis in common variable immunodeficiency. *Hum Pathol* [Internet]. 01 Nisan 2009 [kaynak 30 Aralık 2018];40(4):484–8. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004681770800422X>
134. Pulvirenti F, Pentassuglio I, Milito C, Valente M, De Santis A, Conti V, vd. Idiopathic non cirrhotic portal hypertension and spleno-portal axis abnormalities in patients with severe primary antibody deficiencies. *J Immunol Res* [Internet]. 31 Mart 2014 [kaynak 30 Aralık 2018];2014:672458. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24741616>
135. Cunningham-Rundles C. How I treat common variable immune deficiency [Internet]. C. 116, *Blood*. The American Society of Hematology; 2010 [kaynak 30 Aralık 2018]. s. 7–15. Available at:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20332369>

136. de Valles-Ibáñez G, Esteve-Solé A, Piquer M, González-Navarro EA, Hernandez-Rodriguez J, Laayouni H, vd. Evaluating the Genetics of Common Variable Immunodeficiency: Monogenetic Model and Beyond. *Front Immunol* [Internet]. 14 Mayıs 2018 [kaynak 13 Aralık 2018];9:636. Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.00636/full>
137. Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, Costa-Carvalho BT, Cunningham-Rundles C, de la Morena MT, vd. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(1):38–59.
138. van Schouwenburg PA, Davenport EE, Kienzler AK, Marwah I, Wright B, Lucas M, vd. Application of whole genome and RNA sequencing to investigate the genomic landscape of common variable immunodeficiency disorders. *Clin Immunol* [Internet]. 2015;160(2):301–14. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2015.05.020>
139. Warnatz K, Salzer U, Rizzi M, Fischer B, Gutenberger S, Bohm J, vd. B-cell activating factor receptor deficiency is associated with an adult-onset antibody deficiency syndrome in humans. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2009;106(33):13945–50. Available at: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0903543106>
140. Grimbacher B, Hutloff A, Schlesier M, Glocker E, Warnatz K, Dräger R, vd. Homozygous loss of ICOS is associated with adult-onset common variable immunodeficiency. *Nat Immunol*. 2003;4(3):261–8.
141. Castigli E, Wilson SA, Garibyan L, Rachid R, Bonilla F, Schneider L, vd. TACI is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency. *Nat Genet*. 2005;37(8):829–34.
142. Salzer U, Chapel HM, Webster ADB, Pan-Hammarström Q, Schmitt-Graeff A, Schlesier M, vd. Mutations in TNFRSF13B encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. *Nat Genet*. 2005;37(8):820–8.
143. Salzer U, Maul-Pavicic A, Cunningham-Rundles C, Urschel S, Belohradsky BH, Litzman J, vd. ICOS deficiency in patients with common variable immunodeficiency. *Clin Immunol*. 2004;113(3):234–40.
144. Li J, Jørgensen SF, Maggadottir SM, Bakay M, Warnatz K, Glessner J, vd. Association of CLEC16A with human common variable immunodeficiency disorder and role in murine B cells. *Nat Commun*. 2015;6.
145. Burke JE. Structural Basis for Regulation of Phosphoinositide Kinases and Their Involvement in Human Disease. *Mol Cell* [Internet]. 2018;71(5):653–73. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.08.005>
146. Cheung LW, Mills GB. Targeting therapeutic liabilities engendered by PIK3R1 mutations for cancer treatment [Internet]. C. 17, Pharmacogenomics. 2016 [kaynak 04 Ocak 2019]. s. 297–307. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26807692>
147. Wentink MWJ, van Zelm MC, van Dongen JJM, Warnatz K, van der Burg M.

