



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**DOĞUŞTAN İMMÜN KUSURU OLAN HASTALARIN GENETİK  
ANALİZ SONUÇLARININ RETROSPEKTİF  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. MEHMET GÖKCÜ

UZMANLIK TEZİ

TRABZON-2021



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**DOĞUŞTAN İMMÜN KUSURU OLAN HASTALARIN GENETİK  
ANALİZ SONUÇLARININ RETROSPEKTİF  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. MEHMET GÖKCÜ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ  
ALPER HAN ÇEBİ

TRABZON-2021

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım sürecinde her konuda kıymetli destekleri ve tavsiyeleri için danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Alper Han ÇEBİ'ye,

Eğitim sürecimin son yılında anabilim dalımızda görev almasıyla bilgi ve tecrübeleri ile ufkumu genişleten Dr. Öğr. Üyesi Ayberk TÜRKYILMAZ'a,

Tezimin hazırlanma sürecinin her aşamasında bilgilerini, tecrübelerini ve değerli zamanlarını esirgemeyerek bana her fırsatta yardımcı olan hocalarıma,

Asistanlık sürecimizde tecrübesiyle ve neşesiyle birlikte çalışmaktan keyif aldığım kıdemlim Uzm. Dr. Murat Hakkı Yazar'a; kısa süreliğine birlikte çalışsak da özverisine şahit olduğum kıymetli arkadaşım Uzm. Dr. Mücahit GÖKTAŞ'a; birlikte çalıştığımız geçen zaman boyunca özverili çalışmaları ve destekleri için laboratuvar çalışanı kıymetli arkadaşlarım Günay DİNÇ, Elmas YAVUZ, Bediha KAYA ve tıbbi sekreterimiz Aleyna Nisa ÇAKIR'a,

Eğitim hayatım ve tüm hayatım boyunca sevgi ve ilgileri ile beni destekleyen annem Hafize GÖKCÜ, babam Hüseyin GÖKCÜ ve abim Fatih GÖKCÜ'ye,

Özellikle tez süreci boyunca vakitlerini bana ödünç veren sevgili oğlum Furkan'a, gül kızım Gülce'ye...Varlığıyla hayatıma anlam katan; anlayışı ve sabrıyla her anımda yanımda olan sevgili eşim Zeliha'ya sonsuz teşekkürler...

## ÖZET

**AMAÇ:** İmmün sistem doğuştan kusuru (İSDK) ön tanısıyla başvuran hastalarda uygulanan genetik tetkik sonuçlarını inceleyerek, gelişen teknolojilerle birlikte genetik test yöntemlerinin hastaların teşhisinde sağladığı somut katkısını belirlemeyi ve yeni nesil dizileme yöntemlerinin, özellikle Tüm Ekzom Sekanslamanın (Whole Exome Sequencing, WES) hedef bir hastalık / gen tespit edilemediği durumlarda etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

**YÖNTEM:** 2015 başı ve 2020 yılı sonuna kadar İSDK ön tanısıyla başvuran hastalardan genetik testler yapılan toplam 255 hastaya ait analiz sonuçları geriye dönük olarak ve literatür verileriyle kıyaslanarak incelendi.

**BULGULAR:** Genetik analizleri yapılan 255 hastanın 155'i erkek (%60), 100'ü kız (%40) hastaydı. Klinik olarak DiGeorge Sendromu (DGS) düşünülen 9 hastada yapılan FISH analizi sonucunda 3 hastada 22q11 bölgesinde delesyon tespit edilerek DGS tanı koyuldu. Klinik özellikleriyle hedef genler belirlenen 206 hastada tek gen analizleri yapılarak 29 hastada kliniği açıkladığı düşünülen sonuçlara ulaşılmıştı. Tek gen analizi yapılan 9 hastada nokta mutasyon saptanmazken eş zamanlı FANCA geni MLPA analizi yapılarak 4 hastada delesyon tespit edilerek Fankoni anemisi tanısı koyuldu. Tek gen analizleri sonucunda tanı koyulamayan hastalardan şartları sağlayan hasta ve doğrudan WES analizi yapılan 40 hasta olmak üzere toplam 71 hastada uygulanan WES analizi sonucunda 22 hastaya tanı koyulabilmişti.

**SONUÇ:** Klinik ve genetik heterojenitesi dikkate alındığında, İSDK'lı hastaların doğru takibi ve tedavisi için moleküler tanı koymak vazgeçilmezdir. Klinik özellikleriyle iyi tanımlanabilen hastalarda hedef genlerin belirlenebilmesiyle kısa sürede tanı koyulabilirken fenotip ve genotip heterojenitesinden dolayı hastaların büyük çoğunluğunda İSDK ile ilişkili tüm genleri kapsayan çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bilinen ve yeni tüm genlerdeki varyantlarının değerlendirilmesini, elde edilen panogromik bakış açısı ile varyantların kümülatif yorumlanmasını, güncellenmiş bilgilerle yeniden analiz yapılabilmesini ve biyoinformatik araçların entegre edilmesiyle hastalıkla ilişkili genlerdeki yapısal varyasyonların tahmin edilmesini sağlayan özellikleri göz önüne alındığında tüm ekzom dizileme, İSDK kuşkusu olan hastaların teşhisinde etkili bir araçtır.

**Anahtar Kelimeler:** immün yetmezlik, yeni nesil dizileme, WES

## SUMMARY

**Aim:** Evaluating the results of the genetic tests performed on patients with inborn errors of immunity (IEI), we aimed to determine the tangible contribution of genetic methods evolving with the developing technology, to diagnosis of IEI patients and to evaluate the effectiveness of new generation sequencing methods, especially Whole Exome Sequencing (WES), in the diagnosis of the cases where a target disease / gene could not be detected.

**Method:** The genetic test results of a total of 255 patients who were admitted with a pre-diagnosis of IEI until the beginning of 2015 and the end of 2020 were examined retrospectively by comparing them with the literature data.

**Results:** Of the 255 patients whose genetic analyzes were made, 154 were male (60%) and 101 were female (40%). As a result of the FISH analysis performed in 9 patients with clinical suspicion of DiGeorge Syndrome (DGS), deletion in the 22q11 region was detected in 3 patients and DGS was diagnosed. By performing single gene analyzes in 206 patients whose target genes were determined with their clinical features, results that were thought to explain the clinic in 29 patients were obtained. While no SNV was detected in 9 patients who underwent single gene analysis, FANCA gene MLPA analysis was performed simultaneously and deletion was detected in 4 patients and a diagnosis of Fanconi anemia was made. A total of 71 patients, including 31 patients who met the conditions from patients who could not be diagnosed via single gene analysis, and 40 patients who had direct WES analysis, were able to diagnose 22 patients as a result of WES analysis.

**Conclusion:** Considering the clinical and genetic heterogeneity, it is necessary to establish a molecular diagnosis for the correct follow-up and treatment of patients with IEI. Whole exome sequencing, in particular, is an effective tool in the diagnosis of patients with IEI, as enabling the evaluation of variants in all known and new genes, the cumulative interpretation of variants with the panogenic perspective obtained and the re-analysis with updated information. Integrating the bioinformatics tools with WES analysis could also provide a prediction of structural variations in disease-related genes.

**Key Words:** immunodeficiency, next generation sequencing, WES

## İÇİNDEKİLER

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| ÖNSÖZ .....                                                        | i    |
| ÖZET .....                                                         | ii   |
| SUMMARY .....                                                      | iii  |
| İÇİNDEKİLER .....                                                  | iv   |
| KISALTMALAR .....                                                  | vi   |
| TABLolar .....                                                     | viii |
| ŞEKİLLER .....                                                     | ix   |
| 1.GİRİŞ VE AMAÇ .....                                              | 1    |
| 2.GENEL BİLGİLER .....                                             | 3    |
| 2.1.İmmün Sistem Fizyolojisi .....                                 | 3    |
| 2.1.1. Doğal Bağışıklık .....                                      | 4    |
| 2.1.2. Edinsel Bağışıklık .....                                    | 4    |
| 2.1.3. Humoral ve Hücre Aracılı Bağışıklık .....                   | 5    |
| 2.1.4. İmmün Sistem Hücreleri .....                                | 7    |
| 2.1.4.1. Doğal Bağışıklık Hücreleri .....                          | 7    |
| 2.1.4.2. Edinsel Bağışıklık Hücreleri .....                        | 8    |
| 2.1.5. Lenfoid Organlar ve Lenfosit Gelişimi .....                 | 9    |
| 2.1.6. İmmün Sistem Molekülleri .....                              | 13   |
| 2.1.6.1. Büyük Doku Uygunluk Kompleksi (MHC) .....                 | 13   |
| 2.1.6.2. İmmünoglobulinler .....                                   | 15   |
| 2.1.6.3. İmmün Sistemin Diğer Molekülleri .....                    | 16   |
| 2.1.7. İmmün Sistem Reseptörleri .....                             | 17   |
| 2.1.7.1. Doğal İmmünite Reseptörleri .....                         | 17   |
| 2.1.7.2. Edinsel İmmünite Reseptörleri .....                       | 18   |
| 2.1.8. Edinsel İmmün Yanıt Regülasyonu .....                       | 20   |
| 2.2. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları (İSDK) .....                | 21   |
| 2.2.1. Tanımı ve Tarihsel Süreç .....                              | 21   |
| 2.2.2. Prevalansı ve Demografik Özellikleri .....                  | 22   |
| 2.2.3. İSDK IUIS Sınıflaması .....                                 | 23   |
| 2.2.3.1. Hücresel ve Hümorale İmmüniteyi Etkileyen İSDK .....      | 23   |
| 2.2.3.2. Sendromik Özelliklerle İlişkili İSDK .....                | 28   |
| 2.2.3.3. Baskın olarak Antikor Eksiklikleri .....                  | 34   |
| 2.2.3.4. İmmün Disregülasyon Bozuklukları .....                    | 38   |
| 2.2.3.5. Fagosit Sayısı ve/veya Fonksiyonu ile ilişkili İSDK ..... | 42   |
| 2.2.3.6. Doğal İmmünite Defektleri .....                           | 45   |
| 2.2.3.7. Otoinflamatuvar Hastalıklar .....                         | 49   |

|                                                                             |            |
|-----------------------------------------------------------------------------|------------|
| 2.2.3.8. Kompleman Eksiklikleri.....                                        | 53         |
| 2.2.3.9. Kemik İliği Yetmezlikleri.....                                     | 55         |
| 2.2.3.10. İmmün Yetmezlik Fenokopileri.....                                 | 56         |
| 2.2.4. İSDK Moleküler Tanı Yöntemleri.....                                  | 58         |
| <b>3.GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                               | <b>60</b>  |
| 3.1. Hasta Seçimi.....                                                      | 60         |
| 3.2. Moleküler Sitogenetik (FISH) Analiz.....                               | 60         |
| 3.3. Moleküler Genetik Analiz.....                                          | 61         |
| 3.3.1. DNA İzolasyonu.....                                                  | 62         |
| 3.3.2. MLPA Tekniği.....                                                    | 62         |
| 3.3.3. Yeni Nesil Dizileme (NGS).....                                       | 63         |
| 3.3.3.1 Tek Gen Dizileme.....                                               | 63         |
| 3.3.3.2. Tüm Ekzon Dizileme.....                                            | 65         |
| 3.3.4. Sanger Dizileme.....                                                 | 78         |
| 3.4. İstatistik.....                                                        | 80         |
| <b>4.BULGULAR .....</b>                                                     | <b>81</b>  |
| 4.1. FISH Analiz Sonuçları.....                                             | 82         |
| 4.2. Tek Gen Dizi Analizi Sonuçları.....                                    | 83         |
| 4.3. MLPA Analizi Sonuçları.....                                            | 84         |
| 4.4. WES Analizi Sonuçları.....                                             | 84         |
| 4.5. Varyant tespit edilen genlerin IUIS sınıfı ve kalıtım paternleri ..... | 103        |
| 4.6. Tespit Edilen Varyantlara Ait Özellikler .....                         | 104        |
| <b>5. TARTIŞMA .....</b>                                                    | <b>107</b> |
| <b>6. SONUÇ .....</b>                                                       | <b>134</b> |
| <b>7. KAYNAKLAR .....</b>                                                   | <b>138</b> |

## KISALTMALAR

|       |                                                  |
|-------|--------------------------------------------------|
| ACMG  | : American College of Medical Genetics           |
| APC   | : Antigen Presenting Cell                        |
| BCR   | : B Cell Receptor                                |
| CGH   | : Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon          |
| CID   | : Combined Immunodeficiency                      |
| CNV   | : Kopya Sayısı Değişiklikleri                    |
| CRP   | : C-reaktif protein                              |
| ddNTP | : dideoksinükleotid trifosfat                    |
| dNTP  | : deoksinükleotid trifosfat                      |
| ESID  | : European Society for Immunodeficiencies        |
| ESR   | : Erythrocyte Sedimentation Rate                 |
| FcR   | : Fragment crystallizable Region                 |
| FHL   | : Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis    |
| hg19  | : Homo sapiens (human) genome assembly GRCh37    |
| HGMD  | : The Human Gene Mutation Database               |
| Ig    | : Immunglobulin                                  |
| IGV   | : Integrative Genomics Viewer                    |
| IUIS  | : International Union of Immunological Societies |
| İSDK  | : İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları              |
| JMF   | : Jeffrey Modell Foundation                      |
| MAK   | : Membran Atak Kompleks                          |
| MHC   | : Major histocompatibility complex               |
| NGS   | : Next Generation Sequencing                     |
| NK    | : Natural Killer                                 |
| PCR   | : Polimeraz Zincir Reaksiyon                     |



|      |                                    |
|------|------------------------------------|
| RNA  | : Ribo Nükleik Asit                |
| SAA  | : Serum amyloid A                  |
| SCID | : Severe Combined Immunodeficiency |
| SNP  | : Single Nükleotid Polimorfizm     |
| TCR  | : T Cell ReceptorTh T-helper       |
| TREC | : T-cell receptor excision circles |
| WES  | : Whole Exome Sequencing           |



## TABLÖLAR

|          |                                                                       |     |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|-----|
| Tablo 1  | : Hücresel ve hümmoral immüniteyi etkileyen İSDK.....                 | 25  |
| Tablo 2  | : Sendromik özelliklerle ilişkili kombine immün yetmezlikler.....     | 29  |
| Tablo 3  | : Baskın olarak antikor yetmezlikleri.....                            | 35  |
| Tablo 4  | : İmmun disregölasyon bozuklukları.....                               | 39  |
| Tablo 5  | : Fagosit sayısı ve/veya fonksiyonu ile ilgili doğumsal kusurlar..... | 43  |
| Tablo 6  | : Doğal immünite defektleri.....                                      | 46  |
| Tablo 7  | : Otoinflamatuar hastalıklar.....                                     | 50  |
| Tablo 8  | : Kompleman eksiklikleri.....                                         | 53  |
| Tablo 9: | : Kemik iliği yetmezlikleri (KİY).....                                | 55  |
| Tablo 10 | : Primer immün yetmezlik fenokopileri.....                            | 57  |
| Tablo 11 | : ACMG Patojenite Kriterleri.....                                     | 74  |
| Tablo 12 | : Karşılanan ACMG Kriterlerine Göre Varyant Sınıflaması.....          | 77  |
| Tablo 13 | : Hastaların cinsiyet ve yaş dağılım özellikleri.....                 | 81  |
| Tablo 14 | : FISH Analiz Sonuçları.....                                          | 82  |
| Tablo 15 | : Tek Gen Analiz Sonuçları.....                                       | 83  |
| Tablo 16 | : MLPA Analiz Sonuçları.....                                          | 84  |
| Tablo 17 | : WES Analiz Sonuçları.....                                           | 85  |
| Tablo 18 | : WES Uygulanan Hastaların Ebeveyn Akrabalık Durumu .....             | 85  |
| Tablo 19 | : Hastalara ait klinik ve laboratuvar bulguları .....                 | 88  |
| Tablo 20 | : Saptanan Varyantlar ve Varyantlara Ait Özellikler.....              | 98  |
| Tablo 21 | : Varyant Saptanan Genlerin IUIS sınıflaması.....                     | 103 |

## ŞEKİLLER

|          |                                                                   |     |
|----------|-------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 1  | : TCR Kompleksi.....                                              | 10  |
| Şekil 2  | : İmmünglobulin Süperfamilyası.....                               | 13  |
| Şekil 3  | : Kromozom 6: HLA Lokusu.....                                     | 14  |
| Şekil 4  | : İmmünglobulin Yapısı.....                                       | 15  |
| Şekil 5  | : V(D)J Rekombinasyonu.....                                       | 19  |
| Şekil 6  | : 22q11 TUPLE1 Delesyonu FISH Fotoğrafı (H15).....                | 83  |
| Şekil 7  | : <i>RNU4ATAC</i> n.6T>A Varyantı IGV Görüntüsü (H3).....         | 86  |
| Şekil 8  | : Sanger Pik Görüntüsü (H3).....                                  | 86  |
| Şekil 9  | : Ebeveyn Sanger Pikleri (H3).....                                | 87  |
| Şekil 10 | : Genlerin Kalıtım Paterni Oransal Dağılımları .....              | 104 |
| Şekil 11 | : De novo Varyantların Oransal Dağılım.....                       | 105 |
| Şekil 12 | : Varyantların ACMG Kriterlerin Göre Oransal Dağılımı.....        | 106 |
| Şekil 13 | : Tanımlı/Novel Varyant Oransal Dağılımı.....                     | 106 |
| Şekil 14 | : TET2 Proteini Primer Yapısı.....                                | 121 |
| Şekil 15 | : U4atac ve U6atac ile Oluşan Bimoleküler Splicesome Yapısı ..... | 128 |

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Sıklıkla erken çocukluk döneminde bulgu veren, enfeksiyon hastalıklarına artan yatkınlıkla birlikte klasik olarak primer immün yetmezlikler şeklinde ifade edilen *İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları* (İSDK), immün sistem gelişim farklılaşmasındaki, hücrel etkileşimdeki ve hücrel fonksiyonlardaki bozukluklara neden olan temelde genetik mutasyonla meydana gelen heterojen konjenital hastalıkları tanımlar (1-4). Çeşitli genetik mutasyonlar sonucunda enfeksiyona yatkınlıkla beraber otoimmünite, otoinflamatuvar hastalıklar, allerji ve malign tümörler gibi birbirinden çok farklı fenotip ile klinikte karşılaşılan İSDK, Uluslararası İmmünoloji Dernekleri Birliği (International Union of Immunological Societies, IUIS) tarafından “*İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları*” olarak sınıflandırılmaktadır (1).

Enfeksiyon hastalıkları halen görülebilse de 20.yüzyılın ortalarından itibaren aşı ve antibiyotik geliştirme çalışmaları ve sosyal-çevresel alandaki iyileşmeler tüm dünyada enfeksiyon hastalıklarının sağlık sorunları içerisindeki payını azaltmıştır. Bu durum yineleyen ve ağır geçen veya beklenmedik ajanlarla meydana gelen enfeksiyon hastalıklarının altında bağışıklık sistemi kusuru olabileceği gerçeğini gün yüzüne çıkartmıştır (5). Daha öncesinde immün yetmezlik kliniği de bulunan bazı hastalıklar tanımlanmış olsa da 1952’de Bruton’un bildirdiği X’e bağlı hipogammaglobulinemi ilk tanımlanan immün yetmezlik olarak kabul edilmektedir (6-9). Günümüzde sitometrik ve moleküler genetik yöntemlerdeki ileri düzey gelişmelerle birlikte 400’ü aşan doğuştan immünite kusuru ve bunların etyolojisinde rol alan 400’ü aşkın genetik kusur olduğu tespit edilmiştir (1,10-11).

İSDK’nın büyük bölümünü baskın olarak antikor eksiklikleri oluşturur. Toplumda en sık rastlanan İSDK, Selektif IgA eksikliği olup görülme sıklığı 333-700 canlı doğumda 1 dir (12,13). İmmün sistemin doğuştan kusurlarının prevalansı kesin bir şekilde bilinmemektedir. Türkiye gibi akraba evlilik oranı nispeten yüksek olan ülkelerde ise otozomal resesif kalıtım paterni olan İSDK sıklığının daha fazla olduğu öngörülmektedir (14).

İmmün sistemin doğuştan kusurları nadir görülen hastalıklar olmasına karşın, etkilenen bireylerde tekrar eden enfeksiyonlar/hastalıklar yoğun antibiyoterapi veya düzenli antikor tedavisi gerektirmesi, hayat kalitesini bozması, fiziksel gelişimi bozması ve nihayetinde bazı durumlarda hayatı tehdit eden tablolar oluşturması

nedeniyle sosyal alanda ve klinikte önemli bir problem olarak karşılaşılmaktadır. İSDK prognozu, genetik etiyolojiye bağlı olarak değişir. Bununla birlikte enfeksiyon tedavi yönetimindeki başarılar, antibiyotiklere erken erişim, kemik iliği nakli, hematopoietik kök hücre transferi gibi tekniklerdeki ilerlemeler ve gelişmiş yoğun bakım hizmetleri göz önüne alındığında, hasta prognozu ve uzun vadeli sağkalım son 50 yılda önemli ölçüde iyileşmiştir (15-17). Ayrıca rutin aşılar, risk altında olanlara sürü bağışıklığı sağlayarak enfeksiyon hastalıklarının insidansını azaltmıştır. Genellikle nadir görülen hastalıklar olmasına rağmen, terapötik yaklaşımı uygun şekilde belirlemek ve böylece iyi bir yaşam kalitesi ile en uzun vadeli sağ kalımı sunabilmek için doğru tanıyı koymak önemlidir (18-20).

Günümüzde yeni nesil dizileme teknolojisinin İSDK ve diğer kalıtsal hastalıkların moleküler temellerini başarıyla ortaya koymasıyla kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Genetik testler, özellikle de tüm ekzonik bölgeleri dizileyen Whole Exome Sequencing (WES), İSDK'nın klinik tanısında ayrılmaz bir bileşen haline gelerek vaka yönetiminde önemli bir etkiye sahip olmuştur. Bu çalışmada Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Bölümünde İSDK ön tanısı olan hastalarda gerçekleştirilen genetik analiz sonuçlarını değerlendirerek, özellikle WES uygulamasının sağladığı tanı oranı avantajıyla mevcut ve potansiyel tedavilerin biran önce belirlenmesine katkı sağlanabileceğinin, ailenin sonraki gebeliklerinde genetik geçiş riskini tanımlayıp ve bu konuda ileriye yönelik önleyici rehberlik ve prognostik bilgi sağlanabileceğinin farkındalığını somutlaştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 İmmün Sistem Fizyolojisi

Latince yasak bir terim olan “*immunitas*” kelimesinden köken alan İmmunité, vergiler ve görevlerden muaf tutulma veya “dokunulmazlık” anlamına gelir (21). Hastalıklara karşı koruyuculuk anlamında yazılı olarak ilk defa MS 60 civarında Kordobalı Marcus Annaeus Lucanus’un, yılanlarla birlikte yaşadıkları için yılan zehrine bağışıklıkları olan Kuzey Afrikalı bir kabileden bahsettiği epik şiiri Pharsalia’da kullanılmıştır (22).

Fizyolojik olarak immunité, canlının kendisine ait olmayan (non-self) ve olasılıkla da kendisine zararlı olan etkenlerin kendisinden olandan (self) ayırt edilerek ortadan kaldırılması niteliğini ifade eder. Temel hedefi enfeksiyöz mikroorganizmalara karşı savunmadır. Bu savunmadan sorumlu hücreler ve moleküler yanıtlar immün sistemi oluşturur. Bunların yabancı maddelerin girişine hep birlikte ve koordineli tepkileri **immün yanıt** olarak adlandırılır. Bununla birlikte, enfeksiyöz olmayan yabancı maddeler, canlının kendisine ait hasarlı hücrelerinin ürünleri ve canlının kendi molekülleri (otoimmunité) bile immün yanıtı ortaya çıkarabilir. Bazı durumlarda bu reaksiyonlar doku zedelenmesine ve hasarına neden olabilir. Bu nedenle, immün yanıtın daha kapsayıcı bir tanımı, böyle bir reaksiyonun fizyolojik veya patolojik sonucuna bakılmaksızın, mikroorganizmalara ve yabancı olarak tanınan moleküllere yani antijenlere verilen bir tepkidir (23,24).