- Deficiencies in the CD19 complex. *Clin Immunol* [Internet]. 2018;195:82–7. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clim.2018.07.017>
148. Van Zelm MC, Smet J, Adams B, Mascart F, Schandené L, Janssen F, vd. CD81 gene defect in humans disrupts CD19 complex formation and leads to antibody deficiency. *J Clin Invest*. 2010;120(4):1265–74.
  149. Van De Ven AAJM, Compeer EB, Bloem AC, Van De Corput L, Van Gijn M, Van Montfrans JM, vd. Defective calcium signaling and disrupted CD20-B-cell receptor dissociation in patients with common variable immunodeficiency disorders. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012;129(3):755–761.e7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2011.10.020>
  150. Yu G, Boone T, Delaney J, Hawkins N, Kelley M, Ramakrishnan M, vd. APRIL and TALL-I and receptor BCMA and TACI: System for regulating humoral immunity. *Nat Immunol*. 2000;1(3):252–6.
  151. Zhang Y, Li J, Zhang YM, Zhang XM, Tao J. Effect of TACI signaling on humoral immunity and autoimmune diseases. *J Immunol Res*. 2015;2015(Cvid).
  152. Lougaris V, Baronio M, Moratto D, Cardinale F, Plebani A. Monoallelic BAFFR P21R/H159Y Mutations and Familial Primary Antibody Deficiencies. *J Clin Immunol*. 2016;36(1):1–3.
  153. Bogaert DJA, Dullaers M, Lambrecht BN, Vermaelen KY, De Baere E, Haerynck F. Genes associated with common variable immunodeficiency: One diagnosis to rule them all? *J Med Genet*. 2016;53(9):575–90.
  154. Dong J, Liang H, Wen D, Wang J. Adult Common Variable Immunodeficiency. *Am J Med Sci*. 2016;351(3):239–43.
  155. Wentink MWJ, Lambeck AJA, van Zelm MC, Simons E, van Dongen JJM, Ijspeert H, vd. CD21 and CD19 deficiency: Two defects in the same complex leading to different disease modalities. *Clin Immunol* [Internet]. 2015;161(2):120–7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2015.08.010>
  156. Cells RED, Chakraborty PK, Schmitz-abe K, Kennedy EK, Mamady H, Naas T, vd. Mutations in TRNT1 cause congenital sideroblastic anemia with immunodeficiency, fevers, and developmental delay (SIFD). 2017;124(18):2867–72.
  157. Rider NL, Boisson B, Jyonouchi S, Hanson EP, Rosenzweig SD, Casanova J-L, vd. Novel TTC37 Mutations in a Patient with Immunodeficiency without Diarrhea: Extending the Phenotype of Trichohepatoenteric Syndrome. *Front Pediatr* [Internet]. 2015;3(January):10–3. Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fped.2015.00028/abstract>
  158. Tuijnenburg P, Lango Allen H, Burns SO, Greene D, Jansen MH, Staples E, vd. Loss-of-function nuclear factor  $\kappa$ B subunit 1 (NFKB1) variants are the most common monogenic cause of common variable immunodeficiency in Europeans. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;142(4):1285–96.
  159. Kuehn HS, Niemela JE, Sreedhara K, Stoddard JL, Grossman J, Wysocki CA, vd. Novel nonsense gain-of-function NFKB2 mutations associated with a combined immunodeficiency phenotype. *Blood*. 2017;130(13):1553–64.
  160. Kuehn HS, Boisson B, Cunningham-Rundles C, Reichenbach J, Stray-Pedersen

- A, Gelfand EW, vd. Loss of B Cells in Patients with Heterozygous Mutations in IKAROS. *N Engl J Med* [Internet]. 2016;374(11):1032–43. Available at: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1512234>
161. Keller MD, Pandey R, Li D, Glessner J, Tian L, Henrickson SE, vd. Mutation in IRF2BP2 is responsible for a familial form of common variable immunodeficiency disorder. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2016;138(2):544–550.e4. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2016.01.018>
  162. Yang DQ, Feng S, Chen W, Zhao H, Paulson C, Li YP. V-ATPase subunit ATP6AP1 (Ac45) regulates osteoclast differentiation, extracellular acidification, lysosomal trafficking, and protease exocytosis in osteoclast-mediated bone resorption. *J Bone Miner Res*. 2012;27(8):1695–707.
  163. Yong PFK, Salzer U, Grimbacher B. The role of costimulation in antibody deficiencies: ICOS and common variable immunodeficiency. *Immunol Rev*. 2009;229(1):101–13.
  164. Salzer E, Kansu A, Sic H, Májek P, Ikincioğullari A, Dogu FE, vd. Early-onset inflammatory bowel disease and common variable immunodeficiency-like disease caused by IL-21 deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(6).
  165. Clemente A, Pons J, Lanio N, Matamoros N, Ferrer JM. CD27+B cells from a subgroup of common variable immunodeficiency patients are less sensitive to apoptosis rescue regardless of interleukin-21 signalling. *Clin Exp Immunol*. 2013;174(1):97–108.
  166. Schwab C, Gabrysch A, Olbrich P, Patiño V, Warnatz K, Wolff D, vd. Phenotype, penetrance, and treatment of 133 cytotoxic T-lymphocyte antigen 4–insufficient subjects. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;1–15.
  167. Slatter MA, Engelhardt KR, Burroughs LM, Arkwright PD, Nademi Z, Skoda-Smith S, vd. Hematopoietic stem cell transplantation for CTLA4 deficiency. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2016;138(2):615–619.e1. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674916003808>
  168. Kostel Bal S, Haskologlu S, Serwas NK, Islamoglu C, Aytekin C, Kendirli T, vd. Multiple Presentations of LRBA Deficiency: a Single-Center Experience. *J Clin Immunol*. 2017;37(8):790–800.
  169. Shamriz O, Shadur B, NaserEddin A, Zaidman I, Simanovsky N, Elpeleg O, vd. Respiratory manifestations in LPS-responsive beige-like anchor (LRBA) protein-deficient patients. *Eur J Pediatr*. 2018;177(8):1163–72.
  170. Gu Y, Jia B, Yang FC, D’Souza M, Harris CE, Derrow CW, vd. Biochemical and Biological Characterization of a Human Rac2 GTPase Mutant Associated with Phagocytic Immunodeficiency. *J Biol Chem*. 2001;276(19):15929–38.
  171. Compeer EB, Janssen W, van Royen-Kerkhof A, van Gijn M, van Montfrans JM, Boes M. Dysfunctional BLK in common variable immunodeficiency perturbs B-cell proliferation and ability to elicit antigen-specific CD4<sup>+</sup> T-cell help. *Oncotarget* [Internet]. 2015;6(13). Available at: <http://www.oncotarget.com/fulltext/3577>

172. Capitanp N, Arianf F, Amedep A, Pezzicolp A, Matucci A, Troil AVA, vd. Vav1 HAPLOINSUFFICIENCY IN A COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY PATIENT WITH DEFECTIVE T-CELL FUNCTION Careggi , Florence , Italy Common variable immunodeficiency ( CVID ) is a primary immune disorder characterized by impaired antibody production , which is. 2012;25(3):811–7.
173. Brooks JP, Ghaffari G. Idiopathic CD4 lymphocytopenia. Allergy asthma Proc [Internet]. Kasım 2016 [kaynak 04 Ocak 2019];37(6):501–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27931306>
174. Oksenhendler E, Gérard L, Fieschi C, Malphettes M, Mouillot G, Jaussaud R, vd. Infections in 252 Patients with Common Variable Immunodeficiency. Clin Infect Dis [Internet]. 15 Mayıs 2008 [kaynak 04 Ocak 2019];46(10):1547–54. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18419489>
175. Ben-Yehuda A, Weksler ME. Immune senescence: Mechanisms and clinical implications. Cancer Invest. 1992;10(6):525–31.
176. Malaguarnera L, Ferlito L, Imbesi RM, Gulizia GS, Di Mauro S, Maugeri D, vd. Immunosenescence: a review. Arch Gerontol Geriatr [Internet]. Şubat 2001 [kaynak 29 Aralık 2018];32(1):1–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11251234>
177. Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. Immunosenescence of ageing. J Pathol [Internet]. Ocak 2007 [kaynak 29 Aralık 2018];211(2):144–56. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17200946>
178. Miller RA. The Aging Immune System : Primer and Prospectus. Science (80- ). 1996;273:70–4.
179. Kay MM, Mendoza J, Hausman S, Dorsey B. Age-related changes in the immune system of mice of eight medium and long-lived strains and hybrids. II. Short- and long-term effects of natural infection with parainfluenza type 1 virus (Sendai). Mech Ageing Dev [Internet]. Aralık 1979 [kaynak 29 Aralık 2018];11(5–6):347–62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/231153>
180. Ben-Yehuda A, Weksler ME. Host resistance and the immune system. Clin Geriatr Med [Internet]. Kasım 1992 [kaynak 29 Aralık 2018];8(4):701–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1423129>
181. Ginaldi L, Loreto MF, Corsi MP, Modesti M, De Martinis M. Immunosenescence and infectious diseases. Microbes Infect [Internet]. Ağustos 2001 [kaynak 29 Aralık 2018];3(10):851–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11580980>
182. Frasca D, Landin AM, Riley RL, Blomberg BB. Mechanisms for Decreased Function of B Cells in Aged Mice and Humans. J Immunol [Internet]. 2008;180(5):2741–6. Available at: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.180.5.2741>
183. Cancro MP, Hao Y, Scholz JL, Riley RL, Frasca D, Blomberg BB. B cells and aging: molecules and mechanisms. October. 2009;30(7):313–8.