Antijenler, immün reseptörler tarafından tanınan temel birimler olan bir veya daha fazla epitop veya antijenik determinant taşırlar. İmmün yanıtı uyaran antijenler **immünojen**, yalnızca bir immünojenik taşıyıcı moleküle bağlandıklarında bağışıklık yanıtı başlatabilenler **hapten** veya yeniden maruz kalındığında bağışıklık sistemi hücrelerinin seçici olarak tepkisiz hale gelmelerine neden olanlar **tolerojen** olarak sınıflandırılırlar (5).

İmmün yanıtın başlayabilmesi için öncelikle enfeksiyöz, toksik veya alerjen moleküllerin tanınması gerekmektedir. Bu tanıma mekanizmaları 2 genel kategori oluşturur (24).

- 1- Konakçı canlının genlerinde germline kodlanmış olarak doğuştan gelen, birçok mikroorganizma ve toksin tarafından paylaşılan ortak moleküler

kalıpları tanıyan ve onlara ilk birkaç saat içinde hızlıca fakat spesifik olmayan tepkileri başlatarak yabancı molekülleri edinsel immun yanıtı hazırlayan, doğal immun yanıt mekanizması.

- 2- Özgün antijenleri yüksek özgüllükle bağlayabilen T ve B hücre yüzeyi antijen spesifik reseptörlerini oluşturan, germline genlerin somatik yeniden düzenlenmesiyle sağlanan edinsel-adaptif immun yanıt mekanizması.

### **2.1.1 Doğal Bağışıklık**

Patojenlere karşı birinci savunma hattını, hızlı bir şekilde meydana gelen doğal bağışıklık yanıtları oluşturur. Nötrofiller, makrofajlar, dendritik hücreler, doğal öldürücü (natürel killer, NK) hücreler ve doğal bariyerlerin (çoğunlukla deri ve gastrointestinal ve solunum mukozası) yanı sıra antimikrobiyal ajanlar, opsoninler (komplemanlar gibi) ve sitokinleri içerir (25).

Yabancı ya da organizma için olasılıkla tehdit oluşturan unsurların uygun şekilde tanınması ve inflamatuvar süreçlerin tetiklenmesi, bu unsurların uzaklaştırılmasında temel basamaklardır. Fagositler canlının sınırlarını ihlal eden patojenlerin yutularak ortadan kaldırıldığı fagositozdan esas sorumlu hücrelerdir. Yabancı antijenleri tanıyıp onları kaplayan (opsonize eden) ve fagositoza duyarlı hale getirerek tamamlayıcı rol üstlenen doğal bağışıklık yanıtı elemanları ise kompleman proteinleridir. Bu hücre ve moleküller birbiriyle uyumlu çalışarak, patojeni vücutta yakalamayı ve ortadan kaldırmayı amaçlamaktadır. Doğal bağışıklık kusurları, ilk savunma reaksiyonunun tetiklenmesini geciktirerek enfeksiyonun prognozunu kötüleştirebilir (15).

### **2.1.2 Edinsel Bağışıklık**

Doğal bağışıklık sistemi patojeni yok edemezse edinsel-adaptif bağışıklık sistemi devreye girer. Özellikle enfeksiyona neden olan organizma türünü hedefler. Ancak bunu yapmak için önce patojeni tanımlaması gerekir. Bu doğal bağışıklık sisteminden daha yavaş yanıt verdiği anlamına gelir. Patojenlere karşı spesifik bir yanıt oluşturmak için birkaç gün veya daha uzun süre gerektirir. Fakat sonunda immünolojik hafıza ile sonuçlanan kalıcı immunité gelişir. Aynı ajan-patojen ile tekrar karşılaşıldığında, adaptif yanıt immünolojik hafıza sayesinde hızlıca aktive olarak patojeni ortadan kaldırır (26).

Edinsel bağışıklık sisteminin esas üyeleri T ve B hücreleridir. Hücresel yanıtta T hücreleri rol aldığından, T hücre gelişimi, farklılaşması ve olgunlaşmasının herhangi bir aşamasında meydana gelen kusurlar hücresel yanıtta bozulma ve buna bağlı klinik sorunlar ortaya çıkarır. Antikor üretimine aracılık eden B hücre gelişimi veya olgunlaşmasındaki sorunlar ise humoral bağışıklık yanıtındaki kusurların oluşmasına neden olur. B hücresinin rol aldığı antikor üretimi, T hücre fonksiyonunun sağlıklı olmasını gerektirdiğinden, birçok T hücre kusuru hem hücresel hem de humoral immün yanıtta eksikliklerin olduğu kombine İSDK'ya yol açar (18,19). Aslında buradaki temel sorun, T hücre fonksiyonunda bulunan konjenital kusurdur.

### **2.1.3 Humoral ve Hücre Aracılı Bağışıklık**

**Humoral bağışıklık**, B hücre etkinlik alanında, antikorlar ve kompleman proteinleri aracılığıyla gerçekleşir. Antijen (Ag) ile antikor (Ab) etkileşimi presipitin reaksiyonudur. Ag-Ab komplekslerinin oluşmasına neden olur. Antikorlar, hücreleri veya partikülleri bağlayarak aglütinasyon olarak bilinen bir reaksiyonla agregat oluşumuna da neden olabilir. Aglütinasyon, patojenleri bir moleküler ağ içinde hapsederek hareket etmesini engeller. Antijende ve antikorda bağlanma bölgeleri sırasıyla Epitop ve Paratop olarak tanımlanır. Epitop antijen üzerinde bulunan spesifik bir antijenik belirleyici bölge (determinant) iken, Paratope antikor üzerindeki antijeni bağlayan spesifik bağlama bölgesidir. Nötralizasyon ise antikorların epitoplara, mikroorganizmalara veya toksinler gibi çözünür moleküllere, onların konakçı hücre yüzeylerine bağlanma kabiliyetlerini inhibe edecek şekilde bağlanmasıdır (27).

Makrofajlar, dendritik hücreler ve nötrofiller, epitopa bağlanmış antikorun Fc kısmı için yüzey reseptörleri (FcR) taşır. Serbest IgE'yi bağlayan FcR haricindeki diğer FcR'ler yalnızca epitoplarına bağlanmış olan antikorları tanır ve bağlar. Antijene bağlanmış antikorların FcR'lere bağlanmasıyla “antijen-antikor kompleksi” fagositik hücreye sunulur. Fagositik hücreler antikora bağlı bulunan antijeni fagozite ederek yok edilmesini sağlarlar. Epitopa tutunmuş antikorlar ve C3b gibi kompleman proteinleri, fagositozu uyarmak için opsonin olarak çalışırlar. (28)

**Kompleman sistemi** hem edinsel hem de doğal bağışıklığın çok önemli bir bileşenidir. Kompleman (C) sistemi, karaciğer tarafından sentezlenen ve kanda inaktif öncüller olarak dolaşan bir dizi küçük proteinden oluşur. Birkaç tetikleyiciden biri tarafından uyarıldığında kompleman aktivasyonu olarak tanımlanan bir dizi



reaksiyon gerçekleşir. Kompleman aktivasyonu sonucu, yabancı veya hasarlı doku materyalini temizlemek için fagositler uyarılır ve inflamasyon bölgesine ilave fagositlerin çekilmesi gerçekleşir. Kompleman sistemi, çözülebilir ve zara bağlı modüle edici yolları içeren 25'in üzerinde plazma ve hücre yüzeyi proteininden oluşur (29,30). Aktivasyon yollarındaki proteinlerin çoğu proteinazlardır ve aktivasyonları kademeli olarak meydana gelir. Aktivasyon yollarının ana amacı, yabancı antijenleri ortadan kaldırmak için işaretlemek ve onların tahribatını kolaylaştıran diğer proteinleri ve hücreleri devreye sokmak ve gerektiğinde ozmotik parçalanma yoluyla yıkıcı sürece doğrudan katılmaktır (24).

Kompleman sistemi, üç farklı yolla aktive olabilir. Antijen-antikor kompleksleri, **klasik kompleman aktivasyon** yolu için aktive edici sinyal sağlar ve kompleman sisteminin C1, C4 ve C2 bileşenlerinin sıralı bağlanmasını kolaylaştırmak için epitopa bağlanan antikorlarda (genellikle IgM ve IgG) meydana gelen konformasyonel değişikliklerle etkinleştirilir. Bu sıralı bağlanma C3b'nin oluşmasını sağlayan anahtar enzim olan C3b konvertazı etkinleştirir. Kompleman sisteminin **alternatif aktivasyon** yolu, spontan kompleman aktivasyonunun inhibitörlerini nötralize eden mikrobiyal yapılar tarafından antikorlar olmadan aktive edilir. Bu yolla, bakteri üzerinde biriktirilen C3b daha sonra Membran Atak Kompleksi (MAK) tetikler ve fagositozu artırır. **Mannoz bağlayan lektin** yolu ise, mannoz bağlayıcı lektinin (MBL) patojen yüzeyindeki mannoz kalıntılarına bağlanmasıyla aktive edilir. Böylece aktif duruma gelen MBL ile ilişkili serin proteazlar C4 ve C2'yi aktive ederek C3 dönüştürücü C4b2a'yı oluşturur (24,31).

Antikorlar ve kompleman sistemi, hücre dışında yapıştıkları patojenlere karşı etkilidir. Fakat mikroorganizmalar antikorların ve komplemanların ulaşamadığı konakçı hücrelerde saklanmak dâhil olmak üzere kaçınma taktikleri de kullanırlar. Bu durumda **hücre aracılı yanıt sistemleri** devreye girer. Bu sistemler, CD4+ (Cluster of Differentiation, CD) Th1 hücrelerinin aracılık ettiği **gecikmiş tip aşırı duyarlılık** ve CD8+ sitotoksik T lenfositlerinin aracılık ettiği **hücre aracılı lizisi** kapsar. Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonunda, CD4+ Th1 hücrelerinin doğrudan teması (CD40 ve CD154'ün bağlanması) ve T hücrelerince salgılanan IFN- $\gamma$  (İnterferon, INF) makrofaj aktivasyonuna aracılık eder. Aktive olan makrofajlar, yok edici enzimlerin ve reaktif oksijen ara ürünlerinin üretimini ve salınımını arttırarak fagositozu sağlar. Hücre

aracılı lizizde ise aktive edilmiş CD8+ sitotoksik T lenfositler, sitoplazmada patojen mikroorganizmaları barındıran hücreleri öldürür. Bu mikroorganizmalar, birçok hücre tipini enfekte eden virüsler veya makrofajlar tarafından sindirilen ancak fagositik veziküllerden sitoplazmaya kaçan bakteriler olabilir. Sitotoksik T lenfositler enfekte hücreleri yok ederek enfeksiyon rezervuarlarını ortadan kaldırırlar. Bununla birlikte tümör hücrelerini de öldürerek ortadan kaldırdıkları da bilinmektedir (23,31).

#### **2.1.4 İmmün Sistem Hücreleri**

##### **2.1.4.1 Doğal Bağışıklık Hücreleri**

Miyeloid seri hücreleri yapısal olarak, sitoplazmik granül içeren hücreler (eozinofiller, bazofiller ve nötrofiller) ve granül içermeyen agranüler fagositik hücreler (monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler) olmak üzere 2 gruba ayrılır. Ancak birlikte doğal bağışıklıkta rol oynarlar. NK hücreleri ve fagositler ise doğal bağışıklık ve edinsel bağışıklık sistemi arasında köprü oluşturur (24).

Belirgin sitoplazmik granüller içeren lökositler granülositler olarak bilinir. Bu hücreler, aminler (bazik boyalarla boyanmış: bazofil, mast hücreler), bazik proteinler (asidofilik veya eozinofilik boyalarla boyanmış: eozonofiller) veya her ikisini (nötr boyama: nötrofiller) içeren çok loblu çekirdeklere ve sitoplazmik granüllere sahiptir. Periferik kan lökositlerinin yüzde altmışı nötrofil granülositlerdir. Bu hücreler bakterileri öldürmede çok etkilidir (32).

**Mast hücreleri**, bazofillere benzer ancak bağ dokularında bulunurlar ve daha çok adaptif immün yanıtın alerjik reaksiyonlarında önemlidir. Mast hücreleri ve bazofiller, henüz epitoplara bağlanmamış IgE moleküllerinin Fc parçasını bağlayan FcR'lere sahiptir. Bu nedenle bu hücreler, epitopu tanıyan yüzey reseptörleri olarak işlev gören bir dizi reseptöre bağlı immünoglobülin (Ig) yakalarlar. Yüzey IgE'si uygun epitoplarla çapraz bağlandığında, mast hücresi/bazofil degranülasyonu tetiklenir. Sitoplazmik granüllerin bu salınımı, ani aşırı duyarlılıklar reaksiyonlarını tetikler (31).

**Eozinofiller**, lökositlerin parazitik istilalara karşı savunma için önemli olan hücre serisidir. Tip I aşırı duyarlılık ve eozinofil iltihabı denilen süreçte rol alırlar. Nötrofillere benzer şekilde fagositoz ve NETosis yapabilir. NETosis 2004 yılında başta sadece nötrofillere ait yeni bir antimikrobiyal süreç olarak tanımlansa da diğer

granüllü lökositlerin de gerçekleştirebildiği anlaşılan, hücre kromatininin granüllerdeki antibakteriyel proteinlerle birlikte extraselüler ortama dağılmasıdır (33-35).

Doğal immun yanıtta görevli olan ve lenfoid seriden köken alan **Natural killer (NK)** hücreler anormal (enfekte veya malign) konakçı hücreleri öldüren ve dolaşımdaki tüm lenfositlerin %5 ila %10'unu oluşturan büyük, fagositik olmayan, granüler (granülositlerden farklı olarak daha az sayıda granül içerirler) lenfositlerdir (31,35).

**Monositler**, makrofajların, dermal dentritik hücrelerin ve Langerhans hücrelerinin öncüleridir. Makrofajlar (M), hem doğal hem de adaptif bağışıklık için önemli olan büyük tek çekirdekli hücrelerdir. Protozoanlar ve enfekte hücreler gibi büyük nesneleri fagosit edebilirler ve sitokinler gibi birçok aktif madde salgırlar. Antijen/MHC (Major histocompatibility complex) Class II komplekslerinin CD4+ T lenfositlere sunumunu gerçekleştirirler. Tip IV aşırı duyarlılıkta yer alırlar. İnflamatuvar (M1) ve anti-inflamatuvar (M2) olmak üzere iki farklı makrofaj türü vardır. Aynı zamanda, belirsiz aktivite modelleri ile karakterize edilen tümörle ilişkili makrofajlar da tarif edilmektedir (35).

#### 2.1.4.2 Edinsel Bağışıklık Hücreleri

Lenfoid seri hücreleri (lenfositler ve plazma hücreleri) adaptif bağışıklık yanıtlarından sorumludur (28).

Yüzeylerinde CD3 antijeni taşıyan T lenfositler (**CD3+ T Lenfositleri**), fonksiyonel olarak farklı görevleri olan, CD4 antijeni taşıyan yardımcı T hücreleri (**CD4+ T helper**) ve CD8 antijeni taşıyan sitotoksik T lenfositlerini (**CD8+ sitotoksik T lenfositleri**; STL) kapsar. MHC class II'yi tanıyan yardımcı T hücrelerinin işlevlerine esas olarak salgılanan sitokinler aracılık ederken, MHC class I'i tanıyan STL'ler diğer hücreleri öldüren moleküller üretir. Regülatör T hücreleri olarak adlandırılan bazı T lenfositleri, esas olarak bağışıklık reaksiyonlarını inhibe etme işlevi görür. Olgun CD3+ T hücrelerinin yaklaşık %70'ini CD4+ T hücreleri, yaklaşık %30'unu CD8+ T hücreler oluşturur (23,36).

**B lenfositleri**, vücutta humoral bağışıklığın aracıları olan antikoru üretebilen tek hücrelerdir. Maturasyonunu tamamlamış her bir B hücresi yalnızca bir epitopu tanıyan yalnızca bir antikor spesifitesine sahip Ig üretir. Ig üreten ve salgılayan

hücreler Plazma hücreleri olup, farklılaşmış B hücreleridir (B cell maturasyonu). B lenfositleri, kemik iliğindeki öncüllerden gelişir. Olgun B hücreleri, kandaki lenfositlerin %10 ila %20'sini oluşturur. Lenf düğümleri, dalak ve mukozayla ilişkili lenfoid dokular gibi periferik lenfoid dokularda da bulunur. Antijeni B hücresi antijen reseptör kompleksi aracılığıyla tanır. IgM ve IgD izotiplerini taşıyan tüm olgun naif B hücrelerinin yüzey antikorları, B hücresi reseptörü (BCR) kompleksinin antijen bağlama bileşenidir (28,31).

T ve B hücrelerinin özelliklerini taşımayan lenfositler vardır. Tüm lenfositlerin %5 ila %10'unu oluşturan **null hücreler (büyük granüler lenfositler)** olarak bilinirler. Null hücreler veya büyük granüler lenfositler, NK hücreleri, antikora bağımlı hücrel sitotoksikite (ADCC) hücreleri ve lenfokinle aktive edilen katil hücreler (LAK) olabilir. NK, çeşitli hedef hücrelere karşı spontan sitotoksikiteye sahiptir ve tümör hücrelerini öldürme yeteneği, araştırma ve terapötik denemelerin odak noktası olmuştur. Bir diğer rolü virüs, bakteri ve parazit gibi hücre içi ajanlar tarafından oluşturulan enfeksiyona karşı koymaktır. Sitotoksikite, sitotoksik T lenfositleri gibi antikora bağımlı değildir veya MHC ile sınırlandırılmaz. Eylemleri için ayrıca antijenik temasla duyarlılaşma gerektirmezler. T hücrelerinin aksine, NK hücre yüzeyinde CD3 ve CD4 antijeni bulunmazken, NK hücrelerinin yaklaşık yarısı CD8 antijeni eksprese eder. Ancak doğal öldürme için CD8 gerekli değildir. Çoğu NK hücresi, CD16 antijeni (IgG'nin Fc kısmı için bir reseptör) ve CD56 antijenini (nöral hücre yapışma molekülünün bir varyantı) üretir. Bu reseptörler de, doğal öldürme için gerekli değildir. Sadece NK hücrelerinin tanımlanması için gereklidir, NK genellikle CD16+, CD56+, CD3- iken ve T hücreleri CD3+, CD16-, CD56- şeklindedir (36,37).

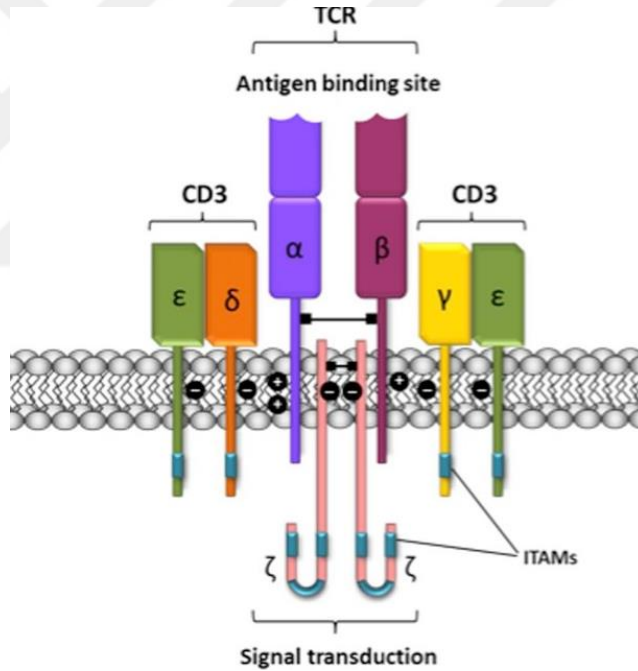
### 2.1.5 Lenfoid Organlar ve Lenfosit Gelişimi

Lenfoid organlar primer veya sekonder olarak sınıflandırılırlar. Lenfositler primer lenfoid organlar olan timus ve kemik iliğinde gelişir. Sekonder lenfoid organlar (dalak, lenf düğümleri, lenfoid birikimleri) immünojenleri yakalar ve dolaşımda hareket eden çok sayıdaki immün hücrenin birbiriyle temas kurabileceği bir alan sağlar. En büyük lenfoid organ olan dalak, immünojenleri kandan temizler ve kanla taşınan antijenleri ve mikroorganizmaları toplar. Dalak ve lenf düğümlerine ek olarak, dolaşımdaki lökositler arasında etkileşimi kolaylaştıran diğer bölgeler arasında

nazofarenkste bulunan tonsilla ile ince bağırsağın submukozal yüzeylerindeki Peyer plakları bulunur. Lenf düğümleri, hücrel debris ve lökositler içeren sıvı bir karışım olan lenfi içeren lenfatik damarlar boyunca bulunur. Lenf düğümleri, hücrel artıkları ve mikroorganizmaları, kardiyovasküler dolaşım sistemine dönmeden önce lenflerden çıkarmak için filtre görevi görür (31).

Kemik iliğindeki hematopoietik kök hücrelerden kaynaklanan lenfositik seri hücrelerinin bir kısmı kemik iliğinde (B hücreleri) kalırken bir kısmı timusa (T hücreleri) göç ederek burada farklılaşır (23).

**T hücre reseptörleri (T Cell Reseptör, TCR) kompleksi**, TCR reseptöründe antijen bağlayan bölge ve CD3 antijeninden oluşur (Şekil 1). İki tür T hücresi antijen reseptörü vardır:  $\gamma/\delta$  zincirlerinden oluşan TCR1 ve  $\alpha/\beta$  zincirlerinden oluşan TCR2 (36,38).



Şekil 1. TCR Kompleksi (38)

Lökositlerin ve bazı diğer hücrelerin fonksiyonel kapasitelerinin göstergesi olan ‘Cluster of Differentiation’ yani daha yaygın kullanımı ile CD antijenleri, çeşitli hücre tiplerinin yüzeylerinde bulunur (31). CD3, CD4 veya CD8 moleküllerini eksprese etmeyen ancak T hücre farklılaşmasına yönlendirilmiş hematopoietik kök hücreler, kemik iliğinden timik subkapsüler bölgeye hareket eder. Orada TCR2 genlerini

yeniden düzenlemeye başlarlar. Bir TCR2  $\beta$  zinciri üretildikten sonra, TCR2  $\alpha$  zincirinin yeniden düzenlenmesinin meydana geldiği ve CD3, CD4 ve CD8 proteinlerinin yüzey ekspresyonunun indüklendiği timik kortekse hareket ederler. Korteksteki CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> ('çift pozitif') hücreler, Class I veya Class II HLA self-proteinlerini tanıma yetenekleri olanlar kortikal epitel hücreleri üzerinde pozitif seleksiyonu geçerler. Gelişmekte olan T hücresi, Class I MHC proteinini tanımak için yeterli afiniteye sahipse, CD8 ekspresyonunu koruyarak CD4 ekspresyonunu durdurur. Class II MHC proteinini tanırsa, CD4 ekspresyonunu koruyarak CD8 ekspresyonunu sonlandırır. Pozitif seleksiyondan başarıyla geçen CD4 / CD8 tek pozitif (TP) hücreler daha sonra, HLA moleküllerinde sunulan kendi antijenlerine aşırı afiniteye sahip hücreleri ortadan kaldırmak için medüller epitel hücreleri üzerinde negatif olarak seleksiyona uğradıkları timik medullaya hareket ederler. Seleksiyonlardan geçebilen CD4 veya CD8 TP'ler daha sonra periferik dolaşımına bırakılır. Pozitif veya negatif seleksiyonda başarısız olan hücreler apoptoz ile uzaklaştırılır. Küçük bir T hücre fraksiyonu, TCR2  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirleri yerine TCR1  $\gamma$  ve  $\delta$  zincirleri için farklılaşır (24).

TCR1 ( $\gamma/\delta$  hücreleri) eksprese eden T hücreleri, daha ilkel T hücreleridir. Genellikle mukozal epitel ve diğer doku konumlarıyla sınırlı olup doğuştan gelen bağışıklığı ve mukozal bağışıklığı uyarmak için önemlidir.  $\gamma/\delta$  TCR, MHC proteinleri tarafından tanıtılmasına gerek kalmadan peptitleri, lipitleri ve küçük molekülleri tanır.  $\gamma/\delta$  T hücreleri, deri, gastrointestinal ve ürogenital yolların mukozası gibi epitel yüzeylerinde toplanma eğilimindedir. Bu hücreler epitelden girmeye çalışan mikroplara karşı koruma sağlayan nöbetçilerdir (28,36).

T hücrelerinin diğer bir üyesi olan NK T hücreleri (CD4<sup>+</sup> veya CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> olabilir), doğal öldürücü (NK büyük granüller içeren lenfositlerdir) hücreler ile bazı özellikleri birbirine benzer. NK T hücreler NK'dan farklı olarak timustaki gelişimsel süreçlerden geçerek kısıtlı repertuarı olan TCR'leri ve CD1d olarak bilinen nonklasik MHC class I molekülleri ile sunulan epitoplara (glikolipidleri) tanıyabilirler (24,31).

B hücreler tüm gelişim süreçlerini kemik iliği içinde geçirir;

- Ortak bir lenfoid progenitörden ortaya çıkan, B hücre soyuna ait en erken tanımlanabilir hücre **pre-pro-B hücresidir (Fraksiyon A)**. Ig $\alpha$  ve Ig $\beta$  ekspresyonu bu aşamada başlar.

- İmmünoglobulin DJ geni aranjmanı ve “surrogate” hafif zincirin (SHZ) sitoplazmik ekspresyonu **erken pro-B hücre (Fraksiyon B)** aşamasında meydana gelir. Sitoplazmik  $\mu$  ağır zincir ekspresyonu başlar.
- Bunu VDJ gen aranjmanının gerçekleştiği **geç pro-B hücre (Fraksiyon C)** aşaması takip eder. Sitoplazmik ve yüzey  $\mu$  ağır zincir ekspresyonu görülür.
- **Erken pre-B hücre (Fraksiyon C')** aşaması, hücre yüzeyinde psödo IgM'nin (yeniden düzenlenmiş  $\mu$  ağır zincir ve SHZ) ekspresyonuyla karakterize edilir. Bu aşamada hücre proliferasyon patlaması gerçekleşir.
- **Geç pre-B hücre (Fraksiyon D) aşamasında** Ig  $\kappa$  veya  $\lambda$  hafif zincirleri için rearanjmanlar gerçekleşir ve ortaya çıkan  $\kappa$  veya  $\lambda$  hafif zincirleri SHZ ile yer değiştirir.
- **Olgunlaşmamış B hücreler (Fraksiyon E)** yüzeylerinde  $\mu$  ağır zincirle birlikte  $\kappa$  veya  $\lambda$  hafif zincirleri eksprese ederler. Bu aşamada hücreler kemik iliğinden çıkarak periferik dolaşıma katılmaya başlarlar.
- **Olgun B hücreler (Fraksiyon F)** yüzeylerinde IgM ve IgD'yi birlikte eksprese ederler. B hücre progenitörleri gelişim aşamalarında, göç ve diğer hücrelerle etkileşim için gerekli molekülleri ve reseptörleri eksprese ederler. Gelişmekte olan hücreler üzerindeki IgM, kemik iliğinde karşılaştıkları epitoplara bağlanırsa, bu tür hücreler, otoreaktif B hücrelerinin üretimini önlemek için apoptotik ölüme uğrar.

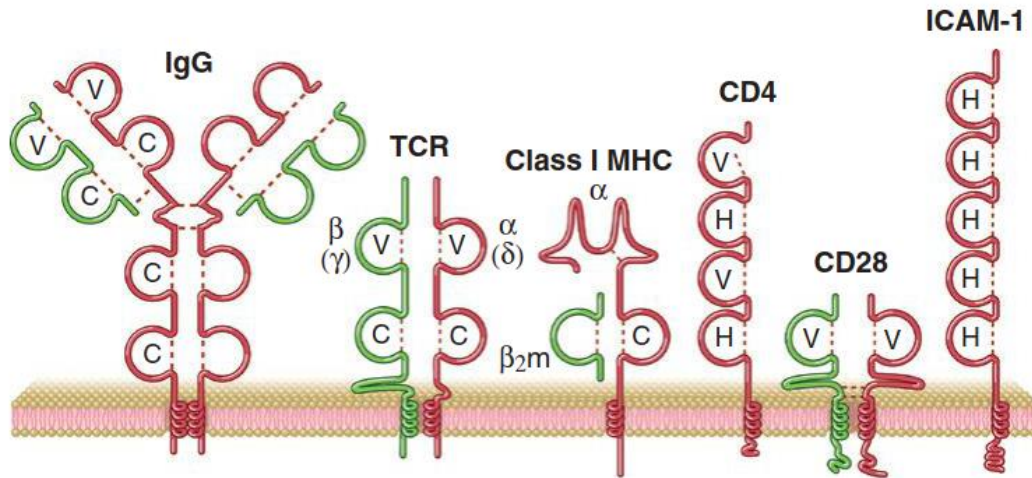
Gelişimsel olarak farklı iki B hücre yolu şu anda tanınmaktadır. Geleneksel B hücreleri (B-2 hücre) vücutta geniş bir şekilde dağılmıştır. B-1 hücreleri, doğuştan gelen ve uyarlanabilir bağışıklık sistemlerini birbirine bağlayan bir geçiş tipi lenfosit temsil eder. B-1 hücrelerinin doğuştan gelen bağışıklık ve otoimmün bozukluklardaki önemi giderek daha fazla anlaşılmaktadır. B hücrelerinin major alt kümeleri, her biri lenfoid dokular içinde farklı anatomik konumlarda bulunan foliküler B hücreleri, marjinal bölge B hücreleri ve B-1 hücreleridir. Vücuttaki en fazla bulunan foliküler B hücreleridir. **Foliküler B hücreleri**, lenfoid dokularda ve kanda bulunur. Hücre yüzeyi antijen reseptörleri olarak ve adaptif humoral bağışıklığın salgılanan anahtar molekülleri olarak görev yaparlar ve çok çeşitli, klonal olarak dağılmış antikor kümelerini eksprese ederler. Foliküler B hücreleri, aynı mikroorganizmalar tarafından tekrarlanan enfeksiyonlardan koruyan yüksek afiniteli antikorların üretiminde ve

hafıza B hücrelerinin gelişimindeki esas hücrelerdir. Buna karşılık, B-1 ve marjinal bölge B hücreleri tüm B hücrelerinin az bir kısmını oluştururlar ve çok sınırlı çeşitlilikte antikorlar üretirler. B-1 hücreleri esas olarak mukozal dokularda ve periton ve plevral boşluklarda bulunurken, marjinal bölge B hücreleri esas olarak dalakta bulunur (23).

### 2.1.6 İmmün Sistem Molekülleri

#### 2.1.6.1 Büyük Doku Uygunluk Kompleksi (Major Histokompatibilite Kompleksi, MHC)

İlk olarak insan lökosit hücrelerinde tespit edilmesinden dolayı İnsan lökosit Antijeni (Human Leucocyte Antigen, HLA) olarak tanımlanmıştır. Ancak lökositlerin dışında diğer çekirdekli hücrelerin yüzeyinde de olduğu tespit edilmiştir. Günümüzde HLA antijenlerinin de içerisinde yer aldığı **Büyük Doku Uygunluk Kompleksi** (Major Histokompatibilite Kompleksi, MHC) geniş bir gen ailesini içerisine alan **İmmünglobulin Süpfamilyası** (Şekil 2) tarafından kodlandığı bilinmektedir (23).

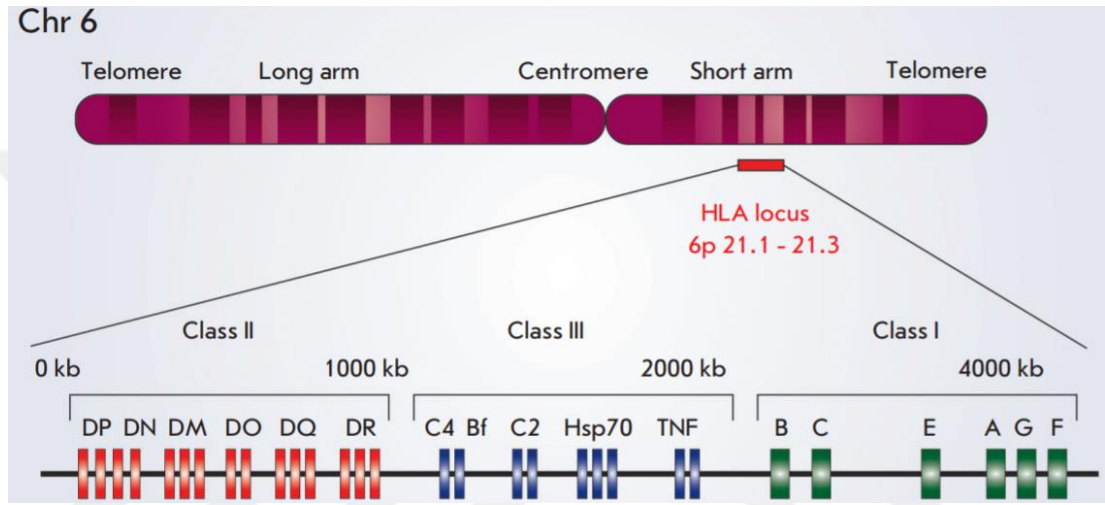


Şekil 2. İmmünglobulin süpfamilyası (23)

MHC antijenleri, bağışıklık sisteminin temel hücreleri olan lökositler ile bağışıklık sisteminin diğer hücreleri arasındaki etkileşimlere arabuluculuk eden önemli hücre yüzeyi antijenleridir. Doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklık yanıtlarında yer alan moleküllerin çoğunu kodlayan HLA, 6. kromozomun kısa kolu üzerinde sentromere yakın bölgede (6p21) MHC lokusunda yer almaktadır (Şekil 3). Yaklaşık 4 milyon baz çifti uzunluğuna sahiptir. Bu oldukça polimorfik DNA bölgesi



*İmmunoglobulin* süperfamilyası olarak adlandırılır. Būnyesinde yaklaşık 130 gen ve 100 psödogen içerir. Yapıları oldukça birbirine benzeyen disülfid bağlar ile bağlanmış antijenleri oluştururlar. Bu genlerin tümü bağışıklık ile bağlantılı değildir. Ancak bu lokusta bulunan iki gen kümesi antijenin immün hücrelere sunulması ve gerekli immün yanıtın oluşmasında merkezi rol oynar. MHC sınıf I ve MHC sınıf II ürünlerini ve antijen sunumunda yer alan diğer birkaç molekülü kodlar (39,40).



Şekil 3. Kromozom 6 üzerindeki HLA lokusu (40)

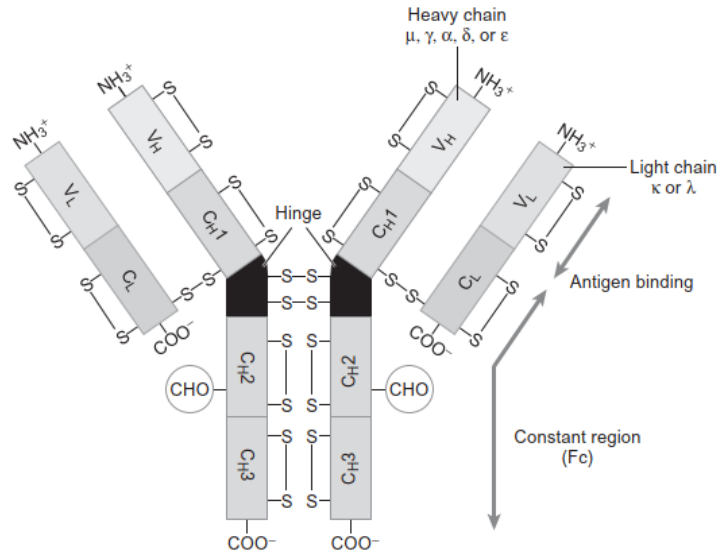
$\beta 2$  mikroglobulin ( $\beta 2$ -M) ile birlikte eksprese edilen MHC sınıf I antijenleri (HLA -A, -B ve -C) (Şekil 3) insan vücudundaki hemen hemen tüm çekirdekli hücrelerin yüzeyinde bulunur. Virüs ile enfekte olmuş hücrede virüse ait antijeni bulundukları hücrelerin yüzeyinde immün sistemin diğer hücrelerine sunarak veya tanıtarak hücre içi patojenlere karşı savunmaya yardımcı olur. Benzer şekilde onkogenik dönüşümün bir sonucu olarak ortaya çıkan anormal hücre içi proteinleri hücre yüzeyinde immün sistemin diğer hücrelerine sunarak onkogenik dönüşüme uğramış hücrelerin saptanmasına yardımcı olurlar. Ayrıca organ nakil tanıma ve reddinde merkezi bir role sahiptir. MHC sınıf I'in aracı olduğu immün yanıtta, genel olarak bağışıklık sisteminin hücresel bölümünü aktive olması sonucu viral enfekte, kanserli veya red gelişmiş transplantasyonda immün sisteme antijen sunan hücrenin öldürülmesi ile sonuçlanır (31).

MHC sınıf I antijenlerinin aksine, MHC sınıf II antijenleri (HLA-DR, HLA-

DP ve HLA-DQ) sınırlı sayıda profesyonel olarak tanımlanabilecek immün sistemin antijen sunan hücrelerinin yüzeyinde bulunur. MHC class II antijenleri normalde sadece dendritik hücreler, makrofajlar, monositler, B hücreleri ve dokuya özgü antijen sunucuları (örn., Langerhans hücreleri) yüzeylerinde, bazı aktive edilmiş T hücrelerinde ve timus ve bağırsaktaki bazı özel epitel hücrelerinde bulunur. MHC sınıf II antijenleri, tipik olarak bakteriyel orijinli hücre dışı patojenlere karşı savunmada son derece önemlidir. Endosomal/lizozomal sistem yolu (*endosomal-lysosomal system*) ile fagositozlanmış organizmalardan üretilen antijenleri sunarak immün yanıtın oluşumunu sağlarlar (40).

### 2.1.6.2 İmmüoglobulinler

İmmüoglobulin monomeri, disülfid bağlarıyla bağlanan özdeş iki hafif ve iki ağır polipeptit zinciri içerir (Şekil 4). Hafif zincirler bir değişken ve bir sabit alan içerir. Ağır zincirler ise, bir değişken ve üç ya da dört sabit alan içerir. Bunların oluşturduğu bir hafif ve bir ağır zincir değişken bölge kombinasyonu, bir epitop bağlanma sahası oluşturur (41).



Şekil 4. İmmüoglobulin yapısı (41)

Sağlıklı bireylerde beş Ig sınıfı-izotipi vardır.

1. IgM: En ağır olan IgM, hücre yüzeyine bağlı bir monomer veya salgılanan bir pentamer olarak bulunur.
2. IgD: Bir monomer olan IgD, neredeyse yalnızca B hücresi yüzeylerinde görüntülenir.
3. IgG: Bir monomer olan IgG dört alt tiptedir. IgG1, IgG2, IgG3 ve IgG4.
4. IgA: Monomerik IgA serumda bulunur. Dimerik formunda mukozal yüzeyler ve sekresyonlarla birlikte bulunur.
5. IgE, serumda nispeten düşük konsantrasyonlarla bulunur. Çoğu mast hücreleri, bazofiller ve eozinofillerin yüzeylerinde adsorbe edilir.

IgM veya IgG antikorunun antijene bağlanması, Ig molekülünün Fc bölgesinde konformasyonel bir değişikliğe neden olarak, klasik kompleman aktivasyon yolunu başlatır (31).

#### 2.1.6.3 İmmün sistemin diğer molekülleri

Protein, peptid veya glikoproteinlerden meydana gelen **sitokinler**, makrofajlar, B lenfositleri, T lenfositleri ve mast hücreleri gibi bağışıklık hücrelerinin yanı sıra endotelial hücreler, fibroblastlar ve çeşitli stromal hücreler de dahil olmak üzere geniş bir hücre grubu tarafından üretilir. Bir sitokin birden fazla hücre tipi tarafından üretilebilir. Hücre yüzeyi reseptörleri aracılığıyla hareket eden sitokinler özellikle immün sistemde önemli görevler üstlenerek humoral ve hücrel immün yanıtlar arasındaki dengeyi düzenler. Aynı zamanda belirli hücre popülasyonlarının olgunlaşmasını, büyümesini ve yanıt vermesini düzenler (23,42).

**Adezyon molekülleri**, hücreden hücreye stabil teması sağlar. **İntegrinler**, çeşitli lökositlerin yüzeylerinde bulunurken **selectinler ve adresinler** lökositlerin dağılacığı dokular ile sınırlıdır ve belirli dokuları tanımlayarak bu dokularla belirli hücre kombinasyonlarının etkileşimlerini kolaylaştırır (23).

## 2.1.7 İmmün Sistem Reseptörleri

### 2.1.7.1 Doğal İmmünite Reseptörleri

Doğal bağışıklık sistemi hücrelerinin germline eksprese olan ve patojene hızlı konakçı tepkisini sağlayan reseptörleri vardır (PRR, TLR, KAR, KIR, CR ve FcR vb.). Bunlardan patern tanıma (recognition) reseptörlerinin (PRR), patojenler üzerindeki şekerlerin, proteinlerin, lipidlerin ve nükleik asitlerin kombinasyonları olan patojenle ilişkili moleküler paternlere (PAMP) bağlanması, patojeni ortadan kaldırmak için inflamasyonu tetikler (31).

Bir tür PRR olan *Toll-like reseptörler* (TLR) immün sisteme ait çeşitli hücrelerde bulunarak inflamasyonu ilerleterek bağışıklık hücrelerinin inflamasyon bölgesine hareketini kolaylaştırmak için sitokin üretimine aracılık ederler. TLR özellikle makrofajlarda ve dendritik hücrelerde bulunur. Aynı zamanda nötrofiller, eozinofiller, epitel hücreleri ve keratinositlerde de eksprese edilir (24).

Scavenger reseptörler çoğunlukla makrofajlar üzerinde bulunan özellikle apoptotik hücre fagositozunda, bakterinin içeri alınması ve fagositozunda rol alan bir PRR'dir (43).

Opsinler mikrobiyal yüzeylere bağlanan ve onları fagositik hücrelere daha çekici hale getiren ve böylece mikropların yok edilmesini kolaylaştıran moleküllerdir. Bu yolla artan fagositik yıkım opsonizasyon olarak adlandırılır. Opsinin reseptörleri fagositik hücrelerde bulunan bir başka PRR'dir (23).

Doğal öldürücü (Natural Killer: NK) hücreler, anormal konakçı hücreleri tanımlamak için *öldürücü aktivatör reseptörleri* (KAR) ve konakçı hücreler sağlıklı olduğunda yok olmalarını engellemek için *öldürücü inhibitör reseptörleri* (KIR) kullanırlar (36).

Birçok hücre, özellikle kan hücreleri, mikroorganizmaların ve immün komplekslerinin yapışmasını ve sindirilmesini destekleyen kompleman aktivasyon fragmanları için reseptörlere sahiptir. Çoğu enflamatuar ve immünokompetan hücrelerde eksprese edilen bu reseptörlere angajman, enflamatuar ve immün reaksiyonları tetikleyen hücresel yanıtları indükler (44,45).

Fc reseptörleri (FcR) ise fagositik hücrelerin yüzeylerinde eksprese edilir. IgA, IgG veya IgM antikorları tarafından epitop bağlanması, antikorun Fc kısmında

konformasyonel bir değişikliği tetikler. Epitop-antikor komplekslerini bağlayarak fagositozu uyarır (46).

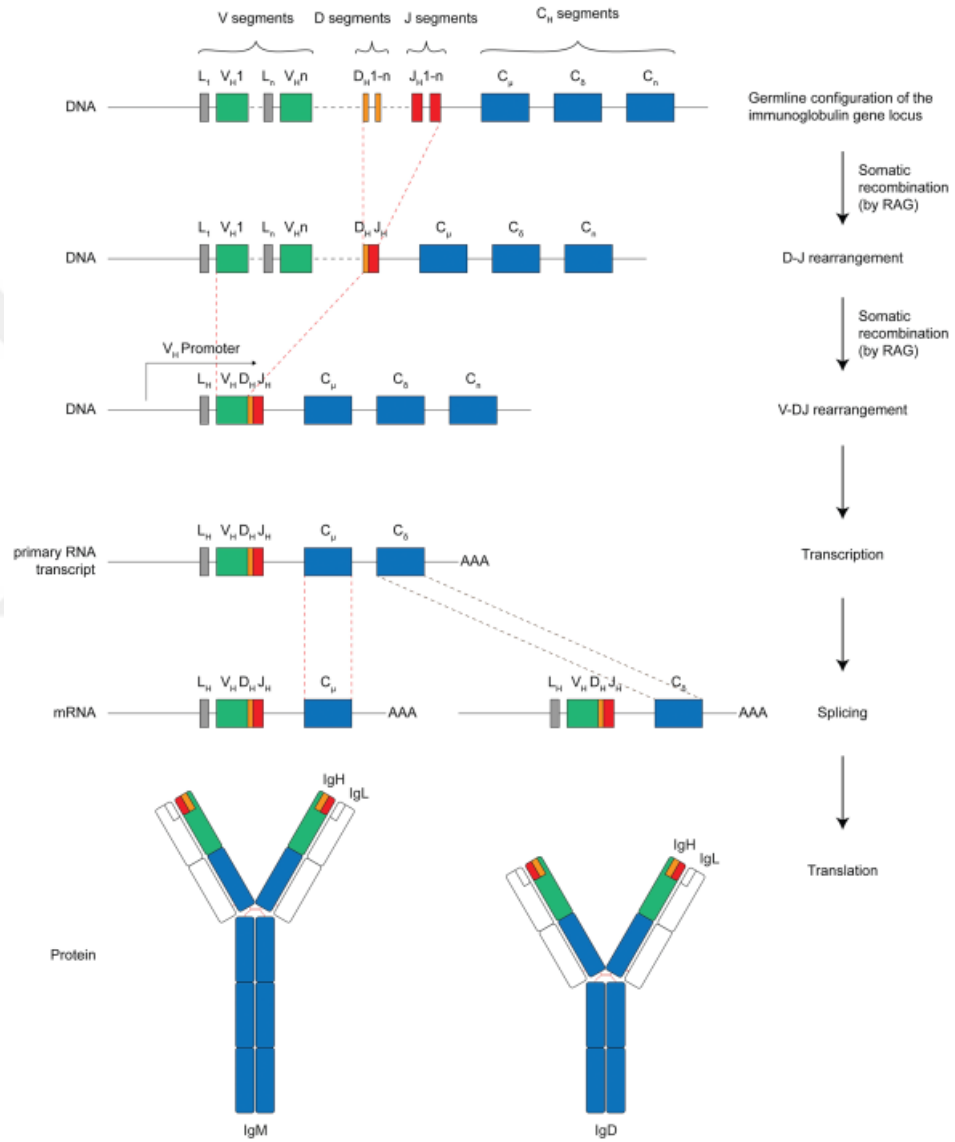
### **2.1.7.2 Edinsel İmmünite Reseptörleri**

Edinsel bağışıklık sistemi somatik olarak üretilen reseptörleri kullanır. Monomerik immünoglobulinler, epitopa özgü B hücre reseptörleri (BCR) olarak görev yaparlar. B hücreleri olgunlaşarak, membranına bağlı BCR'ninkiyile özdeş immünoglobulin salgılayan plazma hücrelerine farklılaşırlar. T hücresi reseptörleri (TCR) ise yalnızca membrana bağlı formlarda bulunur ve majör histokompatibilite kompleksi (MHC) molekülleri tarafından bağlanan epitoplara tanır (28).