184. Frasca D, Diaz A, Romero M, Landin AM, Blomberg BB. Age effects on B cells and humoral immunity in humans. *Ageing Res Rev* [Internet]. Temmuz 2011 [kaynak 29 Aralık 2018];10(3):330–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20728581>
185. Frasca D, Landin AM, Lechner SC, Ryan JG, Schwartz R, Riley RL, vd. Aging Down-Regulates the Transcription Factor E2A, Activation-Induced Cytidine Deaminase, and Ig Class Switch in Human B Cells. *J Immunol* [Internet]. 2008;180(8):5283–90. Available at: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.180.8.5283>
186. Frasca D, Riley RL, Blomberg BB. Humoral immune response and B-cell functions including immunoglobulin class switch are downregulated in aged mice and humans. *Semin Immunol* [Internet]. Ekim 2005 [kaynak 29 Aralık 2018];17(5):378–84. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15996480>
187. Min H, Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K. Effects of aging on early B- and T-cell development. *Immunol Rev* [Internet]. Haziran 2005 [kaynak 29 Aralık 2018];205(1):7–17. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15882341>
188. Johnson S, Cambier J. Ageing, autoimmunity and arthritis: senescence of the B cell compartment - implications for humoral immunity. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2004;6(4):131–9. Available at: <http://arthritis-research.com/content/6/4/131>
189. Bright P, Grigoriadou S, Kamperidis P, Buckland M, Hickey A, Longhurst HJ. Changes in B cell immunophenotype in common variable immunodeficiency: Cause or effect - is bronchiectasis indicative of undiagnosed immunodeficiency? *Clin Exp Immunol*. 2013;171(2):195–200.
190. Yazdani R, Seify R, Ganjalikhani-Hakemi M, Abolhassani H, Eskandari N, Golsaz-Shirazi F, vd. Comparison of various classifications for patients with common variable immunodeficiency (CVID) using measurement of B-cell subsets. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. Mart 2017 [kaynak 29 Aralık 2018];45(2):183–92. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27717724>
191. Al Kindi M, Mundy J, Sullivan T, Smith W, Kette F, Smith A, vd. Utility of peripheral blood B cell subsets analysis in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol*. 2012;167(2):275–81.
192. Chapel H, Lucas M, Lee M, Bjorkander J, Webster D, Grimbacher B, vd. Common Variable immunodeficiency disorders: Division into distinct clinical phenotypes. *Blood*. 2008;112(2):277–86.
193. Atschekzei F, Ahmad F, Witte T, Jacobs R, Schmidt RE. Limitation of simultaneous analysis of T-cell receptor and  $\kappa$ -deleting recombination excision circles based on multiplex real-time polymerase chain reaction in common variable immunodeficiency patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;171(2):136–40.
194. Serana F, Sottini A, Chiarini M, Zanotti C, Ghidini C, Lanfranchi A, vd. The

- Different Extent of B and T Cell Immune Reconstitution after Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Enzyme Replacement Therapies in SCID Patients with Adenosine Deaminase Deficiency. *J Immunol* [Internet]. 2010;185(12):7713–22. Available at: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.1001770>
195. Korsunskiy I, Blyuss O, Gordukova M, Davydova NV, Gordleeva SY, Molchanov R, vd. TREC and KREC levels as a predictors of lymphocyte subpopulations measured by flow cytometry. *Front Physiol* [Internet]. 2018 [kaynak 29 Aralık 2018];9:1877. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.01877/abstract>
  196. Wong GK, Huissoon AP. T-cell abnormalities in common variable immunodeficiency: The hidden defect. *J Clin Pathol*. 2016;69(8):672–6.
  197. NORTH ME, WEBSTER ADB, FARRANT J. Defects in proliferative responses of T cells from patients with common variable immunodeficiency on direct activation of protein kinase C. *Clin Exp Immunol*. 1991;85(2):198–201.
  198. Giovannetti A, Pierdominici M, Mazzetta F, Marziali M, Renzi C, Mileo AM, vd. Unravelling the Complexity of T Cell Abnormalities in Common Variable Immunodeficiency. *J Immunol* [Internet]. 2007;178(6):3932–43. Available at: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.178.6.3932>
  199. Mouillot G, Carmagnat M, Gérard L, Garnier JL, Fieschi C, Vince N, vd. B-cell and T-cell phenotypes in CVID patients correlate with the clinical phenotype of the disease. *J Clin Immunol*. 2010;30(5):746–55.
  200. Lanio N, Sarmiento E, Gallego A, Carbone J. Immunophenotypic profile of T cells in common variable immunodeficiency: is there an association with different clinical findings? *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 2009;37(1):14–20. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0546\(09\)70246-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0546(09)70246-0)
  201. Bateman EAL, Ayers L, Sadler R, Lucas M, Roberts C, Woods A, vd. T cell phenotypes in patients with common variable immunodeficiency disorders: Associations with clinical phenotypes in comparison with other groups with recurrent infections. *Clin Exp Immunol*. 2012;170(2):202–11.
  202. Hoffman W, Lakkis FG, Chalasani G. B cells, antibodies, and more. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016;11(1):137–54.
  203. Martin VG, Wu YCB, Townsend CL, Lu GHC, O’Hare JS, Mozeika A, vd. Transitional B cells in early human B cell development - Time to revisit the paradigm? *Front Immunol*. 2016;7(DEC):1–13.
  204. Vale AM, Schroeder HW, Jr. Clinical consequences of defects in B-cell development. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. Nisan 2010 [kaynak 30 Aralık 2018];125(4):778–87. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20371392>