B hücre reseptörlerinin (immünglobulinler) ve T hücresi reseptörlerinin hem ağır hem de hafif zincirleri, çok çeşitli değişken bölgeler (VH, VL) ve sabit bölgeler (CH, CL) içerir. Bu değişken bölgeler, daha sonra hem değişken hem de sabit bölgeleri içeren tek bir mRNA transkriptine kopyalanan birden fazla genin yeniden düzenlenmesiyle (DNA seviyesinde) oluşturulur. TCR ve immünoglobulin gen yeniden düzenlenmesi, hücreler antijene maruz kalmadan önce prekürsör T ve B hücresi farklılaşmasının erken aşamalarında meydana gelir (23). DNA yeniden düzenlenmesi, T ve B hücre reseptörleri için epitopa özgü çeşitliliğin önemli bir kısmından sorumludur. Yeniden düzenleme hem DNA hem de RNA seviyesinde nükleotidlerin çıkarılması (delesyonlar) ve ardından yeniden birleştirilmesi veya belirli DNA sekanslarının inversiyonu yoluyla gerçekteşir. Varyasyonlar bağlantı çeşitliliğinden kaynaklanır. Rekombinasyon enzimleri veya rekombinazlar, TCR ve immünoglobülin zincirlerinin değişken bölgelerini oluşturan genetik yeniden düzenleme ve rekombinasyona aracılık eder (31).

Epitoplara karşı birincil antikor yanıtında, IgM izotipinin üretimi esastır. Hafıza B hücreleri, antijen tarafından müteakip yeniden uyarılmaya ve T hücreleri ile etkileşime yanıt olarak, yeniden düzenlenmiş VDJ genlerini (Şekil 5) farklı ağır zincir C bölgesi genleriyle yan yana getirmek için DNA yeniden düzenlemesine tabi tutulur. Böylece immünoglobulin izotipini (IgG, IgA veya Ig E) değiştirir (24). Somatik hipermutasyon, bellek B hücrelerinin aynı epitopa tekrar maruziyeti ile uyarıldığı süreçte gerçekteşir (Şekil 5). Yeniden uyarılmayı izleyen hızlı proliferasyon sırasında VL veya HL bölgelerini kodlayan DNA'da küçük nokta mutasyonları meydana gelir. Bu mutasyonlarla antikorların belirli bir antijene bağlanması tekrar eden

maruziyetlerle giderek güçlenmesi afinite matürasyonu olarak tanımlanır. Antijen bağlanma bölgelerini etkileyebilecek küçük mutasyonların birikiminden ve daha sıkı bağlanma ile sonuçlanan mutasyonları taşıyan hücrelerin pozitif seçiminden kaynaklanır. (24, 47-48).



Şekil 5. Germline gen segmentlerinden immünoglobulinin ağır zincir (IgH) V(D)J rekombinasyonu. İmmünoglobulin gen lokusu segmentleri: değişken (V), çeşitlilik (D), birleştirme (J) ve sabit (C) gen segmenti. V, D ve J gen segmentlerini içeren değişken (V) bölge, bu sekansların rastgele rekombinasyonu ile üretilir. (48)

### 2.1.8 Edinsel İmmün Yanıt Regülasyonu

Timus içinde negatif seleksiyon yoluyla konakçı hücelere zarar veren timositlerin ortadan kaldırılması, tolerans oluşturmak için önemli bir mekanizmadır. *AIRE* geni, timusta ifade edilen timik olmayan “self” antijenlerin sayısını arttırarak negatif seleksiyonun etkinliğini sağlar. Adaptif bağışıklık sistemi kendisine ait hücreleri tanıyarak organizmanın kendisine karşı reaksiyon başlatmaz. Bu durum selektif yanıtsızlık veya merkezi tolerans olarak adlandırılır. Ancak, tüm self antijenler timusta sunulmaz ve bazı self antijenler timik fonksiyonun azalmasından sonra ortaya çıkar. Sonuç olarak, potansiyel olarak otoreaktif olan bazı T hücreleri pozitif ve negatif seleksiyondan kaçabilir (31,35).

Periferik tolerans mekanizması olan naif lenfosit tepkisizliği veya anerji, TCR (MHC aracılığıyla) veya tolerans’ın epitopla birleşmesinden sonra antijen sunan bir hücre (çoğunlukla dentritik hücre) veya CD4<sup>+</sup> T hücresinden ikinci sinyal talimatı olmamasıyla gelişir. T hücreleri, APC’lerin taşıdığı CD86 (B7.1) veya CD86 (B7.2) kostimülatör moleküllerle birleştiren CD28’i yapısal olarak eksprese ederler. TCR’nin uygun pMHC (ilk sinyal) + CD28:CD80/86 (ikinci sinyal) ile bağlanması, T hücresini IL-2 ile IL-2 reseptörü (IL-2R) üretmesi ve hücre döngüsüne girmesi için uyarır. T hücresinin aktivasyonundan ve işlevinin tamamlanmasından sonra, naif T hücrelerinin Golgi aparatında bulunan CD152 (sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 veya CTLA-4), CD28’den 100 kat daha büyük bir istekle CD80/86 ile bağlandığı dış hücre zarına hareket eder. CD152 (CTLA-4) bağlantısı, T hücresinin IL-2 mRNA ekspresyonunu ve hücre döngüsü inhibe eder (28).

T düzenleyici (Treg) hücreler de periferik toleransta görevlidir ve hem CD4 hem de CD25 (IL-2 reseptörü  $\alpha$  zinciri) moleküllerini taşır. Treg’ler, otoimmün reaksiyonların önlenmesinde ve bazı yabancı antijenlere reaksiyonların önlenmesinde rol oynamaktadır. Treg hücreleri, timusta pozitif ve negatif seleksiyona uğrar (28).

CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin süpresör T hücre tipi bağışıklık reaksiyonları baskılayabilir. Süpresör T hücreleri, CD28 yüzey molekülü (CD8<sup>+</sup> CD28<sup>-</sup>) taşımazlar. Greft reddinin önlenmesi ve bazı otoimmün hastalıkların inhibisyonu ile ilişkilendirilmişlerdir. Etkilerinin bir kısmının APC’ler üzerindeki etkileri yoluyla gerçekleştirirler. Aktivasyonu, CD4<sup>+</sup> T yardımcı hücreler ile etkileşim gerektirir. Ayrıca Treg hücrelerinin farklı bir özelliği olan FOXP3 nükleer transkripsiyon

faktörünü de ekprese ederler (49).

Th17 (CD4+) hücreler, IL-23 tarafından uyarılırlar ve monositik hücreler ve nötrofiller üzerinde etkili olan IL-17 salgırlar. IL-17 salgılanması, onları inflamasyon alanına çekerek inflamatuvar sitokinleri (IL-1, IL-6) ve kemokinleri (IL-8) üretmeye sevk eder (31).

## 2.2. İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları (İSDK)

### 2.2.1 Tanımı ve Tarihsel Süreç

İmmün sistemin doğuştan bozuklukları geleneksel tabirle primer immün yetmezlikler, immün yanıtta bir eksiklik veya anormallikle karakterize edilen bir dizi heterojen konjenital hastalıklar grubudur. Bu patolojilerin altında yatan değişiklikler, bağışıklık sistemi içinde farklılaşma süreçlerini, fonksiyonel veya hücrel etkileşim dengelerini içerir. Enfeksiyon hastalıklarına, otoimmüniteye, otoinflamatuvar hastalıklara, alerji veya malignitelere karşı artan duyarlılık olarak ortaya çıkar. İSDK, immünitede görevli proteinlerin ekspresyon kaybı, fonksiyon kaybı veya kazancı ile sonuçlanan monojenik germline mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır (1,16-18).

İmmünite kusurlarını da içeren Ataksi teleanjyektazi 1926'da Wiskott Aldrich sendromu ise 1937'de keşfedilmiştir (6,8). 1950'de Eduard Glanzmann ve Paul Riniker, *Candida albicans* enfeksiyonlarının lenfosit eksikliği ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (9). Ancak 1952'de Ogden Bruton tarafından X'e bağlı **Agamaglobulinemi**'nin keşfi İSDK'nın kavramsal dönüm noktası olmuştur (7). 1958'de ise Bern ve Zürih'ten iki İsviçreli araştırma grubu da (Hassig Cottier, R.Tobler ve Walter Hitzig) bir immün yetmezlik tablosu belirlediler. Başlangıçta İsviçre tipi Agamaglobulinemi olarak adlandırılan bu tablo, 1970 yılında dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından **Şiddetli Kombine İmmün Yetmezlik** (Severe Combined Immunodeficiency, SCID) olarak yeniden adlandırılmıştır (49). 1954'te Robert Good, şu anda Kronik Granülomatöz Hastalık (Chronic granulomatous disease , CGD) olarak bilinen ölümcül seyri olan granülomatöz hastalığı keşfetti (50). Yaklaşık yarım asrı aşan süreçte modern tanı imkânlarındaki hızlı gelişmelere bağlı olarak İSDK tanımı ve sınıflandırması giderek genişlemiştir. Günümüzde moleküler genetik teknolojisindeki ilerlemelerin sonucu olarak İSDK içerisinde sınıflandırılan, 430'u aşan immün yetmezlik ile giden hastalık tanımlanmıştır (1).



### 2.2.2 Prevalans ve Demografik Özellikleri

Hastalığın ön planında baskın olarak antikor eksiklikleriyle ortaya çıkan bozukluklar, İSDK'ların çoğunluğunu oluşturur. Bunlar içerisinde IgA eksikliği en sık rastlananan doğuştan immünite kusuru olup sıklığı 333-700 doğumda 1 dir (12,13). Toplumlar arasında farklılık göstermekle birlikte prevalansı yaklaşık 10.000 canlı doğumda 1 olarak kaydedilmiş olsa da (10,11), daha önceden tanımlanmamış immünite kusurlarının devam eden keşfi ve klinik fenotiplerin tanımlanmasındaki ilerlemeler, İSDK'ların toplam sıklığının en az 2-10/10.000 olduğunu göstermektedir. (1). Kılıç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Türkiye için tüm İSDK'ların prevalansı 30.5/100.000 olarak tespit edilmiştir (51). Otozomal resesif olarak kalıtılan İSDK sıklığının Türkiye gibi akraba evliliği oranı nispeten yüksek ülkelerde daha fazla olması beklenebilir (14).

İSDK'nın erkeklerde görülme sıklığı kadınlara göre 1.4 ila 2 kat daha fazla olduğu değerlendirilmesine karşın, *Avrupa İmmün Yetmezlik Derneği* (European Society for Immunodeficiencies, ESID) kayıtlarında son yıllarda kadınlarda giderek artan görülme sıklığı olduğu gösterilmiştir. Erkeklerin kadınlara göre baskın olmasında X'e bağlı hastalıkların tanımlanmış ve tespit edilebiliyor olması sorumlu olduğu düşünülürken, kadın hastalardaki sayısal ve oransal artış, otozomal resesif kalıtım modeliyle geçen yeni İSDK'ların ortaya çıkmasına bağlı olabileceği öngörülmektedir (52).

Küresel kayıtlarda kadınlardaki görülme sıklığında artış olmasına rağmen Asya (Japonya) için erkek kadın oranı 2.3/1'dir (53). Avustralya ve Yeni Zelanda verilerine göre bu bölgelerde hala hastaların yarısından fazlasını erkekler oluşturmaktadır (54,55).

İSDK'nın başlama yaşı, kusura bağlı olarak değişir. Hafif klinik oluşturan genetik kusurları olan hastalar yetişkinlik çağına kadar asemptomatik olarak yaşayabilirken, ciddi klinik tablo oluşturan hastalar erken yaşlarda hayatını kaybedebilir. Erken çalışmalarda, İSDK'lı hastaların ancak %5 ila %10'unu yetişkin hastalar oluşturduğu bildirilirken (56), ESID ve Jeffrey Modell Vakfı'nın (JMF) son dönem kayıtlarında yeni tanı konulan yetişkin hastaların arttığı görülmektedir (52). Gelişen bakım hizmetleri İSDK'lı hastaların yaşam beklentisini artırırken, İSDK'nın daha iyi tanımlanabiliyor olması yetişkin prevalansının artmasına da yol açmıştır (56,57).

### 2.2.3 İSDK Sınıflaması

Bağıışıklık sisteminin fizyolojisindeki öncelikle ve esas olarak etkilenen unsura göre, İSDK doğal (spesifik olmayan) ve edinsel (adaptif ve spesifik) konjenital immünite bozuklukları şeklinde gruplanabilir. İSDK sınıflamasının güncel çerçevesi artmış enfeksiyon riski ve sonuçlarına ek olarak immün sistem bileşenlerinin çalışma ilkelerindeki regülasyon sorunlarına bağlı immün disregülasyon ve otoimmünite sendromlarını da kapsamaktadır (58). 1999'dan bu yana, *Uluslararası İmmünolojik Dernekler Birliği (The International Union of Immunological Societies, IUIS)* ve bu birliğin alt komitesi olan *Doğuştan İmmünite Kusurları Komitesi uzman komitesi*, her iki yılda bir doğuştan immünite kusurlarının güncelleştirilmiş sınıflandırmasını yayınlamaktadır. Enfeksiyon, malignite, alerji, otoimmünite ve otoinflamasyon gibi çeşitli doğuştan immünite kusuru fenotipinin altında yatan 400'ü aşan tek gen kusurunu içeren sınıflama tablosu en son 2019 yılında güncellenerek yayınlanmıştır. 2017'de önerilen sınıflamadan farklı olarak kemik iliği yetmezliklerine neden olan tek gen bozuklukları da komite tarafından İSDK alt grubu olarak sınıflamaya dahil edilmiştir (1). 2021 yılı şubat ayında ise, son bir yıl içindeki İSDK ile yeni ilişkilendirilen genler de bildirilmiştir (59).

#### 2.2.3.1 Hücresel ve Hümorale İmmüniteyi Etkileyen İSDK: Kombine immün yetmezlikler

##### 1. T-B+ SCID

Şiddetli Kombine İmmün Yetmezlikler (Severe Combined Immunodeficiencies, SCID), hem T lenfosit hem de B lenfosit sayılarının veya işlevinin birlikte azalmasıyla karakterize heterojen hastalık grubudur. SCID, etkilenen hastalarda gözlenen periferik kan lenfosit popülasyonlarının kompozisyonuna göre kategorize edilebilir. Hem T hücresi hem de B hücresi lenfopenisi ile birçok SCID formu mevcuttur. Bu tür immün yetmezliklerin bir grubunda B hücresi farklılaşması korunur ve normal veya hatta yüksek sayıda periferik kan B lenfositleri gözlemlenebilir. Bu tür immün yetmezlikler SCID T- B+ immün yetmezlik olarak adlandırılır. X'e bağlı SCID tipini (SCIDX-1), Janus kinaz aile üyesi 3'ün eksikliğini (JAK3-SCID) ve IL7 reseptörü alfa zincirinin (IL7-R $\alpha$  –SCID) ekspresyon kusurunu içerir (60).

## 2. T-B- SCID

DNA çift sarmal kırıkları (dsb: double strain breaks), mayotik rekombinasyon, B hücre matürasyonundaki V(D)J rekombinasyonu ile gerçekleşen somatik rearanjman ve immünoglobulin sınıf değiştirme rekombinasyonu gibi programlanmış belirli hücrel mekanizmaların bir parçası olarak oluşabileceği gibi DNA replikasyonu gibi fizyolojik süreçlerde patolojik olarak veya malignite tedavileri sırasında **kasıtlı olarak** oluşturulabilir. V(D)J rekombinasyonu edinsel bağışıklık sisteminde, çeşitli gen birimlerinin kombinasyonel birleşmesi ile hem immünoglobulinlerin (BCR) hem de T hücresi reseptör (TCR) genlerinin değişken bölgelerinin oluşturulmasından sorumludur. Rekombinasyonu aktive eden gen 1 ve 2 proteinleri (Rag1 ve Rag2) tarafından başlatılan bu somatik yeniden düzenleme süreci, Ig ve TCR genlerinde lenfosit spesifik DNA-dsb ile gerçekleşir. Bu mekanizmalardaki kusurlar T-B- SCID tipi immün yetmezliklere neden olur (61).

Homolog olmayan uç birleştirme (Non-Homologous End Joining: NHEJ) yolunu izleyen hücrel DNA onarım mekanizması, DNA sarmalındaki çift zincir kırıklarını tamirini sağlar. V(D)J rekombinasyonu, B hücresi ve T hücresi immünolojik repertuarlarının çeşitliliğini oluşturmada aracı olmakla kalmaz, aynı zamanda lenfoid serinin gelişiminde kritik bir kontrol noktası oluşturur. Rag1 / Rag2 veya NHEJ faktör kusurlarından kaynaklanan V(D)J rekombinasyon eksikliği, sırasıyla kemik iliğinde ve timustaki pre-B ve pre-T hücrelerinin olgunlaşmasının blokajına neden olarak SCID'a yol açar (62).

## 3. SCID'a göre daha hafif seyreden Kombine immün yetmezlikler (Combined Immunodeficiencies: CID)

Kombine immün yetmezlikler (Combined Immun Deficiency: CID), lenfosit sayılarının azaldığı ve lenfosit fonksiyonlarının bozulduğu bir grup kalıtsal immün yetmezlik oluşturur. Bu tip yetmezlikler, başlıca T hücrelerini etkiler. İmmünoglobulin üretimi için kritik rollerini ortadan kaldırır. Dolaylı olarak immünoglobulinlerin azalmasına neden olur. Ayrıca B hücrelerini veya doğal öldürücü (NK) hücreleri de doğrudan etkileyebilir. SCID'a neden olduğu bilinen genlerden de kaynaklanabilse de kombine immün yetmezlikler genellikle daha az şiddetli bir klinik fenotipe sahiptir (63).

CD3+ T hücre lenfopenisi ile tanımlanan SCID'e benzer şekilde, farklı lenfosit popülasyonları etkilenir. CID'de, timustan kısmi veya tam olgun T hücresi çıkışına izin veren daha az şiddetli hipomorfik mutasyonlar nedeniyle, periferik T hücreleri SCID'dakine göre daha fazla sayıda üretilir (64). Tablo 1'de hücrel ve humoral immüniteyi etkileyen İSDK ve ilişkili genler gösterilmiştir (1).

**Tablo 1 Hücrel ve Humoral İmmüniteyi etkileyen İSDK: Kombine immün yetmezlikler**

| <b>1. T-B+ SCID</b>  |                                                                                                                                                                                            |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>IL2RG (XL)</b>    | <b>γc eksikliği:</b> Çok düşük T hücre / Düşük Ig ve NK                                                                                                                                    |
| <b>JAK3</b>          | <b>JAK3 eksikliği:</b> Çok düşük T hücre / Düşük Ig ve NK                                                                                                                                  |
| <b>LAT</b>           | LAT eksikliği: T / B hücre ve Ig normal-yüksek. Tipik SCID veya adenopati, splenomegali, rekürren enf, otoimmünite ile birlikte CID                                                        |
| <b>IL7R</b>          | <b>IL7Rα eksikliği:</b> Çok düşük T hücre / Düşük Ig                                                                                                                                       |
| <b>PTPRC</b>         | <b>CD45 eksikliği:</b> Çok düşük T hücre / Normal γ/δ T hücre/ Düşük Ig                                                                                                                    |
| <b>CD3D</b>          | <b>CD3δ eksikliği:</b> Çok düşük T hücre / γ/δ T hücre yok / Düşük Ig                                                                                                                      |
| <b>CD3E</b>          | <b>CD3ε eksikliği:</b> Çok düşük T hücre / γ/δ T hücre yok / Düşük Ig                                                                                                                      |
| <b>CD3Z</b>          | <b>CD3ζ eksikliği:</b> Çok düşük T hücre / γ/δ T hücre yok / Düşük Ig                                                                                                                      |
| <b>2. T-B- SCID</b>  |                                                                                                                                                                                            |
| <b>RAG1<br/>RAG2</b> | <b>RAG eksikliği:</b> T ve B hücre çok düşük, Ig'ler azalmış. Normal NK hücre sayısı, ancak muhtemelen aktive NK hücrelerine bağlı olarak artmış greft reddi riski                         |
| <b>DCLRE1C</b>       | <b>DCLRE1C eks.:</b> T ve B hücre çok düşük, Ig'ler azalmış. Radyasyon sensitivitesi, Normal NK hücre sayısı, ancak muhtemelen aktive NK hücrelerine bağlı olarak artmış greft reddi riski |
| <b>PRKDC</b>         | <b>DNA PKcs eks.:</b> Normal NK, Radyasyon sensitivitesi, mikrosefali                                                                                                                      |
| <b>NHEJ1</b>         | <b>Cernunnos/XLF eks.:</b> Normal NK, Radyasyon sensitivitesi, mikrosefali                                                                                                                 |
| <b>LIG4</b>          | <b>DNA ligase IV eksikliği:</b> Normal NK, Radyasyon sensitivitesi, mikrosefali                                                                                                            |
| <b>ADA</b>           | <b>Adenozin deaminaz eksikliği:</b> Düşük NK, kemik defektleri, bilişsel defektleri, pulmoner alveolar proteinosis olabilir                                                                |
| <b>AK2</b>           | <b>AK2 eksikliği:</b> Nötropeni ile birlikte Retiküler Disgenesis, sağrlık                                                                                                                 |
| <b>RAC2</b>          | <b>Aktive RAC2 bozukluğu :</b> Rekürren bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, lenfoproliferasyon, nötropeni                                                                                   |