## 8. EKLER

### Ek 1. Tez Çalışmasıyla İle İlgili Etik Kurul İzni



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

Sayı : 16969557 - 214

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

**Toplantı Tarihi** : 31 OCAK 2018 ÇARŞAMBA  
**Toplantı No** : 2018/03  
**Proje No** : GO 18/70 (Değerlendirme Tarihi: 16.01.2018)  
**Karar No** : GO 18/70-21

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. N. Deniz Çağdaş AYVAZ' ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. İlhan TEZCAN, Dr. Çağman TAN, Bio. Begüm ÖZBEK, Kim. Mehtap SÖNMEZ ile birlikte çalışacakları ve Bio. İsmail YAZ' ın yüksek lisans tezi olan, GO 18/70 kayıt numaralı, "Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik Hastalarının Klinik, İmmünolojik ve Genetik Özelliklerinin B Hücre Alt Grup Özellikleri ve KREC Sayıları ile Korelasyonunun Araştırılması" başlıklı proje önerisi araştırmannın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

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

## Ek 2. Orjinallik Ekran Çıktısı

### YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİK HASTALARININ KLİNİK, İMMÜNOLOJİK VE GENETİK ÖZELLİKLERİNİN B HÜCRE ALT GRUP ÖZELLİKLERİ VE KREC SAYILARI İLE KORELASYONUNUN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

<b>%2</b> BENZERLİK ENDEKSİ	<b>%2</b> İNTERNET KAYNAKLARI	<b>%1</b> YAYINLAR	<b>%0</b> ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
--------------------------------	-------------------------------------	-----------------------	-------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<a href="http://katalog.hacettepe.edu.tr">katalog.hacettepe.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>2</b>	<a href="http://turkimmunoloji.org.tr">turkimmunoloji.org.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>3</b>	<a href="http://www.journalagent.com">www.journalagent.com</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>4</b>	R. Yazdani, R. Seify, M. Ganjalikhani-Hakemi, H. Abolhassani et al. "Comparison of various classifications for patients with common variable immunodeficiency (CVID) using measurement of B-cell subsets", Allergologia et Immunopathologia, 2017 Yayın	<% <b>1</b>
<b>5</b>	<a href="http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>6</b>	<a href="http://library.cu.edu.tr">library.cu.edu.tr</a>	

### Ek 3. Dijital Makbuz



## Dijital Makbuz

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

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: İsmail Yaz  
Ödev başlığı: ismail son tez  
Gönderi Başlığı: YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETME...  
Dosya adı: turnitin.docx  
Dosya boyutu: 3.74M  
Sayfa sayısı: 91  
Kelime sayısı: 18,992  
Karakter sayısı: 128,248  
Gönderim Tarihi: 16-Oca-2019 04:08PM (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1064779626

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİK HASTALARININ  
KLİNİK, İMMÜNÖLOJİK VE GENETİK ÖZELLİKLERİNİN B  
HÜCRE ALT GRUPLARININ ÖZELLİKLERİ VE KİRC SAYILARI İLE  
KORELASYONUNUN ARAŞTIRILMASI

İsmail YAZ

İmmünoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA  
2019

## 9. ÖZGEÇMİŞ

### I. Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı: İsmail YAZ

Doğum Yeri: Yenimahalle/Ankara

Doğum Tarihi: 19.12.1991

Uyruğu: T.C.

İletişim Adresi: Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Pediatrik İmmünoloji Laboratuvarı 5 Numaralı Oda Sıhhiye Altındağ/Ankara

Telefon: 0312 305 2829

### II. Eğitim Bilgileri

Yabancı Dili: İngilizce

#### Eğitim Durumu

Lise: Elvanköy İMKB Anadolu Teknik Lisesi

Lisans: Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Ağırlıklı Biyoloji Bölümü (2010-2015)

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı İmmünoloji Programı Tezli Yüksek Lisans (2016-2019)

### III. Mesleki Deneyimi

Biyoloji Öğretmenliği, Milli Eğitim Bakanlığı (2017-2018)

### IV. Bilimsel Faaliyetler

Kongreler: 3. Klinik İmmünoloji Kongresi (2017)