| 3. SCID'a göre daha hafif seyreden Kombine immün yetmezlikler |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>CD40LG (XL)</b>                                            | <b>CD40 ligand (CD154) eks. :</b> sIgM <sup>+</sup> IgD <sup>+</sup> naıve B hücresi mevcut, IgG <sup>+</sup> IgA <sup>+</sup> IgG <sup>+</sup> IgA <sup>+</sup> IgE <sup>+</sup> hafıza B hücresi yok. IgM normal/yüksek, diğer Ig'ler düşük. Şiddetli ve fırsatçı enfeksiyonlar, idiyopatik nötropeni, hepatit ve kolanjit, Cryptosporidium enfeksiyonları, kolanjiyokarsinom, otoimmün sitopeniler, periferik nöroektodermal tümörler |
| <b>CD40</b>                                                   | <b>CD40 eksikliği:</b> Nötropeni, fırsatçı enfeksiyonlar, gastrointestinal ve safra yolları ve karaciğer hastalığı, Cryptosporidium enfeksiyonları                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>ICOS</b>                                                   | <b>ICOS eksikliği:</b> Düşük Ig. Tekrarlayan enfeksiyonlar, otoimmünite, gastroenterit, granülomlar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>ICOSLG</b>                                                 | <b>ICOSL eksikliği:</b> Düşük T ve B hücre. Düşük Ig. Tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, nötropeni.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>CD3G</b>                                                   | <b>CD3γ eksikliği:</b> Normal sayıda T hücre fakat düşük TCR ekspresyonu. İmmünite eksikliği ve değişken şiddette otoimmünite                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>CD8A</b>                                                   | <b>CD8 eksikliği:</b> Normal CD4 T hücre fakat CD8 T hücre yok. Rekürren enfeksiyonlar veya asemptomatik de olabilir.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>ZAP70</b>                                                  | <b>ZAP70 eksikliği:</b> İmmün disregülasyon, otoimmünite                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>RHOH</b>                                                   | <b>RHOH eksikliği:</b> Toplam T hücre sayısı normal, kısıtlı repertuar, az sayıda naif T hücre, CD3 angajmanına yetersiz proliferasyon. HPV enfeksiyonu, akciğer granülomları, molluscum contagiosum, lenfoma                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>TAP1<br/>TAP2<br/>TAPBP</b>                                | <b>MHC Class 1 Eksikliği:</b> Düşük CD8, normal/azalmış CD4 T hücresi. Vaskulit, pyoderma gangrenozum                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>B2M</b>                                                    | <b>MHC Class 1 Eksikliği:</b> Sinopulmoner enfeksiyonlar, kutanöz granülom. β2m ilişkili proteinler olan MHÜCRE-I, CD1a, CD1b, ve CD1c yoktur.                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>CIITA<br/>RFXANK<br/>RFX5<br/>RFXAP</b>                    | <b>MHC Class 2 Eksikliği:</b> Düşük CD4 T hücre, lenfositler üzerinde azalmış MHÜCRE 2 ekspresyonu. Normal/düşük Ig. Büyüme geriliği, solunum yolu ve gastrointestinal enfeksiyonlar, karaciğer / safra yolları hastalığı                                                                                                                                                                                                                |
| <b>DOCK2</b>                                                  | <b>DOCK2 eksikliği:</b> Düşük T hücre. Zayıf antikor yanıtıyla birlikte normal/düşük Ig. Erken invaziv herpes ve bakteriyel enfeksiyonlar. İşlev bozukluğuyla birlikte normal NK hücre sayısı. Hematopoietik ve non-hematopoietik hücrelerde azalmış interferon yanıtı                                                                                                                                                                   |
| <b>ZAP70<br/>(LOF/GOF)</b>                                    | <b>ZAP70 kombine hipomorfik veya aktive edici mutasyonlar:</b><br>Azalmış CD8, azalmış/normal CD4 T hücre. Normal/azalmış B hücre Normal IgA, Düşük IgM, normal/düşük IgG. Aşılarla karşı protektif antikor yanıtı                                                                                                                                                                                                                       |

|                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>POLD1</b><br><b>POLD2</b>     | <b>Polimeraz Eksikliği:</b> CD4 T hücreler düşük. Maturasyonu normal düşük B hücreler. Düşük IgG. Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, deri enfeksiyonları, siğiller ve molloskum, kısa boy, bilişsel yetersizlik                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>STK4</b>                      | <b>STK4 eksikliği:</b> CD4 lenfopeni, saf T hücrelerinde azalma, TEM ve TEMRA hücrelerinde artış, zayıf proliferasyon. Azalmış hafıza B hücre ve IgM, artmış IgG, IgA, IgE. Zayıflamış antikor yanıtı. Aralıklı nötropeni, bakteriyel, viral (HPV, EBV, molluskum), kandida enfeksiyonlar, lenfoproliferasyon, otoimmün sitopeniler, lenfoma, konjenital kalp hastalığı                                                                                                                                                         |
| <b>TRAC</b>                      | <b>TCRα eksikliği:</b> Az miktarda CD3 dim+ TCRαβ popülasyonu haricinde TCRαβ hücre yoktur. T hücrelerin çoğu γδ: yetersiz proliferasyon. Tekrarlayan viral, bakteriyel, fungal enfeksiyonlar, immün disregülasyon ve otoimmünite, ishal                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>LCK</b>                       | <b>LCK Eksikliği :</b> Düşük CD4 ve Treg hücre, kısıtlı T hücre repertuarı, zayıf TCR sinyalizasyonu. Yüksek IgM ve normal IgG ve IgA. Tekrarlayan enfeksiyonlar, immün düzensizlik, otoimmünite                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>ITK</b>                       | <b>ITK Eksikliği:</b> Progresif CD4 T hücre lenfopenisi; kısıtlı T hücre aktivasyonu. Normal/düşük Ig. EBV ile ilişkili B hücre lenfoproliferasyonu, lenfoma, immün düzensizlik                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>MALT1</b>                     | <b>MALT1 Eksikliği:</b> Normal T hücre sayısı; zayıf proliferasyon. Ig düzeyleri normal ama zayıf spesifik antikor yanıtı. Bakteriyel, fungal, viral enfeksiyonlar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>CARD11</b><br><b>(AR LOF)</b> | <b>CARD11 Eksikliği:</b> Normal T ve B hücre düzeyi; baskın olarak naif T hücre ve transiyonel B hücre Ig: yok/düşük. <i>Pneumocystis jirovecii</i> pnömonisi, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>BCL10</b>                     | <b>BCL10 Eksikliği:</b> Normal T ve B hücre düzeyi: az sayıda hafıza T ve Treg hücre, azalmış hafıza ve dönüştürülmüş B hücre. Düşük Ig. Tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, kandidiyazis, gastroenterit                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>IL21</b>                      | <b>IL-21 Eksikliği:</b> Düşük B hücre: azalmış hafıza ve dönüştürülmüş B hücre Hipogamma- globulinemi, zayıf spesifik antikor yanıtı, artmış IgE düzeyi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>IL21R</b>                     | <b>IL-21R Eksikliği:</b> Normal sayıda T hücre: düşük sitokin üretimi, antijene karşı düşük proliferasyon. Normal sayıda B hücre: azalmış hafıza ve dönüştürülmüş B hücre Tekrarlayan enfeksiyonlar, <i>Pneumocystis jirovecii</i> , <i>Cryptosporidium</i> enfeksiyonları, karaciğer hastalığı                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>DOCK8</b>                     | <b>DOCK8 Eksikliği:</b> T hücre lenfopenisi, naif CD8 T hücre azalmış, bitkin CD8 TEM artmış, MAIT ve NKT hücreleri azalmış, γδ T hücreleri artmış, fonksiyonları azalmış az sayıda Treg. Total B hücre artışı, azalmış bellek B hücre, zayıf B hücre periferik toleransı. Çok yüksek IgE, düşük IgM, normal/ yüksek IgG ve IgA, yetersiz antikor yanıtı. Zayıf işlevli düşük NK. Eozinofili, tekrarlayan enfeksiyonlar, kutanöz viral, fungal ve stafilokok enfeksiyonları, şiddetli atopi / alerjik hastalık, kanser diyatezi |
| <b>TNFRSF4</b>                   | <b>OX40 Eksikliği:</b> Normal sayıda T ve B hücre: antijen spesifik hafıza CD4 hücre ve hafıza B hücre düzeyi düşük. HHV8'e karşı bozulmuş bağışıklık, Kaposi sarkomu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>IKBKB</b>                     | <b>IKBKB Eksikliği:</b> Normal sayıda T ve B hücre: Treg ve γ/δ T hücre yok, bozuk TCR aktivasyonu. Fonksiyonu yetersiz Düşük Ig düzeyi. Tekrarlayan bakteriyel, viral, fungal enfeksiyonlar, fırsatçı enfeksiyonlar                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>MAP3K14</b>   | <b>NIK Eksikliği:</b> Normal sayıda T hücre: antijen karşı yetersiz proliferasyon yanıtı. Düşük sayıda B hücre: dönüştürülmüş B hücre sayısı düşük. Düşük Ig. Düşük NK sayısı ve işlevi, tekrarlayan bakteriyel, viral ve Cryptosporidium enfeksiyonları                                                                                                                |
| <b>RELB</b>      | <b>RelB Eksikliği:</b> Normal sayıda T hücre: yetersiz çeşitlili, mitojenlere azalmış proliferasyon yanıtı, antijen yanıtı yok. B hücre sayısında önemli derecede artış. Spesifik antikor yanıtı bozulmuş. Tekrar eden enfeksiyonlar.                                                                                                                                   |
| <b>RELA (OD)</b> | <b>RelA haplo yetersizliği:</b> T hücre sayısı normal / artmış. B hücre ve Ig düzeyi normal sayıda. Kronik mukokutanöz ülserasyon, bozulmuş NFkB aktivasyonu; azalmış inflamatuvar sitokin üretimi                                                                                                                                                                      |
| <b>MSN (XL)</b>  | <b>Moesin Eksikliği:</b> Normal sayıda T hücre: defektif migrasyon ve proliferasyon. B hücre sayısı düşük. Zamanla azalan Ig'ler. Bakteri, suçlu ile tekrarlayan enfeksiyonlar, nötropeni                                                                                                                                                                               |
| <b>TFRC</b>      | <b>TFRC Eksikliği:</b> Normal sayıda T hücre: yetersiz proliferasyon. Normal sayıda B hücre: düşük hafıza B hücre Düşük Ig'ler. Tekrarlayan enfeksiyonlar, nötropeni, trombositopeni                                                                                                                                                                                    |
| <b>REL</b>       | <b>c-Rel Eksikliği :</b> Normal sayıda T hücre: azalmış hafıza CD T hücre, yetersiz proliferasyon Düşük B hücre sayısı: çoğunluğu naif B hücre, az sayıda dönüştürülmüş B hücre, bozuk proliferasyon. Düşük Ig sayısı, spesifik antikor yanıtı yetersiz. Bakteriler, mikobakteriler, salmonella ve fırsatçı etkenle tekrarlayan enfeksiyonlar. Kusurlu doğal bağışıklık |
| <b>FCHO1</b>     | <b>FCHO1 Eksikliği:</b> T hücre sayısı düşük: yetersiz proliferasyon. Tekrarlayan enfeksiyonlar (viral, mikobakteriler, bakteriyel, fungal), lenfoproliferasyon, gelişme bozukluğu, artan aktivasyon kaynaklı T hücre ölümü, kusurlu klatriin aracılı endositoz                                                                                                         |

### 2.2.3.2 Sendromik özelliklerle ilişkili kombine immün yetmezlikler

Sendromlarla birlikte görülen immün yetmezliklerde, immünite kusurları genellikle sendrom tanısı konduktan sonra tanımlanır ve majör bir klinik problem olarak ortaya çıkmayabilir. Bazı durumlardaysa immünite kusurları mevcut olmayabilir (64). Wiskott-Aldrich sendromu ve ataksi telenjektazi gibi hem primer hem de sendromik immün yetmezlik kategorilerine giren birçok genetik bozuklukta, immün sistem dışındaki karakteristik bir organ fonksiyon bozukluğu ve dismorfolojik özelliklerle iyi tanımlanmış bir immünite kusuru birlikte görülebilir. Genetik çalışmalar, ilgili gendeki mutasyonlarla immün yetmezliğin şiddetinin değişebildiği ve tespit edilen anomalilerin saptanan mutasyona sahip bireylerin yalnızca bazılarında mevcut olabildiğini göstermektedir. Embriyogenez hataları, kromozomal anormallikler, teratojenler, metabolik bozukluklar gibi mekanizmalarlar hem

bağışıklık hem de diğer organ sistemlerini etkileyebilecek sendromlara yol açabilir (Tablo 2) (1,65).

**Tablo 2 Sendromik özelliklerle ilişkili kombine immün yetmezlikler**

| <b>1.Konjenital trombositopeniyle birlikte olan İSDK</b>                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>WAS<br/>(XL, LOF)</b>                                                                                | <b>Wiskott-Aldrich sendromu:</b> T hücrelerinde progresif azalma ve anti-CD3'e anormal lenfosit yanıtı, normal sayıda B hücre, düşük IgM ve polisakkaritlere karşı düşük antikor yanıtı. Mikrotrombositopeni, egzama, tekrarlayan bakteriyel / viral enfeksiyonlar, kanlı diyare, lenfoma, otoimmün hastalık, IgA nefropatisi.                                                                                                                                                         |
| <b>WIPF1</b>                                                                                            | <b>WIP Eksikliği:</b> T hücre sayısı azalmış. Anti-CD3'e karşı kusurlu lenfosit yanıtı. B hücre sayısı normal veya azalmış. Yüksek IgE düzeyleri haricinde normal Ig düzeyleri. Mikrotrombositopeni-normo trombositopeni, tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, egzama, kanlı ishal; WAS proteini yok.                                                                                                                                                                        |
| <b>ARPC1B</b>                                                                                           | <b>Arp2 / 3 aracılı filaman dallanma hatası:</b> T ve B hücre sayısı normal. Yüksek IgA ve IgE düzeyleri. Ilımlı trombositopeni, tekrarlayan invaziv enfeksiyonlar; kolit, vaskülit, otoantikorlar (ANA, ANCA), eozinofili; defektif Arp2 / 3 filament dallanması                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>2. Tablo 1'de listelenenler dışındaki DNA onarım kusurları</b>                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>ATM</b>                                                                                              | <b>Ataksi-telenjektazi:</b> T hücrelerde progresif azalma, mitojenlerle yavı proliferasyon. Yenidoğan tarama (YDT) testlerinde TREC ve T hücre düzeyi düşük olabilir. B hücre düzeyi normal. Sıklıkla IgA, IgE ve IgG alt grup düzeyleri düşük. IgM monomerleri artmış. Ataksi, özellikle sklerada telenjektazi; akciğer enfeksiyonları, lenforetiküler ve diğer maligniteler; alfa fetoprotein artışı, radyosensitivite artışı, kromozom instabilitesi ve kromozomal translokasyonlar |
| <b>NBS1</b>                                                                                             | <b>Nijmegen breakage sendromu:</b> T hücrelerinde progresif azalma, yenidoğan tarama testlerinde TREC ve T hücre düzeyi düşük olabilir. Sıklıkla IgA, IgE ve IgG alt grup düzeyleri düşük. IgM monomerleri artmış.                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>BLM</b>                                                                                              | <b>Bloom Sendromu:</b> B hücre düzeyi düşük. Kısa boy, dismorfik yüz, güneşe duyarlı eritem; kemik iliği yetmezliği, lösemi, lenfoma; kromozom instabilitesi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>*Sentromerik instabilitesi ve fasyal anomalilerle birlikte immünite kusurları (Tip 1,2,3,4 ICF):</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>*DNMT3B</b>                                                                                          | Azalmış veya normal T hücre, PHA'ya yanıt azalabilir. Hipo- gammaglobulinemi veya agammaglobulinemi, çeşitli düzeylerde antikor eksiklikleri. Fasyal dismorfik özellikler, gelişimsel gecikme, makroglossi; bakteriyel/ fırsatçı enfeksiyonlar; emilim bozukluğu, sitopeniler; maligniteler; 1, 9, 16. kromozom konfigürasyonları.                                                                                                                                                     |
| <b>*ZBTB24</b>                                                                                          | Azalmış veya normal T hücre sayısı.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>*CDCA7</b>                                                                                           | Azalmış veya normal T hücre sayısı, PHA'ya yanıt azalabilir. Fasyal dismorfik özellikler, makroglossi; bakteriyel / fırsatçı enfeksiyonlar; emilim bozukluğu, sitopeniler; maligniteler. 1, 9, 16. kromozom konfigürasyonları                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>*HELLS</b>                                                                                           | Azalmış veya normal T hücre sayısı. Fasyal dismorfik özellikler, makroglossi; bakteriyel / fırsatçı enfeksiyonlar; emilim bozukluğu, sitopeniler; maligniteler. 1, 9, 16. kromozom konfigürasyonları                                                                                                                                                                                                                                                                                   |



|                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>PMS2</b>                                                  | <b>PMS2 Eksikliği:</b> Düşük B hücre sayısı. Düşük IgG ve IgA, yüksek IgM düzeyi. Anormal antikor yanıtı. Tekrarlayan enfeksiyonlar; café-au-lait lekeleri; lenfoma, kolorektal karsinom, beyin tümörü                                                                                                                                                |
| <b>RNF168</b>                                                | <b>RNF168 eksikliği (Radyosensitivite, İmmün Yetmezlik, Dismorfik özellikler, Öğrenme güçlüğü [RIDDLE] sendromu):</b> Düşük IgA ve IgG düzeyi. Kısa boy, hafif motor kontrol kusurundan ataksiye; normal zekâdan öğrenme zorluklarına, hafif fasyal dismorfik özelliklerden mikrosefaliye kadar değişen klinik özellikler; artmış radyosensitivite.   |
| <b>MCM4</b>                                                  | <b>MCM4 Eksikliği:</b> Sayısal olarak düşük ve fonksiyonel olarak yetersiz NK hücreler. Viral enfeksiyonlar (EBV, HSV, VZV); kısa boy; B hücreli lenfoma; sürrenal yetmezlik.                                                                                                                                                                         |
| <b>POLE1</b>                                                 | <b>POLE1 (Polimeraz ε subünit 1) eksikliği (FILS sendromu):</b> Azalmış T hücre proliferasyonu. Düşük hafıza B hücre düzeyi. Düşük IgG2 ve IgM. PPS'ye (pnömokokal polisakkaritler) yetersiz antikor yanıtı. Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, menenjit; fasyal dismorfizm, kısa boy.                                                          |
| <b>POLE2</b>                                                 | <b>POLE2 (Polimeraz ε subünit 2) eksikliği:</b> Lenfopeni, yenidoğan taramalarında TRECS eksikliği, antijenlere yanıtta proliferasyon yokluğu. Hipogamaglobulinemi. Tekrarlayan enfeksiyonlar, disemine BCG enfeksiyonu; otoimmünite (tip 1 diyabet), hipotiroidizm, fasyal dismorfizm.                                                               |
| <b>LIG1</b>                                                  | <b>Ligaz 1 eksikliği:</b> Lenfopeni, artmış γδ T hücre düzeyi, mitojenlere azalmış yanıt. B hücre sayısı normal. Hipogamaglobulinemi, kısıtlı antikor yanıtı. Tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar; büyüme geriliği, güneş hassasiyeti, radyasyon hassasiyeti; makrositik kırmızı kan hücreleri                                              |
| <b>NSMCE3</b>                                                | <b>NSMCE3 eksikliği:</b> T hücre sayısı azalmış, mitojen ve antijenlere karşı zayıf yanıt. Normal IgG, IgA. Normal/yüksek IgM. PPS'ye azalmış antikor yanıtı. Şiddetli akciğer hastalığı (muhtemelen viral); timik hipoplazi; kromozomal breakage, radyasyon hassasiyeti.                                                                             |
| <b>ERCC6L2</b>                                               | <b>ERCC6L2 (Hebo Eksikliği):</b> Lenfopeni. Ig düzeyleri normal. Fasyal dismorfizm, mikrosefali; kemik iliği yetmezliği                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>GIN1</b>                                                  | <b>GIN1 eksikliği:</b> T ve B hücre düzeyi normal-yüksek. Düşük IgG ve IGM, yüksek IgA düzeyi. Nötropeni; IUGR, NK hücreleri çok düşük                                                                                                                                                                                                                |
| <b>3. Ek konjenital anomalilerle birlikte timik kusurlar</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>(TBX1) 22q11.2 Geniş delesyon (OD)</b>                    | <b>DiGeorge / velokardiyo-yüz sendromu, 22q11.2 delesyon sendromu (DS):</b> T hücre düzeyi normal-azalmış. Yenidoğan taramalarında %5 hastada düşük TRECs ve neonatal dönemde CD3T hücreleri <1500/μL. B hücreler ve Ig düzeyleri normal. Hipoparatiroidizm; konotrunkal kardiyak malformasyon, velopalatal yetersizlik; anormal yüz, zihinsel engel. |
| <b>TBX1</b>                                                  | <b>TBX1 eksikliği (OD):</b> T hücre düzeyi azalmış veya normal. YDT'da düşük TRECs.                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>CHD7 SEMA3E</b>                                           | <b>CHARGE Sendromu (OD):</b> Azalmış veya normal T hücre sayısı, YDT'da düşük TRECs, PHA'ya yanıt azalabilir. B hücre ve Ig düzeyleri normal. Göz kolobomasi; kalp anomalisi, koanal atrezi; zihinsel engelli, genital ve kulak anomalileri, CNS malformasyonu; bazıları SCID benzeri                                                                 |

|                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>FOXN1</b>                     | <b>Kanatlı helix FOXN1 eksikliği:</b> T hücre sayısı çok düşük. Ig düzeyleri azalmış. Şiddetli enfeksiyonlar; anormal timik epitel, immün yetmezlik; konjenital alopesi, tırnak distrofisi; nöral tüp defekti.                                                                                      |
| <b>FOXN1 (Haplo yetersizlik)</b> | <b>FOXN1 haplo-yetersizliği (OD):</b> Doğumda ağır olan yetişkinlikte normale dönen T hücre lenfopenisi. Normal-düşük B hücre. Tekrarlayan viral ve bakteriyel solunum yolu enfeksiyonları; cilt tutulumu (egzama, dermatit), tırnak distrofisi.                                                    |
| <b>Del10p13-p14</b>              | <b>10p13-p14DS (OD):</b> T hücre sayısı normal, nadiren lenfopeni ve mitojenler ve antijenlere karşı azalmış lenfoproliferasyon hipoplastik timus olabilir. Hipoparatiroidizm; böbrek hastalığı, sağırılık; büyüme geriliği, fasyal dismorfizm; kalp kusurları olabilir, tekrarlayan enfeksiyonlar. |
| <b>11q23del</b>                  | <b>Jacobsen sendromu (OD):</b> Lenfopeni, düşük NK hücre sayısı. B hücre ve switched hafıza B hücre sayısı azalmış. Hipo- gamaglobulinemi ve azalmış antikor yanıtı. Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları; çoklu siğiller, fasyal dismorfizmi, büyüme geriliği                                   |

#### 4. İmmün-osseöz displaziler

|                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>RMRP</b>    | <b>Kartilaj saç hipoplazisi:</b> T hücre sayısı SCID'daki kadar düşük veya tamamen normal olabilir. Lenfosit proliferasyonu azalmış. Ig düzeyleri normal veya düşük. Metafizyal dizostozisin olduğu uzuv kısalıklarıyla birlikte boy kısalığı; seyrek saç; kemik iliği yetmezliği; otoimmünite; lenfomaya ve diğer kanserlere yatkınlık, bozuk spermatogenez; intestinal nöronal displazi |
| <b>SMARCA1</b> | <b>Schimke immüno-osseöz displazi:</b> T hücreler azalmış. Kısa boy, spondilo-epiphyseal displazi, intrauterin büyüme geriliği, nefropati. Bakteriyel, viral veya mantar enfeksiyonları; SCID olarak klinik başvuru olabilir. Kemik iliği yetmezliği.                                                                                                                                     |
| <b>MYSM1</b>   | <b>MYSM1 eksikliği:</b> T hücre lenfopenisi, azalmış naif T hücreleri, düşük NK hücreleri. B hücre kusur ve hipogamaglobulinemi. Kısa boy; tekrarlayan enfeksiyonlar, konjenital kemik iliği yetmezliği, miyelodisplazi. B hücrelerini ve granülositleri etkileyen immün yetmezlik; iskelet anomalileri, katarakt; gelişimsel gecikme                                                     |

#### 4. İmmün-osseöz displaziler (devamı)

|                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>RNU4ATAC</b> | <b>MOPD1 eksikliği / Roifman sendromu:</b> Azalmış NK hücre fonksiyonu. Total ve hafıza B hücre düzeyi azalmış. Hipogamaglobulinemi ve farklı düzeylerde azalmış spesifik antikorlar. Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar, lenfadenopati, Spondilo-epifizal displazi, ciddi IUGR, retina distrofisi, fasyal dismorfizm; boy kısalığı ve mikrosefali olabilir. |
| <b>EXTL3</b>    | <b>Nörogelişimsel anormalliklerle birlikte olan immünoskeletal displazi (EXTL3 eksikliği):</b> T hücreler azalmış. Ig'ler azalmış veya normal. Kısa boy, servikal spinal stenoz, nörogelişimsel bozukluk, eozinofili; erken infant ölümü olabilir.                                                                                                             |

#### 5. Hiper IgE sendromları (HIES)

|              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>STAT3</b> | <b>(LOF) OD-HIES STAT3 eksikliği (Job sendromu):</b> T hücreler genel olarak normal; Th17, T foliküler helper, MAIT, NKT hücreleri azalmış, Tregler artmış olabilir. B hücre sayısı normal, azalmış hafıza B hücreler, artmış BAFF ekspresyonu. STAT3 aktive eden sitokinlere karşı bozuk yanıt. Çok yüksek IgE, spesifik antikor üretimi azalmış. Ayırt edici fasyal özellikler (geniş nazal bridge); |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 | bakteriyel enfeksiyonlar (çıban/folikül, pulmoner apseler, pnömatoseller) S. aureus'a bağlı, pulmoner aspergillus, Pneumocystis jirovecii; egzama, mukokutanöz kandidiyazis; hiperekstansibil eklemler, osteoporoz ve kemik kırıkları, skolyoz, kalıcı süt dişler; koroner ve serebral anevrizmalar.                                                                                                                                                                                       |
| <b>IL6R</b>     | <b>IL6 reseptör eksikliği:</b> Normal veya artmış T hücreler; mitojenlere normal yanıt. Total ve hafıza B hücreler normal, azalmış switch hafıza B hücreler. Çok yüksek IgE, normal veya düşük serum IgM, G, A. Spesifik antikor üretim düşük. Tekrarlayan piyogenik enfeksiyonlar, soğuk apseler; dolaşımda yüksek IL-6 seviyeleri.                                                                                                                                                       |
| <b>IL6ST</b>    | <b>IL6 sinyal dönüştürücü (IL6ST) eksikliği:</b> Azalmış Th17 hücreleri. Azalmış switch ve non-switch bellek B hücreleri. Yüksek IgE, spesifik antikor üretim değişken oranlarda etkilenmiş. Bakteriyel enfeksiyonlar, çıbanlar, egzama, pulmoner apseler, pnömatoseller; kemik kırıkları, skolyoz; kalıcı süt dişler, kraniyosinostoz                                                                                                                                                     |
| <b>ZNF341</b>   | <b>ZNF341 eksikliği / OR-HIES:</b> Th17 ve NK azalmış. Normal veya azalmış bellek B hücreleri, STAT3 aktive eden sitokinlere karşı bozuk yanıt. Yüksek IgE ve IgG, spesifik antikor üretimi azalmış. OD-HIES Fenokopisi; hafif fasyal dismorfizm; erken başlayan egzama, MCC, bakteriyel deri enfeksiyonları, apseler, tekrarlayan bakteriyel solunum yolu enfeksiyonları (S. aureus), akciğer apseleri ve pnömatoseller; hiperekstansibil eklemler; kemik kırıkları ve kalıcı süt dişler. |
| <b>ERBB2IP</b>  | <b>(OD) ERBIN eksikliği:</b> Dolaşımda artmış Treg. Normal veya orta derecede artmış IgE. Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, S. aureus'a duyarlılık, egzama; hiperekstansibil eklemler, skolyoz; bazı hastalarda arteriyel dilatasyon.                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>TGFBR1/2</b> | <b>(OD) Loeys-Dietz sendromu (TGFB eksikliği):</b> Yükselmiş IgE düzeyi. Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları; egzama, besin alerjisi; hiperekstansibil eklemler, skolyoz, kalıcı süt dişler; aort anevrizmaları.                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>SPINK5</b>   | <b>Comel-Netherton sendromu:</b> Düşük switch ve non-switch bellek B hücre düzeyi. Yüksek IgE ve IgA. Antikorlar değişken oranlarda azalmış. Konjenital iktiyoz, bambu kılı, atopi; artan bakteri enfeksiyonları, gelişme geriliği.                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>PGM3</b>     | <b>PGM3 eksikliği:</b> CD8 ve CD4 T hücreleri azalmış. Düşük B ve hafıza B hücreleri. Normal veya yüksek IgG ve IgA, çoğu yüksek IgE'li, eozinofili. Şiddetli atopi; otoimmünite; bakteriyel ve viral enfeksiyonlar; iskelet anomalileri / displazisi: kısa boy, brakidaktili, dismorfik fasyal özellikler; zihinsel engel ve bilişsel bozukluk, gecikmiş etkilenen bazı bireylerde SSS'de miyelinizasyonda gecikme.                                                                       |
| <b>CARD11</b>   | <b>(OD, LOF) CARD11 eksikliği (heterozigot):</b> Genel olarak normal T hücre sayısı, ancak kusurlu T hücre aktivasyonu ve proliferasyonu; Th2'ye meyil. Yüksek IgE, zayıf spesifik antikor üretimi; hem NF-κB hem de mTORC1 yollarının bozulmuş aktivasyonu. Değişken atopi, egzama, besin alerjileri, eozinofili; kutanöz viral enfeksiyonlar, tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları; lenfoma; kombine immün yetmezlik.                                                                 |

## 6. B12 vitamini ve folat metabolizmasının kusurları

|             |                                                                                                                                                              |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TCN2</b> | <b>Transkobalamin 2 eksikliği:</b> B hücre düzeyi değişken. Azalmış Ig. Megaloblastik anemi, pansitopeni; uzun süre tedavi edilmemişse (B12) zihinsel engel. |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>SLC46A1</b>                                                    | <b>SLC46A1 / PCFT eksikliğine neden olan kalıtsal folat emilim bozukluğu:</b> T hücre düzeyi ve aktivasyon profili, B hücre düzeyi değişken. Ig azalmış. Megaloblastik anemi, gelişme geriliği; uzun süre tedavi edilmemişse zihinsel engel.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>MTHFD1</b>                                                     | <b>Metilen-tetrahidrofolat dehidrojenaz 1 (MTHFD1) eksikliği :</b> Düşük timik output, normal in vitro proliferasyon. B hücre sayısı düşük. Konjuge polisakkarit antijenlere azalmış / zayıf antikor yanıtı. Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyon, Pneumocystis jirovecii; megaloblastik anemi; gelişme geriliği; nötropeni; nöbetler, zihinsel engel; folata duyarlılık.                                                                                                                                                                                            |
| <b>7. İmmün yetmezlikli anhidrotik ektodermodisplazi (EDA-ID)</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>IKBKG</b>                                                      | <b>(XL) NEMO / IKBKG eksikliği nedeniyle EDA-ID (ektodermal displazi, bağışıklık eksiklik):</b> T hücre düzeyi normal veya azalmış, TCR aktivasyonu bozuk. B hücre düzeyi normal; düşük hafıza ve izotip B switch hücreler. Ig düzeyleri azalmış, bazılarında yüksek IgA, IgM. Zayıf spesifik antikor yanıtları, polisakkarit antijenlere antikor yanıtı yok. Anhidrotik ektodermal displazi (bazılarında); çeşitli enfeksiyonlar (bakteri, mikobakteriler, virüsler, mantarlar); kolit; konik dişler, çeşitli cilt, saç ve diş kusurları, monosit disfonksiyonu. |
| <b>NFKBIA</b>                                                     | <b>(OD GOF) IKBA GOF mutasyonu nedeniyle EDA-ID:</b> T hücre düzeyi normal veya azalmış, TCR aktivasyonu bozuk. Normal B hücre sayısı, bozuk BCR aktivasyonu, düşük bellek ve izotip switch B hücre düzeyi. Azalmış IgG ve IgA, yükselmiş IgM. Zayıf spesifik antikor yanıtları, polisakkarit antijenlere antikor yanıtı yok. Anhidrotik ektodermal displazi; çeşitli enfeksiyonlar (bakteriler, mikobakteriler, virüsler, mantarlar); kolit, çeşitli cilt, saç ve diş kusurları, T hücre ve monosit disfonksiyonu.                                               |
| <b>IKBKB</b>                                                      | <b>(OD GOF) IKBKB GOF mutasyonu nedeniyle EDA-ID:</b> T hücre sayısı azalmış, TCR aktivasyonu bozuk. B hücre sayısı normal ama fonksiyonu yetersiz. Azalmış Ig. Tekrarlayan bakteriyel, viral, fungal enfeksiyonlar; değişken ektodermal kusurlar.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>8. Kalsiyum kanalı kusurları</b>                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>ORAI1<br/>STIM1</b>                                            | ORAI-1 eksikliği / STIM1 eksikliği: T hücre düzeyi normal, TCR aracılı aktivasyon kusuru. B hücre ve Ig normal. Otoimmünite, EDA, non-progresif miyopati.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>9. Diğer kusurlar</b>                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>EPG5</b>                                                       | <b>EPG5 eksikliği (Vici sendromu):</b> CD4+ T hücrelerin ciddi depleksyonu, B hücreler defektif, Ig'ler (özellikle IgG2) azalmış. Korpus kallozumun agenezi; katarakt, kardiyomiopati; cilt hipopigmentasyon; bilişsel yetersizlik; mikrosefali; tekrarlayan enfeksiyonlar, kronik mukokutanöz kandidiyaz                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>PNP</b>                                                        | <b>Purin nükleosit fosforilaz (PNP) eksiklik:</b> T hücrelerde progresif azalma. B hücre ve Ig düzeyi normal. Otoimmün hemolitik anemi; nörolojik bozukluk.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>TTC7A</b>                                                      | <b>Çoklu bağırsakta immün yetmezlik atreziler:</b> T hücre düzeyi değişken; yok veya yenidoğan taramalarında TREC'ler düşük, doğumda SCID fenotipi olabilir.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>TTC37<br/>SKIV2L</b>                                           | <b>Tricho-Hepato-Enterik Sendrom (THES) :</b> IFN $\gamma$ üretimi bozuk. Switch bellek B hücreler değişken oranlarda düşük. Hipogamaglobulinemi, düşük antikor yanıtı olabilir.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

|                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>SP110</b>               | <b>Hepatik veno-okluziv hastalık immün yetmezlik (VODI):</b> Bellek T ve B hücreler, IgG, IgA, IgM azalmış. Germinal merkez ve doku plazma hücreleri yok. Hepatik veno-okluziv hastalık; Pneumocystis jirovecii pnömonisi, CMV, kandidaya duyarlılık, trombositopeni, hepatosplenomegali, serebrospinal lökodistrofi.                                             |
| <b>BCL11B</b>              | <b>(OD) BCL11B eksikliği:</b> T hücreler düşük ve zayıf proliferasyon. Doğumsal anormallikler, yenidoğan dişleri, dismorfik yüz; korpus kallozum agenezisi, nörobilişsel kusurlar.                                                                                                                                                                                |
| <b>RBCK1</b>               | <b>HOIL1 eksikliği:</b> Azalmış bellek B hücreler. Polisakkaritlere azalmış antikor yanıtı. Bakteriyel enfeksiyonlar; otoinflamasyon; amilopektinoz.                                                                                                                                                                                                              |
| <b>RNF31</b>               | <b>HOIP eksikliği:</b> Azalmış bellek B hücreler. Ig'ler düşük. Bakteriyel enfeksiyonlar; otoinflamasyon; amilopektinoz; lenfanjektazi.                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>CCBE1 FAT4</b>          | <b>Hennekam-lenfanjektazi-lenfödem sendrom:</b> T ve B hücre sayısı düşük. Lenfanjektazi ve lenfödem ile yüz anormallikleri ve diğer dismorfik özellikler.                                                                                                                                                                                                        |
| <b>NFE2L2</b>              | <b>(OD) Eritroid 2- benzeri nükleer faktör'de (NFE2L2) novo mutasyonları aktifleşmesi:</b> Switch bellek B hücreler azalmış. Hipogamaglobulinemi, azalmış antikor yanıtı. Tekrarlayan solunum ve cilt enfeksiyonları; büyüme geriliği, gelişimsel gecikme; serebral beyaz cevher lezyonları, artan homosistein seviyesi; stres yanıt genlerinde ekspresyon artışı |
| <b>STAT5B</b>              | <b>(OR) STAT5b eksikliği:</b> T hücreler orta düzeyde düşük, azalmış Treg sayısı ve işlevi. Hipergamaglobulinemi ve azalmış antikor yanıtı. Büyüme hormonuna duyarsız cücelik; dismorfik özellikler, egzama; lenfositik interstisyel pnömoni; belirgin otoimmünite.                                                                                               |
| <b>STAT5B</b>              | <b>(OD) STAT5b eksikliği:</b> T ve B hücre sayısı normal. Artmış IgE. Büyüme yetersizliği; egzama (OR STAT5 ile karşılaştırıldığında immünite kusuru yok).                                                                                                                                                                                                        |
| <b>(OD)KMT2D (XL)KDM6A</b> | <b>Kabuki sendromu (tip 1 ve 2):</b> Düşük IgA ve bazen düşük IgG. Tipik yüz anormallikleri, yarık veya yüksek kemerli damak, iskelet anormallikleri, kısa boy; zihinsel engelli, doğuştan kalp kusurları; hastaların %50'sinde tekrarlayan enfeksiyonlarda (otitis media, pnömoni); otoimmünite olabilir.                                                        |
| <b>KMT2A</b>               | <b>(OD) KMT2A eksikliği (Wiedemann-Steiner sendrom):</b> T hücre sayısı normal. Switch ve non-switch bellek B hücre sayısı düşük. Hipogamaglobulinemi, azalmış antikor yanıtı. Solunum yolu enfeksiyonları; kısa boy; hipertelorizm; kıllı dirsekler; gelişimsel gecikme, bilişsel yetersizlik.                                                                   |

### 2.2.3.3 Baskın olarak antikor yetmezlikleri

Enfeksiyonlara karşı savunmada rol alan antikor gruplarından oluşan immünglobulinler serum proteinlerinin yaklaşık %20 sini oluşturur (66). B hücre reseptörü (BCR) genlerinin zincirleme rekonfigurasyonu ve bu süreç boyunca otoreaktif B hücrelerin eliminasyonu gibi birçok basamağın son ürünü işlevsel antikorlardır (67). B hücresi fizyolojisine ilişkin ayrıntılı bilgiler normal B hücresi gelişimini engelleyen primer immün yetmezlikler üzerine yapılan çalışmalardan yola

çıkarak ortaya konmuştur (68). B hücre gelişimi veya fonksiyonu bozuklukları, 400'den fazla İSDK arasında en yaygın olanıdır (1,19).

B hücre kusurları başlangıç yaşı, klinik özellikleri ve şiddet, kalıtım şekli ile diğer immün defektlerden ayrılırlar. Altta yatan bir B hücre kusurunun yol açtığı enfeksiyonlar, fırsatçı veya şiddetli viral/bakteriyel enfeksiyonlara neden olma ihtimali daha yüksek olan T hücre kusurları veya kombine immün yetmezliklerden farklı olarak, tipik olarak kapsüllenmiş bakterilerle gelişen tekrarlayan enfeksiyonları içerir. B hücre kusurları oldukça heterojendir ve immünglobulinlerin (Ig) azalmasını ve/veya bozulmuş Ig üretimini içerdiğinden ağırlıklı olarak antikor eksiklikleriyle karakterize edilirler. Bunlar, B hücrelerine özgül moleküler kusurlardan, B ve T hücreleri arasındaki gerekli etkileşimlerin başarısızlığından, uygun kemik iliği veya germinal merkez reaksiyonlarının kaybından ve immün regülasyon bozukluklarında kaynaklanır (68).

IgG, IgG alt sınıfları, IgA ve IgM seviyelerinin tümü yaşa göre normal aralıklar içinde olsa bile, spesifik antikor eksikliği (SAD) olarak adlandırılan immünite kusuru klinik sonuçlara neden olabilir. Bu hastalarda, aşılamada veya doğal enfeksiyon geçirildiğinde, spesifik antijenlerin immün uyarımına yanıt olarak uygun antikorlar oluşmaz. Bu durum, immünolojik araştırmalar sadece kandaki Ig seviyelerini taramakla sınırlı olduğu sürece tanınmayacaktır ve teşhis etmek için belirli bir antijen ile temasın meydana geldiği kontrollü bir durumda spesifik antikorların ölçülmesi gerekmektedir (52) Tablo 3 baskın olarak antikor eksiklikleri ve ilişkili genleri göstermektedir (1).

**Tablo 3 Baskın olarak antikor eksiklikleri**

**1. B hücrelerinin tamamen azaldığı veya olmadığı tüm serum immünoglobulin izotiplerinde şiddetli azalma, agamaglobulinemi**

|              |                                                                                                                                                                                                                                     |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>BTK</b>   | <b>(XL) BTK eksikliği, X'e bağlı agamaglobulinemi (XLA):</b> Hastaların çoğunda tüm Ig izotipler azalmışken bazı hastalarda tespit edilebilir düzeyde Ig varolabilir. Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar, normal pro-B hücre sayısı. |
| <b>IGHM</b>  | <b><math>\mu</math> ağır zincir eksikliği:</b> Tüm Ig izotipleri azalmış. Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar, normal pro-B hücre sayısı.                                                                                             |
| <b>IGLL1</b> | <b><math>\lambda</math>5 eksikliği:</b> Tüm Ig izotipleri azalmış. Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar, normal pro-B hücre sayısı.                                                                                                    |

|                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>CD79A</b>                                                                                                         | <b>Igα eksikliği:</b> Tüm Ig izotipleri azalmış. Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar, normal pro-B hücre sayısı.                                                                                                                                                                                              |
| <b>CD79B</b>                                                                                                         | <b>Igβ eksikliği:</b> Tüm Ig izotipleri azalmış. Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar, normal pro-B hücre sayısı.                                                                                                                                                                                              |
| <b>BLNK</b>                                                                                                          | <b>BLNK eksikliği:</b> Tüm Ig izotipleri azalmış. Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar, normal pro-B hücre sayısı.                                                                                                                                                                                             |
| <b>PIK3CD</b>                                                                                                        | <b>p110δ eksikliği:</b> Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar; otoimmün komplikasyonlar                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>PIK3R1</b>                                                                                                        | <b>p85 eksikliği:</b> Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar, sitopeniler, pro-B hücreleri azalmış veya yok.                                                                                                                                                                                                     |
| <b>TCF3</b>                                                                                                          | <b>(OR ve OD) E47 transkripsiyon faktörü eksikliği:</b> OD; Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar. OR; Şiddetli, tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar, gelişme geriliği                                                                                                                                      |
| <b>SLC39A7</b>                                                                                                       | <b>SLC39A7 (ZIP7) eksikliği:</b> Erken başlangıçlı enfeksiyonlar, blister oluşumu, dermatoz, gelişme geriliği, trombositopeni                                                                                                                                                                               |
| <b>TOP2B</b>                                                                                                         | <b>(OD) Hoffman sendromu / TOP2B eksikliği:</b> Tekrarlayan enfeksiyonlar, fasyal dismorfizmi, uzun anormallikleri                                                                                                                                                                                          |
| <b>2. Normal veya düşük sayıda B hücresi, CVID fenotipi ile en az 2 serum immünoglobulin izotipinde ciddi azalma</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Unknown</b>                                                                                                       | <b>Yaygın değişken bağışıklık yetersizliği gen kusuru tespit edilmemiş (CVID):</b> Düşük IgG, IgA ve/veya IgM. Klinik fenotipler değişiklik gösterir: çoğu tekrarlayan enfeksiyonlar, bazıları poliklonal lenfoproliferasyon, otoimmün sitopeniler ve / veya granülomatöz hastalık                          |
| <b>PIK3CD</b><br><b>PIK3R1</b>                                                                                       | <b>(OD; GOF) Aktive p110δ sendromu (APDS):</b> Normal / artmış IgM, azalmış IgG ve IgA. Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar; azalmış bellek B hücreleri ve artan tranzisyonel B hücreleri, EBV ± CMV viremi, lenfadenopati / splenomegali, otoimmünite, lenfoproliferasyon, lenfoma , büyüme gelişme geriliği |
| <b>PTEN</b>                                                                                                          | <b>(OD) PTEN eksikliği (LOF):</b> Tekrarlayan enfeksiyonlar, lenfoproliferasyon, otoimmünite; gelişimsel gecikme.                                                                                                                                                                                           |
| <b>CD19</b><br><b>CD81</b>                                                                                           | <b>CD19 eksikliği / CD81 eksikliği:</b> Düşük IgG, IgA ve/veya IgM. Tekrarlayan enfeksiyonlar olabilir. Glomerulonefrit (CD81 mutasyonu CD19 ekspresyonunu bozar, böylece CD19 mutasyonlarını taklit eder.)                                                                                                 |
| <b>CD20</b>                                                                                                          | <b>CD20 eksikliği:</b> Düşük IgG, normal veya yüksek IgM ve IgA. Tekrarlayan enfeksiyonlar                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>CD21</b>                                                                                                          | <b>CD21 eksikliği:</b> Düşük IgG, bozulmuş anti-pnömonokok yanıtı. Tekrarlayan enfeksiyonlar                                                                                                                                                                                                                |
| <b>TNFRSF13B</b>                                                                                                     | <b>(OR / OD) TACI eksikliği:</b> Düşük IgG ve IgA ve / veya IgM. Monoallelik varyantlar için değişken klinik ekspresyon ve penetrasyon                                                                                                                                                                      |
| <b>TNFRSF13C</b>                                                                                                     | <b>BAFF reseptör eksikliği:</b> Düşük IgG ve IgM. Değişken klinik ekspresyon.                                                                                                                                                                                                                               |

|                |                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TNFSF12</b> | <b>(OD) TWEAK eksikliği:</b> Düşük IgM ve A.Anti-pnömonokokal antikor eksikliği Pnömoni, bakteriyel enfeksiyonlar, siğiller, trombositopeni. Nötropeni.                                                                                              |
| <b>TRNT1</b>   | <b>TRNT1 eksikliği:</b> B hücre eksikliği ve hipogammaglobulinemi. Doğuştan sideroblastik anemi, sağırılık, gelişimsel gecikme.                                                                                                                      |
| <b>NFKB1</b>   | <b>(OD) NFKB1 eksikliği:</b> Normal veya düşük IgG, IgA, IgM, düşük veya normal B hücreleri, düşük bellek B hücreleri. Tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar, KOAH, EBV proliferasyonu, otoimmün sitopeniler, alopesi ve otoimmün tiroidit          |
| <b>NFKB2</b>   | <b>(OD) NFKB2 eksikliği:</b> Düşük serum IgG, A ve M; düşük B hücre sayısı. Tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar, alopesi ve endokrinopatiler.                                                                                                     |
| <b>IKZF1</b>   | <b>(OD) IKAROS eksikliği:</b> Düşük IgG, IgA, IgM, düşük/normal B hücreleri; yaşla birlikte B hücreleri ve Ig seviyeleri azalır. Azalmış pro-B hücreler, tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar; ALL riskinin artması, otoimmünite, CVID fenotipi    |
| <b>IRF2BP2</b> | <b>(OD) IRF2BP2 eksikliği:</b> Hipogammaglobulinemi, IgA yokluğu. Tekrarlayan enfeksiyonlar, olası otoimmünite ve inflamatuvar hastalık.                                                                                                             |
| <b>ATP6AP1</b> | <b>(XL) ATP6AP1 eksikliği:</b> Değişken immünoglobulin bulguları. Hepatopati, lökopeni, düşük bakır                                                                                                                                                  |
| <b>ARHGEF1</b> | <b>ARHGEF1 eksikliği:</b> Hipogammaglobulinemi; antikor eksikliği. Tekrarlayan enfeksiyonlar, bronşektazi.                                                                                                                                           |
| <b>SH3KBP1</b> | <b>(XL) SH3KBP1 (CIN85) eksikliği:</b> IgM, IgG eksikliği; antikor kaybı. Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar.                                                                                                                                         |
| <b>SEC61A1</b> | <b>(OD) SEC61A1 eksikliği:</b> Hipogammaglobulinemi. Şiddetli tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları                                                                                                                                                |
| <b>RAC2</b>    | <b>RAC2 eksikliği:</b> Düşük IgG, IgA, IgM, düşük veya normal B hücreleri; aşılama sonrası zayıf Ab yanıtları. Tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar, selektif IgA eksikliği; poststreptokokal glomerülonefrit; ürtiker.                            |
| <b>MOGS</b>    | <b>Mannosyl-oligosakkarit glukozidaz eksikliği:</b> Düşük IgG, IgA, IgM, artmış B hücreleri; aşılama sonrası zayıf Ab yanıtları. Bakteriyel ve viral enfeksiyonlar; şiddetli nörolojik hastalık, Doğuştan glikozilasyon bozukluğu tip IIb (CDG-IIb). |

### 3. Normal / yüksek IgM ve normal sayıda B hücresi ile birlikte serum IgG ve IgA'da ciddi azalma

|              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>AICD</b>  | <b>(OR ve OD form) AID eksikliği:</b> <b>OR:</b> IgG ve IgA azalmış, IgM artmış; somatik hipermutasyonu azalmış normal bellek B hücreleri. Bakteriyel enfeksiyonlar, genişlemiş lenf nodları ve germinal merkezler; otoimmünite. <b>OD:</b> IgG yok veya azalmış, IgA saptanmamış, IgM artmış; normal somatik hipermutasyonlu normal bellek B hücreleri. Bakteriyel enfeksiyonlar, genişlemiş lenf nodları ve germinal merkezleri. Mutasyonlar nükleer export sinyallere lokalizedir. |
| <b>UNG</b>   | <b>UNG eksikliği:</b> IgG ve IgA azalmış, IgM artmış. Büyümüş lenf nodları ve germinal merkezleri.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>INO80</b> | <b>INO80 eksikliği:</b> IgG ve IgA azalmış, IgM artmış. Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |



|                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>MSH6</b>                                                                                         | <b>MSH6 eksikliği:</b> Değişken IgG, bazılarında IgM artmış. B hücre sayısı normal, düşük switch bellek B hücreleri, Ig class switch rekombinasyonu ve somatik hipermutasyon kusurları. Ailesel veya kişisel kanser öyküsü.                   |
| <b>4. İzotip, hafif zincir veya genellikle normal sayıda B hücresi olan fonksiyonel eksiklikler</b> |                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>14q32 mutasyon veya delesyon</b>                                                                 | Bir veya daha fazla IgG ve / veya IgA alt sınıfının yanı sıra IgE olmayabilir. Aseptomatik olabilir.                                                                                                                                          |
| <b>IGKC</b>                                                                                         | Kappa zinciri eksikliği: Tüm immünoglobulinler lambda hafif zinciri var. Aseptomatik                                                                                                                                                          |
| <b>Unknown</b>                                                                                      | <b>İzole IgG alt sınıf eksikliği:</b> Bir veya daha fazla IgG alt sınıfında azalma. Genellikle aseptomatiktir, hastaların az bir kısmında spesifik antijenlere zayıf antikor yanıtı ve tekrarlayan viral / bakteriyel enfeksiyonlar olabilir. |
| <b>Unknown</b>                                                                                      | <b>IgA eksikliği ile IgG alt sınıf eksikliği:</b> Azalmış IgA, bir veya daha fazla IgG alt sınıfında düşüklük. Tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar. Aseptomatik olabilir.                                                                    |
| <b>Unknown</b>                                                                                      | Selektif IgA eksikliği: Diğer izotipler normal iken IgA yok. Alt sınıflar ve spesifik antikorlar normal. Aseptomatik olabilir. Bakteriyel enfeksiyonlar otoimmünite orta derecede artmış.                                                     |
| <b>Unknown</b>                                                                                      | <b>Normal Ig ve B hücre düzeyleriyle birlikte spesifik antikor eksikliği</b>                                                                                                                                                                  |
| <b>Unknown</b>                                                                                      | <b>Geçici hipogammaglobulinemi bebeklik:</b> IgG ve IgA azalmış. Aşı antijenlerine karşı normal antikor üretebilme yeteneği, genellikle ciddi enfeksiyonlarla birlikte olmaz.                                                                 |
| <b>CARD11</b>                                                                                       | <b>(OD) CARD11 GOF:</b> NF-κB aktivasyonu nedeniyle poliklonal B hücre lenfositozu. Splenomegali, lenfadenopati, zayıf aşı yanıtı.                                                                                                            |
| <b>Unknown</b>                                                                                      | <b>Seçici IgM eksikliği:</b> Serum IgM yok. Pnömonokok / bakteri enfeksiyonları.                                                                                                                                                              |

#### 2.2.3.4 İmmün disregülasyon hastalıkları

Organizma savunması için patojenlere yanıt olarak immün sistemin uygun şekilde aktivasyonu ve bu yanıtı takiben, gereksiz veya uzun süren inflamasyonun ve bunun neden olabileceği sonuçların ortaya çıkmasını önlemek için immün reaksiyonların azaltılması gerekmektedir. İmmün homeostaz kavramı self-reaktif tepkileri önleyen ve ayrıca immün aktivasyonun kapsamını kontrol eden kontrol mekanizmalarını içerir. Oto-reaktivitenin önlenmesinin merkezinde, immünolojik tolerans vardır (28,31,35).

Enfeksiyona duyarlılığın eşlik edebildiği veya tek başına otoimmünite ile karakterize, immün disregülasyon bozukluklarına neden olan konjenital kusurlar, immün sistemin düzenleyici mekanizmalarıyla ilgilidir. İmmün fonksiyon

bozukluğunun diğer belirtileri ile birlikte otoimmüniteye de neden olur (69). Tablo 4'te, immün disregülasyon bozukları özetlenmiştir (1).

Tablo 4 İmmün disregülasyon bozuklukları

| <b>1. Ailevi hemofagositik lenfhistiositoz (FHL sendromları)</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>PRF1</i>                                                      | <b>Perforin eksikliği (FHL2):</b> Artan aktif T hücreleri. NK ve CTL aktivitesi-sitotoksiste azalmış veya hiç yok. Ateş, HSM, hemofagositik lenfhistiositoz (HLH), sitopeniler                                                                                                               |
| <i>UNC13D</i>                                                    | <b>UNC13D / Munc13-4 eksikliği (FHL3):</b> Artan aktif T hücreleri. NK ve CTL aktivitesi (sitotoksiste / degranülasyon) azalmış veya hiç yok. Ateş, HSM, HLH, sitopeniler                                                                                                                    |
| <i>STX11</i>                                                     | <b>Syntaxin 11 eksikliği (FHL4)</b>                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <i>STXBP2</i>                                                    | <b>STXBP2 / Munc18-2 eksikliği (FHL5)</b>                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <i>FAAP24</i>                                                    | <b>FAAP24 eksikliği:</b> Artan aktif T hücreleri. Otolog EBV transforme B hücreleri öldürmede yetersizlik. Normal NK hücre işlevleri. EBV kaynaklı lenfoproliferatif hastalık                                                                                                                |
| <i>SLC7A7</i>                                                    | <b>SLC7A7 eksikliği:</b> Makrofajlarda hiperinflamatuvar yanıt. NK hücre işlevi normal. Lizinürik protein intoleransı, kanama eğilimi, alveolar proteinoz                                                                                                                                    |
| <b>2. Hipopigmentasyonlu FHL sendromları</b>                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <i>LYST</i>                                                      | <b>Chediak-Higashi sendrom:</b> Artan aktif T hücreleri. NK ve CTL aktivitesi (sitotoksiste ve/veya degranülasyon) azalmış. Kısmi albinizm, tekrarlayan enfeksiyonlar, ateş, HSM, HLH, dev lizozomlar, nötropeni, sitopeniler, kanama eğilimi, ilerleyici nörolojik işlev bozukluğu.         |
| <i>RAB27A</i>                                                    | <b>Griselli sendromu, Tip 2:</b> NK ve CTL aktivitesi (sitotoksiste ve/veya degranülasyon) azalmış. Kısmi albinizm, ateş, HSM, HLH, sitopeniler.                                                                                                                                             |
| <i>AP3B1</i>                                                     | <b>Hermansky-Pudlak sendrom, tip 2:</b> NK ve CTL aktivitesi (sitotoksiste ve/veya degranülasyon) azalmış. Kısmi albinizm, tekrarlayan enfeksiyonlar, pulmoner fibroz, artmış kanama, nötropeni, HLH.                                                                                        |
| <i>AP3D1</i>                                                     | <b>Hermansky-Pudlak sendrom, tip 10:</b> NK ve CTL aktivitesi (sitotoksiste ve/veya degranülasyon) azalmış. Okülokütanöz albinizm, şiddetli nötropeni, tekrarlayan enfeksiyonlar, nöbetler, iştme kaybı ve nörogelişimsel gecikme.                                                           |
| <b>3. Düzenleyici T hücre kusurları</b>                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <i>FOXP3</i>                                                     | <b>(XL) IPEX, immün disregülasyon, poliendokrinopati, enteropati X'e bağlı:</b> CD4+ CD25+ FOXP3+ düzenleyici T Hücre (Treg'ler) eksikliği (ve / veya işlev bozukluğu). Otoimmün enteropati, erken başlangıçlı diyabet, tiroitit hemolitik anemi, trombositopeni, egzama, yüksek IgE ve IgA. |
| <i>IL2RA</i>                                                     | <b>CD25 eksikliği:</b> T hücre düzeyi normal/azalmış. Tregs hücre fonksiyonu bozuk, CD4+ CD25+ hücreler yok. Lenfoproliferasyon, otoimmünite, bozulmuş in vitro T hücresi proliferasyonu.                                                                                                    |

|                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>IL2RB</i>                                                          | <b>CD122 eksikliği:</b> Artan bellek CD8 T hücreleri, azalmış Treg'ler, artmış bellek B hücreler. Azalmış IL2R ekspresyonu. IL-2 / IL-15'e yanıtta bozulmuş sinyalizasyon; artan immatür NK hücreleri. Lenfoproliferasyon, lenfadenopati, hepatosplenomegali, otoimmün hemolitik anemi, dermatit, enteropati,hipergammaglobulinemi, tekrarlayan viral (EBV, CMV) enfeksiyonları.                                                               |
| <i>CTLA4</i>                                                          | <b>CTLA4 haplo yetmezliği (ALPS-V) :</b> Dolaşımdaki T ve B hücreler azalmış. Tregs fonksiyonları bozulmuş. Otoimmün sitopeniler, enteropati, interstisyel akciğer hastalığı, lenfoid doku dışı lenfositik infiltrasyon, tekrarlayan enfeksiyonlar.                                                                                                                                                                                            |
| <i>LRBA</i>                                                           | <b>LRBA eksikliği:</b> CD4 hücre sayısı normal/azalmış. T hücre disregülasyonu. B hücre sayısı normal/düşük. Çoğu hastada azalmış IgG ve IgA. Tekrarlayan enfeksiyonlar, iltihaplı bağırsak hastalığı, otoimmünite                                                                                                                                                                                                                             |
| <i>DEF6</i>                                                           | <b>DEF6 eksikliği:</b> İlmli CD4 ve CD8 lenfopenisi. B hücre sayısı normal/azalmış. Treg fonksiyonu bozulmuş. Enteropati, hepatosplenomegali, kardiyomiyopati, tekrarlayan enfeksiyonlar                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <i>STAT3</i>                                                          | <b>(OD) STAT3 GOF mutasyonu:</b> Dolaşımdaki T ve B hücre sayısı azalmış. Th17 hücre farklılaşmasında, lenfoproliferasyon ve otoimmünite artışa neden olan artmış STAT3 sinyalizasyonu. Azalan Treg'ler ve bozulmuş işlevleri.                                                                                                                                                                                                                 |
| <i>BACH2</i>                                                          | <b>(OD) BACH2 eksikliği:</b> Progresif T hücre lenfopenisi. Bozulmuş hafıza B hücre gelişimi. Kritik bir hücre serisi özelleşmesi transkripsiyon faktörü haplo yetmezliği. Lenfositik kolit, sinopulmoner enfeksiyonlar.                                                                                                                                                                                                                       |
| <i>FERMT1</i>                                                         | <b>FERMT1 eksikliği:</b> IgG, IgM, IgA ve C3Ün kolloid şekilde bazal membran altında hücre içi birikimi. Konjenital blisterler ile karakterize dermatoz, cilt atrofisi, ısığa duyarlılık, cilt kırılabilirliği ve pullanma.                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>4. Lenfoproliferasyonlu veya lenfoproliferasyonsuz otoimmünite</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <i>AIRE</i>                                                           | <b>APECED (APS-1), otoimmün poliendokrinopati, kandidiyazis ve ektodermal distrofi:</b> AIRE, otoreaktif T Hücrelerinin negatif seçimi ve Treg'lerin üretimi için timusta kontrol noktası görevi görür. Otoimmünite: hipoparatiroidizm, hipotiroidizm, adrenal yetmezlik, diyabet, gonadal disfonksiyon ve diğer endokrin anormallikler; dış minesini hipoplazisi, alopesi areata, enteropati, pernisiyöz anemi; kronik mukokutanöz kandidiyaz |
| <i>ITCH</i>                                                           | <b>ITCH Eksikliği:</b> Itch eksikliği, hem oto-reaktif efektör T hücrelerinde anerji indüksiyonunu hem de Treg oluşumunu etkileyerek immün düzensizliğe neden olabilir. Erken başlangıçlı kronik akciğer hastalığı (interstisyel pnömoni), otoimmünite (tiroidit, tip I diyabet, kronik ishal / enteropati ve hepatit), gelişme geriliği, gelişimsel gecikme, dismorfik yüz özellikleri.                                                       |
| <i>TPP2</i>                                                           | <b>Tripeptidil-peptidaz II eksikliği:</b> Dolaşımdaki T ve B hücre sayısı azalmış. TPP2 eksikliği, erken immünoresans ve immün düzensizliğe neden olur. Değişken lenfoproliferasyon, şiddetli otoimmün sitopeniler, hipergammaglobulinemi, tekrarlayan enfeksiyonlar                                                                                                                                                                           |
| <i>JAK1</i>                                                           | <b>(OD) JAK1 GOF:</b> Hiperaktif JAK1. HSM, eozinofili, eozinofilik enterit, tiroid hastalık, zayıf büyüme, viral enfeksiyonlar.                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <i>PEPD</i>                                                           | <b>Prolidaz eksikliği:</b> Peptidaz D. Otoantikorlar yaygın, kronik cilt ülserleri, egzama, enfeksiyonlar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

## 5. Kolit ile immün düzensizlik

|               |                                                                                                                                                                          |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>IL10</i>   | <b>IL-10 eksikliği:</b> B hücrelerinde fonksiyonel IL-10 sekresyonu yok. İnflamatuar bağırsak hastalığı (IBD), folikülit, tekrarlayan solunum yolu hastalıkları, artrit. |
| <i>IL10RA</i> | <b>IL-10R eksikliği:</b> Lökositler IL-10'a yanıtızsızdır. IBD, folikülit, tekrarlayan solunum yolu hastalıkları, artrit, lenfoma.                                       |
| <i>IL10RB</i> | <b>IL10RB:</b> Lökositler IL-10'a ve IL-22, IL-26, IL-28A, IL-28B ve IL-29'a yanıtızsızdır.                                                                              |
| <i>NFAT5</i>  | <b>(OD) NFAT5 haplo yetmezliği:</b> Bellek B hücreleri ve plazmablastlar azalmış. IBD, tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar                                            |
| <i>TGFB1</i>  | TGFB1 eksikliği: Anti-CD3'e yanıtta T hücre proliferasyonunda azalma. IBD, immün yetmezlik, tekrarlayan viral enfeksiyonlar, mikrosefali ve ensefalopati.                |
| <i>RIPK1</i>  | Dolaşımdaki T ve B hücreler azalmış. MAPK, NFkB yollarının aktivasyonu azalmış. Tekrarlayan enfeksiyonlar, erken başlangıçlı IBD, ilerleyici poliartrit.                 |

## 6. Otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS, Canale-Smith sendromu)

|                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>TNFRSF6</i> | <b>(OD, OR) ALPS-FAS:</b> Artmış TCR $\alpha / \beta$ + CD4 – CD8 – çift negatif (DN) T hücreleri. Bellek B hücreleri azalmış. FAS aracılı apoptoz defekti. Splenomegali, adenopatiler, otoimmün sitopeniler, artmış lenfoma riski, IgG ve A normal veya artmış, yükselmiş serum FasL, IL-10, b12 vitamini. |
| <i>TNFSF6</i>  | <b>ALPS-FASLG:</b> DN T hücreler artmış. FASL aracılı apoptoz kusuru. Splenomegali, adenopatiler, otoimmün sitopeniler, SLE, çözünür FasL yükselmemiş.                                                                                                                                                      |
| <i>CASP10</i>  | <b>(OD) ALPS-Kaspaz10:</b> DN T hücreler artmış. Bozuk lenfosit apoptozu. Adenopatiler, splenomegali, otoimmünite.                                                                                                                                                                                          |
| <i>CASP8</i>   | <b>ALPS-Kaspaz 8:</b> DN T hücreler hafif artmış. Bozuk lenfosit apoptozu ve aktivasyon. Adenopatiler, splenomegali, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, hipogamaglobulinemi.                                                                                                                                |
| <i>FADD</i>    | <b>FADD eksikliği:</b> DN T hücreler artmış. Bozuk lenfosit apoptozu. Fonksiyonel hiposplenizm, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, tekrarlayan ensefalopati atakları ve karaciğer disfonksiyonu.                                                                                                            |

## 7. EBV ve lenfoproliferatif koşullara duyarlılık

|               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>SH2D1A</i> | <b>(XL) SAP eksikliği (XLP1):</b> Aktive T hücreler normla veya artmış. Bellek B hücreleri, NK hücresi ve CTL sitotoksik aktivite azalmış. Klinik ve immünolojik özellikler EBV enfeksiyonu ile tetiklenir: HLH, Lenfoproliferasyon, aplastik anemi, lenfoma.                                                                                     |
| <i>XIAP</i>   | <b>(XL) XIAP eksikliği (XLP2):</b> Normal/artmış aktive T hücreleri; düşük/normal iNK T hücreleri. Bellek B hücreleri normal/azalmış. CD95'le apoptoza karşı T hücrelerinin artan duyarlılığı ve artmış aktivasyon kaynaklı hücre ölümü (AICD). EBV enfeksiyonu, Splenomegali, lenfoproliferasyon HLH, Kolit, IBD, hepatit. Düşük iNKT hücreleri. |
| <i>CD27</i>   | <b>CD27 eksikliği:</b> Bellek B hücresi yok. hipogamaglobulinemi; bazı aşılarla / enfeksiyonlara zayıf Ab yanıtları. EBV enfeksiyonu, HLH, aplastik tarafından tetiklenen özellikler anemi, düşük iNKT hücreleri, B lenfoma.                                                                                                                      |

|                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>CD70</i>    | <b>CD70 eksikliği:</b> Normal T hücre sayısı, düşük Treg, zayıf aktivasyon ve işlev. Azalmış bellek B hücreleri. hipogammaglobulinemi; bazı aşılarla / enfeksiyonlara zayıf Ab yanıtları. EBV duyarlılığı, Hodgkin lenfoma; bazı hastalarda otoimmünite.                                                                                                                                                                                                                 |
| <i>CTPS1</i>   | <b>CTPS1 eksikliği:</b> T hücre sayısı normal/düşük, ancak azalmış aktivasyon, çoğalma. Düşük bellek B hücreleri. Normal / yüksek IgG, antijene karşı zayıf antikor proliferasyonu. Tekrarlayan / kronik bakteriyel ve viral enfeksiyonlar (EBV, VZV), EBV lenfoproliferasyonu, B hücreli non-Hodgkin lenfoma.                                                                                                                                                           |
| <i>TNFRSF9</i> | <b>CD137 eksikliği (41BB):</b> Düşük IgG, düşük IgA, T hücrelerine bağımlı ve T hücrelerinden bağımsız antijenlere zayıf yanıtlar. Azalmış T hücre proliferasyonu, IFN $\gamma$ salgısı ve sitotoksikite. EBV lenfoproliferasyonu, B hücreli lenfoma, kronik aktif EBV enfeksiyonu.                                                                                                                                                                                      |
| <i>RASGRP1</i> | <b>RASGRP1 eksikliği:</b> T ve B hücrelerinde zayıf aktivasyon, proliferasyon ve hareketlilik. Azalmış naif T hücreleri. Normal IgM, IgG, artmış IgA. Tekrarlayan pnömoni, herpesvirüs enfeksiyonları, EBV ilişkili lenfoma. NK hücre fonksiyonu azalmış.                                                                                                                                                                                                                |
| <i>CARMIL2</i> | <b>RLTPR eksikliği:</b> T ve B hücre sayısı normal. Yüksek CD4, artmış naif CD4 + ve CD8 + T hücreleri, düşük Treg ve MAIT, zayıf CD28 kaynaklı fonksiyon. Bellek B hücreleri azalmış. T bağımlı antikor yanıtı zayıf. Tekrarlayan bakteri, mantar ve mikobakteriyel enfeksiyonlar, viral siğiller, molluscum ve EBV lenfoproliferatif ve diğer maligniteler, atopi.                                                                                                     |
| <i>MAGT1</i>   | <b>(XL) X'e bağlı, magnezyum, EBV ve neoplazi (X MEN) :</b> Düşük CD4. Düşük timik göçmen hücreler, ters CD4 / CD8 oranı, azalmış MAIT hücreleri, CD3'e zayıf proliferasyon. Dolaşımdaki B hücreler normal fakat bellek B hücreler azalmış. Progresif hipogammaglobulinemi. NKG2D'nin bozulmuş ekspresyonu nedeniyle azalmış NK hücresi ve CTL sitotoksik aktivite. EBV enfeksiyonu, lenfoma, viral enfeksiyonlar, solunum ve GI enfeksiyonları Glikosilasyon kusurları. |
| <i>PRKCD</i>   | <b>PRKCD eksikliği:</b> Düşük bellek B hücreleri, yüksek CD5 B hücreler. B hücrelerde apoptotik kusur. Tekrarlayan enfeksiyonlar, EBV kronik enfeksiyonu, lenfoproliferasyon, SLE benzeri otoimmünite (nefrotik ve antifosfolipid sendromlar), düşük IgG.                                                                                                                                                                                                                |

### 2.2.3.5 Fagosit sayısı ve/veya fonksiyonu ile ilgili konjenital bozukluklar

Yetersiz sayıda fagositik hücrenin olduğu veya işlev bozukluğu olan hastalıklardır. Etkilenen bireylerde genellikle gecikmiş yara iyileşmesine ve püy oluşumunun az olduğu enfeksiyöz granülomlar görülür (70). Erken çocukluk döneminde tekrarlayan ve şiddetli bakteri ve mantar enfeksiyonları ile başvururlar. Solunum yolu ve deri, etkilenen temel organlardır. Bununla birlikte, derin yerleşimli apseler ve oral stomatite sıklıkla rastlanır (71). Sık enfeksiyon nedenleri Staphylococcus türleri, Pseudomonas türleri, Candida ve Aspergillus türleridir. Kronik veya tekrarlayan oral ülserler, zayıf yara iyileşmesi (göbek kordonunun gecikmiş ayrılması dahil) ve periodontal hastalık da fagositik hücre fonksiyonu veya

sayılarındaki eksikliklerin ayırt edici özelliğidir (72).

Şiddetli konjenital nötropeni, Kostmann hastalığı, kardiyak ve ürogenital malformasyonlarla birlikte görülen nötropenide olduğu gibi miyeloid farklılaşmasındaki sorunlarla ortaya çıkarlar. Shwachman-Diamond sendromunda (pankreas yetmezliği), glikojen depo hastalığı tip Ib (bir glikojen depolama hastalığı),  $\beta$ -Aktin eksikliği (zekâ geriliği, kısa boy), pulmoner alveolar proteinoz (alveolar proteinoz) ve p14 eksikliği (kısmi albinizm ve büyüme geriliği) hastalıklarındaysa belirli bir organ disfonksiyonu ile birlikte olabilir (73).

**Tablo 5 Fagosit sayısı veya fonksiyonunun konjenital kusurları**

| <b>1. Doğuştan nötropeniler</b> |                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ELANE</b>                    | <b>(OD) Elastaz eksikliği (Ciddi konjenital nötropeni [SCN] 1):</b> Myeloid diferansiasyon ve nötrofiller etkilenmiş. MDS / lösemiye duyarlılık. Şiddetli konjenital nötropeni veya siklik nötropeni.                                               |
| <b>GFI1</b>                     | <b>(OD) GFI 1 eksikliği (SCN2):</b> Myeloid diferansiasyon ve nötrofiller etkilenmiş. B ve T lenfopenisi.                                                                                                                                           |
| <b>HAX1</b>                     | <b>HAX1 eksikliği (Kostmann Hastalığı) (SCN3):</b> Myeloid diferansiasyon ve nötrofiller etkilenmiş. Her iki HAX1 izoformunda kusurlu hastalarda bilişsel ve nörolojik kusurlar, MDS / lösemiye duyarlılık.                                         |
| <b>G6PC3</b>                    | <b>G6PC3 eksikliği (SCN4):</b> Myeloid diferansiasyon, kemotaksis, $O_2^-$ üretimi ve nötrofiller etkilenmiş. Yapısal kalp kusurları, ürogenital anormallikler, iç kulak sağırılığı ve gövde ve uzuvların venöz anjiyektazileri.                    |
| <b>VPS45</b>                    | <b>VPS45 eksikliği (SCN5):</b> Myeloid diferansiasyon, migrasyon ve nötrofiller etkilenmiş. Ekstramedüller hematopoez, kemik iliği fibrozu, nefromegali.                                                                                            |
| <b>G6PT1</b>                    | <b>Glikojen depo hastalığı tip 1b:</b> Myeloid diferansiasyon, kemotaksis, $O_2^-$ üretimi, nötrofiller ve monositler etkilenmiş. Açlık hipoglisemisi, laktik asidoz, hiperlipidemi, hepatomegali.                                                  |
| <b>WAS</b>                      | <b>(XL) X'e bağlı nötropeni / miyelodisplazi:</b> Farklılaşma, mitoz ve nötrofiller etkilenmiş. WASp'nin GTPaz bağlama alanındaki GOF mutasyonları nedeniyle. Nötropeni, miyeloid maturasyon durması, monositopeni, değişken lenfoid anormallikler. |
| <b>LAMTOR2</b>                  | <b>P14 / LAMTOR2 eksikliği:</b> Endosomal biyogenez, monosit ve nötrofiller etkilenmiş. Nötropeni, hipogammaglobulinemi, azalmış CD8 sitotoksitesi, kısmi albinizm, büyüme geriliği.                                                                |
| <b>TAZ</b>                      | <b>(XL) Barth Sendromu (3-Metilglutakonik asidüri tip II):</b> Mitokondriyal diferansiasyon, nötrofil, melanosit ve lenfositler etkilenmiş. Kardiyomiyopati, miyopati, büyüme geriliği, nötropeni.                                                  |

|                |                                                                                                                                                                                                                           |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>VPS13B</b>  | <b>Cohen sendromu:</b> Myeloid diferansiasyon ve nötrofiller etkilenmiş. Dismorfizm, zekâ geriliği, obezite, sağırılık, nötropeni.                                                                                        |
| <b>USB1</b>    | <b>Clericuzio sendromu (Poikiloderma nötropeni ile):</b> Myeloid diferansiasyon ve nötrofiller etkilenmiş. Retinopati, gelişimsel gecikme, fasyal dismorfizmleri, poikiloderma.                                           |
| <b>JAGN1</b>   | <b>JAGN1 eksikliği:</b> Myeloid diferansiasyon ve nötrofiller etkilenmiş. Miyeloid diferansiasyon durması, osteopeni.                                                                                                     |
| <b>CLPB</b>    | <b>3-Metilglutakonik asidüri:</b> Myeloid diferansiasyon, mitokondriyal proteinler ve nötrofiller etkilenmiş. Nörobilişsel gelişimsel aberasyonlar, mikrosefali, hipoglisemi, hipotoni, ataksi, nöbetler, katarakt, IUGR. |
| <b>CSF3R</b>   | <b>G-CSF reseptör eksikliği:</b> Stres granülopoezi bozukluğu. Nötrofiller etkilenmiş.                                                                                                                                    |
| <b>SMARCD2</b> | <b>SMARCD2 eksikliği:</b> Kromatinin yeniden şekillenmesi, myeloid farklılaşması ve nötrofil fonksiyonel kusuru. Nötropeni, gelişimsel anormallikler, kemikler, hematopoetik kök hücreler, miyelodisplazi.                |
| <b>CEBPE</b>   | <b>Spesifik granül eksikliği:</b> Terminal matürasyon ve global işlev bozukluğu. Nötropeni, bilobüle çekirdekli nötrofiller.                                                                                              |
| <b>SBDS</b>    | <b>Shwachman-Diamond Sendromu:</b> Nötrofil olgunlaşması, kemotaksis, ribozomal biyogenez etkilenmiş. Pansitopeni, ekzokrin pankreas yetersizliği, kondrodisplazi.                                                        |
| <b>DNAJC21</b> | Nötrofiller, hematopoietik kök hücreler etkilenmiş. Pansitopeni, eksokrin pankreatik yetersizliği.                                                                                                                        |
| <b>EFL1</b>    | Nötrofiller, hematopoietik kök hücreler etkilenmiş. Pansitopeni, eksokrin pankreatik yetersizliği.                                                                                                                        |
| <b>HYOU1</b>   | <b>HYOU1 eksikliği:</b> Katlanmamış protein yanıtı ve nötrofiller etkilenmiş. Hipoglisemi, enflamatuvar komplikasyonlar.                                                                                                  |
| <b>SRP54</b>   | <b>(OD) SRP54 eksikliği:</b> ER'ye protein translokasyonu, miyeloid farklılaşması ve nötrofil fonksiyonu bozuk. Nötropeni, ekzokrin pankreas yetmezliği.                                                                  |

## 2. Hareketlilik kusurları

|                |                                                                                                                                                                                                                                       |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ITGB2</b>   | <b>Lökosit yapışma kusuru tip 1 (LAD1):</b> Nötrofil, monosit, lenfosit, NK hücreler etkilenmiş. Yapışma, kemotaksis, endositoz, T / NK sitotoksiste etkilenmiş. Gecikmiş kordon ayrılması, deri ülserleri, periodontitis, lökositoz. |
| <b>SLC35C1</b> | <b>Lökosit yapışma kusuru tip 2 (LAD2):</b> Nötrofiller, monositler, rolling ve kemotaksis etkilenmiş. hh-kan grubu ile hafif tip 1 LAD özellikleri, büyüme geriliği, gelişimsel gecikme.                                             |
| <b>FERMT3</b>  | <b>Lökosit yapışma kusuru tip 3 (LAD3):</b> Nötrofil, monosit, lenfosit, NK; aderans ve kemotaksis etkilenmiş. LAD tip 1 özellikleriyle birlikte kanama eğilimi                                                                       |
| <b>RAC2</b>    | <b>(OD LOF) Rac2 eksikliği:</b> Nötrofiller; aderans, kemotaksis ve O <sub>2</sub> <sup>-</sup> üretimi etkilenmiştir. Zayıf yara iyileşmesi, lökositoz.                                                                              |

|             |                                                                                                                                                                                         |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ACTB</b> | <b>(OD) β aktin eksikliği:</b> Nötrofil ve monositler; motilite etkilenmiştir. Zihinsel gerilik, kısa boy.                                                                              |
| <b>FPR1</b> | <b>Lokalize juvenil periodontitis:</b> Nötrofiller etkilenmiş. Formilpeptid kaynaklı kemotaksis. Sadece periodontitis.                                                                  |
| <b>CTSC</b> | <b>Papillon-Lefèvre sendromu:</b> Nötrofil ve monositler; kemotaksis etkilenmiş. Periodontitis, bazı hastalarda palmoplantar hiperkeratoz.                                              |
| <b>WDR1</b> | WDR1 eksikliği: Nötrofiller; yayılma, hücre ömrü, kemotaksis etkilenmiş. Hafif nötropeni, zayıf yara iyileşmesi, şiddetli stomatit.                                                     |
| <b>CFTR</b> | <b>Kistik fibrozis:</b> Sadece monositler ve kemotaksis etkilenmiş. Solunum yolu enfeksiyonları, pankreas yetersizlik, yüksek ter klorür.                                               |
| <b>MKL1</b> | <b>Kombine nötropeni nedeniyle bağışıklık yetersizliği MKL1 eksikliği:</b> Nötrofil, monosit, lenfosit ve NK etkilenmiş. Bozulmuş hücre iskeleti gen ekspresyonu. Hafif trombositopeni. |

### 3. Solunum patlaması bozuklukları

|               |                                                                                                                                                                                                                                                                |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>CYBB</b>   | <b>(XL) X'e bağlı kronik granüloamatöz hastalık (CGD), gp91phox:</b> Nötrofil ve monositler; öldürme fonksiyonu ( $O_2^-$ üretimi hatası). Enfeksiyonlar, otoinflamatuvar fenotip, bitişik Kell lokusuna uzanan delesyonu olan hastalarda IBD McLeod fenotipi. |
| <b>OR CGD</b> | <b>CYBA, CYBC1, NCF1, NCF2, NCF4 :</b> Enfeksiyonlar, otoinflamatuvar fenotip.                                                                                                                                                                                 |
| <b>G6PD</b>   | <b>(XL) G6PD eksikliği sınıfı I:</b> Nötrofil etkilinmiş. $O_2^-$ üretimi azalmış. Enfeksiyon.                                                                                                                                                                 |

### 4. Diğer lenfoid olmayan kusurlar

|                              |                                                                                                                                                                                                     |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>GATA2</b>                 | <b>GATA2 eksikliği:</b> Monosit ve periferik Dentritik hücreler etkilenmiş. Multiple seride sitopeni. Mikobakterilere duyarlılık, HPV, histoplazmoz, alveolar proteinoz, MDS / AML / CMML, lenfödem |
| <b>CSF2RA, XL CSFR2B, OR</b> | <b>(XL, Psödo-otozomal gende bialelik mutasyonlar) Pulmoner alveolar proteinoz:</b> Alveolar makrofajlar etkilenmiş. GM-CSF sinyali etkilenmiş. Alveolar proteinoz.                                 |

#### 2.2.3.6 Doğal immünite defektleri

Klasik pimer immün yetmezlikler, çoklu mikroorganizmalara veya tekrarlayan enfeksiyonlara yatkınlığa yol açar. Bazı virüsler (HSV-1 ensefaliti), mikobakteriler (mikobakteriyel enfeksiyonlara Mendelyan yatkınlık), piyojenik bakteriler (invaziv pnömokokal enfeksiyonlara monogenik yatkınlık) veya Candida (kronik mukokutanöz kandidiyaz) gibi mantarların neden olduğu şiddetli idiyopatik enfeksiyonlar içinse moleküler çalışmalar son çeyrek yüzyılda etyopatogenezi aydınlatacak veriler



sağlamıştır (74,75). İlgili genin kusurları, sağlıklı bireylerde bu spesifik patojen gruplarından biriyle enfeksiyonlara seçici bir yatkınlık sağlayabilir. Klasik primer immün yetmezliklerdeki daha geniş kusurların aksine, tek bir mikroorganizma ailesinin neden olduğu şiddetli ve / veya tekrarlayan enfeksiyonlara neden olan bozukluklardır (76).

**Tablo 6 İntrinsik ve doğal immünite kusurları**

| <b>1. Mikobakteriyel hastalığa Mendelyen yatkınlık</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>IL12RB1</b>                                         | <b>IL-12 ve IL-23 reseptörü <math>\beta</math>1 zincir eksikliği:</b> Lenfositler ve NK.                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>IL12B</b>                                           | <b>IL-12p40 (IL-12 ve IL-23) eksikliği:</b> Monositler etkilenmiştir.                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>IL12RB2</b>                                         | <b>IL-12R<math>\beta</math>2 eksikliği:</b> Lenfositler ve NK etkilenmiştir.                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>IL23R</b>                                           | <b>IL-23R eksikliği:</b> Lenfositler ve NK etkilenmiştir.<br>IFN- $\gamma$ salgısı etkilenmiştir. Mikobakteri ve <i>Salmonella</i> 'ya yatkınlık.                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>IFNGR1</b>                                          | <b>(OD ve OR) IFN-<math>\gamma</math> reseptör 1 eksikliği:</b> Monosit ve lenfositler; IFN- $\gamma$ bağlama ve sinyalizasyon etkilenmiş. Mikobakteri ve <i>Salmonella</i> 'ya yatkınlık.                                                                                                                                                                                     |
| <b>IFNGR2</b>                                          | <b>IFN-<math>\gamma</math> reseptör 3 eksikliği:</b> Monosit ve lenfositler; IFN- $\gamma$ sinyalizasyonu etkilenmiş. Mikobakteri ve <i>Salmonella</i> 'ya yatkınlık.                                                                                                                                                                                                          |
| <b>STAT1</b>                                           | <b>(OD LOF) STAT1 eksikliği:</b> Monosit ve lenfositler etkilenmiş.                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>CYBB</b>                                            | <b>(XL) Makrofaj gp91 phox eksikliği:</b> Sadece makrofajlar etkilenmiş. Öldürme (hatalı O <sub>2</sub> <sup>-</sup> üretimi) bozulmuş. Mikobakterilere karşı izole duyarlılık.                                                                                                                                                                                                |
| <b>IRF8</b>                                            | <b>(OD ve OR) IRF8 eksikliği:</b> OD: Monosit ve lenfositler etkilenmiş. Dentritik hücreler (DH) ve Th1* hücrelerin gelişimi bozuk. Mikobakterilere duyarlılık. OR: Monositler etkilenmiş. Dolaşımdaki monositlerin ve DH'lerin eksikliği, bazı hastalarda azalmış NK hücre sayısı ve işlevi bildirilmiş. Mikobakterilere ve EBV dahil diğer birçok bulaşıcı ajana duyarlılık. |
| <b>SPPL2A</b>                                          | <b>SPPL2A eksikliği:</b> Monosit ve lenfositler etkilenmiş. Dentritik hücreler (DH) ve Th1* hücrelerin gelişimi bozuk. Mikobakteri ve <i>Salmonella</i> ya duyarlılık.                                                                                                                                                                                                         |
| <b>TYK2</b>                                            | <b>Tyk2 eksikliği:</b> Monosit ve lenfositler etkilenmiş. IL-10, IL-12, IL-23 ve tip I IFN'lere hücresel yanıtlar kusurlu. Hücre içi bakterilere (mikobakteriler, <i>Salmonella</i> ) ve virüslere duyarlılık.                                                                                                                                                                 |
| <b>TYK2</b>                                            | <b>P1104A TYK2 homozigotluk:</b> Lenfositler etkilenmiş. IL-23'e bozulmuş hücresel yanıtlar. Mikobakteriyel hastalığa veya tüberküloza yatkınlık.                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>ISG15</b>                                           | <b>ISG15 eksikliği:</b> IFN $\gamma$ üretim kusuru. Mikobakterilere duyarlılık (BCG), beyin kalsifikasyonu.                                                                                                                                                                                                                                                                    |

|             |                                                                                                                                                                                                                                          |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>RORC</b> | <b>ROR<math>\gamma</math>T eksikliği:</b> Lenfositler ve NK etkilenmiş. Fonksiyonel ROR $\gamma$ T proteini eksikliği, IFN $\gamma$ üretim bozukluğu, IL-17A / F üreten T hücrelerinin tam yokluğu. Mikobakteri ve kandidaya duyarlılık. |
| <b>JAK1</b> | <b>(OR LOF) JAK1 eksikliği:</b> Nötrofil ve NK etkilenmiş. Sitokinlere karşı azalmış JAK1 aktivasyonu. Azalmış IFN $\gamma$ üretimi. Mikobakteri ve virüslere duyarlılık, ürotelyal karsinom.                                            |

## 2. Epidermodisplazi verruciformis (HPV)

|             |   |                                                                                                                                           |
|-------------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TMC6</b> | / | <b>EVER1 eksikliği / EVER2 eksikliği / CIB1 eksikliği:</b> Keratinositler etkilenmiş.                                                     |
| <b>TMC8</b> | / | EVER1, EVER2 ve CIB1, keratinositlerde bir kompleks oluşturur. İnsan papilloma virüsü (HPV B1) enfeksiyonları ve deri kanseri (tipik EV). |
| <b>CIB1</b> |   |                                                                                                                                           |

## 3. Ciddi viral enfeksiyona yatkınlık

|                                                 |                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>STAT1</b>                                    | <b>(OR LOF) STAT1 eksikliği:</b> Lökosit ve diğer hücreler etkilenmiş. STAT1 bağımlı IFN- $\alpha$ / $\beta$ , $\gamma$ ve $\lambda$ yanıtları etkilenmiş. Şiddetli viral enfeksiyonlar, mikobakteriyel enfeksiyon. |
| <b>STAT2</b>                                    | STAT2 eksikliği: Lökosit ve diğer hücreler etkilenmiş. STAT2 bağımlı IFN- $\alpha$ / $\beta$ ve $\lambda$ yanıtları etkilenmiş. Şiddetli viral enfeksiyonlar (yaygın aşı suşu kızamık)                              |
| <b>IRF9</b>                                     | <b>IRF9 eksikliği:</b> Lökosit ve diğer hücreler etkilenmiş. IRF9 ve ISGF3 bağımlı IFN- $\alpha$ / $\beta$ ve $\lambda$ yanıtları etkilenmiş. Şiddetli influenza hastalığı.                                         |
| <b>IRF7</b>                                     | <b>IRF7 eksikliği:</b> Lökositler, plazmasitoid dentritik hücreler ve non-hematopoietik hücreler; IFN- $\alpha$ , $\beta$ ve $\gamma$ , IFN- $\lambda$ üretimi etkilenmiş.                                          |
| <b>IFNAR1</b>                                   | <b>IFNAR1 eksikliği:</b> Lökosit ve diğer hücreleri; IFNAR1 bağımlı IFN- $\alpha$ / $\beta$ 'ye yanıtlar etkilenmiş. Sarı humma aşısının ve Kızamık aşısının neden olduğu ciddi hastalık.                           |
| <b>IFNAR2</b>                                   | <b>IFNAR2 eksikliği:</b> IFNAR2 bağımlı IFN- $\alpha$ / $\beta$ 'ye yanıtlar etkilenmiş. Şiddetli viral enfeksiyonlar (yaygın aşı suşu kızamık, HHV6).                                                              |
| <b>FCGR3A</b>                                   | <b>CD16 eksikliği:</b> NK etkilenmiş. Özellikle şiddetli herpes viral enfeksiyonları Özellikle VZV, EBV ve HPV.                                                                                                     |
| <b>IFIH1</b>                                    | <b>(OR LOF) MDA5 eksikliği:</b> Viral tanıma ve IFN indüksiyonu etkilenmiş. Rinovirüs ve diğer RNA virüs enfeksiyonları.                                                                                            |
| <b>POLR3A</b><br><b>POLR3C</b><br><b>POLR3F</b> | <b>(OD) RNA polimeraz III eksikliği:</b> Lökositler ve diğer hücreler etkilenmiş. VZV veya poli I: C'ye yanıtta viral tanıma ve IFN indüksiyonu kusurlu. Şiddetli VZV enfeksiyonu.                                  |

## 4. Herpes simpleks ensefaliti (HSE)

|                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TLR3</b><br><b>UNC93B1</b><br><b>TRAF3</b><br><b>TICAM1</b><br><b>TBK1 IRF3</b> | <b>(OD ve OR) TLR3, UNC93B1, (OD) TRAF3, (OD ve OR) TICAM1, (OD) TBK1, (OD) IRF3 Eksiklikleri:</b> Merkezi sinir sistemi (CNS) yerleşik hücreleri ve fibroblastlar; TLR3/UNC93B1/TRAF3/TICAM1/TBK1 bağımlı IFN- $\alpha$ , $\beta$ ve $\gamma$ yanıtları etkilenmiş. Herpes simpleks virüsü 1 ensefaliti (HSE) (burada listelenen tüm etiyolojiler için eksik klinik penetrasyon); şiddetli pulmoner influenza; VZV. Azalmış IRF3 fosforilasyonu. |
|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|             |                                                                                                                               |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>DBR1</b> | <b>DBR1 eksikliği:</b> Anti-viral IFN'lerin üretimi bozulmuş. Beyin sapının HSE'si. Beyin sapının diğer viral enfeksiyonları. |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

#### 5. İnvaziv mantar hastalıklarına yatkınlık

|              |                                                                                                                                                                           |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>CARD9</b> | <b>CARD9 eksikliği:</b> Mononükleer fagositler; CARD9 sinyal yolu etkilenmiş. İnvazif kandidiyaz enfeksiyonu, derin dermatofitozlar, diğer invaziv mantar enfeksiyonları. |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

#### 6. Mukokutanöz kandidiyaza (KMK) yatkınlık

|                                |                                                                                                                                                                  |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>IL17RA</b><br><b>IL17RC</b> | <b>IL-17RA eksikliği / IL-17RC eksikliği:</b> Epitel hücreleri, fibroblastlar, mononükleer fagositler; IL-17RA / IL-17RC sinyal yolu etkilenmiş. KMK, folikülit. |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|              |                                                                                               |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>IL17F</b> | <b>(OD) IL-17F eksikliği:</b> T hücreleri; IL-17F içeren dimerler etkilenmiş. KMK, folikülit. |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|

|              |                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>STAT1</b> | <b>(OD) STAT1 GOF:</b> T, B hücreleri, monositler etkilenmiş. IL-17 üreten T hücrelerinin gelişimi bozulmuş. KMK, çeşitli fungal, bakteriyel ve viral (HSV) enfeksiyonlar, otoimmünite (tiroidit, diyabet, sitopeniler), enteropati. |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                 |                                                                                                                                                        |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TRAF3IP2</b> | <b>ACT1 eksikliği:</b> Fibroblastlar IL-17A ve IL-17F'ye; T hücreleri IL-17E'ye yanıt vermede başarısız olur. KMK, blefarit, folikülit ve makroglossi. |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

#### 7. Bakteriyel duyarlılıkla birlikte TLR sinyal yolu eksikliği

|                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>IRAK4</b><br><b>MYD88</b><br><b>IRAK1</b><br><b>TIRAP</b> | <b>IRAK4, MYD88, (XL) IRAK1, TIRAP eksiklikleri:</b> Lenfosit, granülosit, monositler etkilenmiş. TIR-IRAQ4 / TIR-MyD88 / TIR-IRAQ1 / TIRAP sinyal yolları etkilenmiş. Bakteriyel enfeksiyonlar. Hem MECP2 hem de IRAK1'i kapsayan büyük bir de novo Xq28 kromozomal delesyonu: X'e bağlı MECP2 eksikliğine bağlı sendrom. TIRAP eksikliğinde çocuklukta stafilokokal hastalıklar. |
|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

#### 8. Non-Hematopoietik dokularla ilgili diğer doğuştan bağışıklık kusurları

|             |                                                                                                                                                                                 |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>RPSA</b> | <b>(OD) İzole konjenital aspleni (İKA):</b> Dalak yok. RPSA, ribozomun küçük alt biriminin bir bileşeni olan ribozomal protein SA'yı kodlar. Bakteriemi (kapsüllenmiş bakteri). |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|              |                                                                                                                       |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>HMOX1</b> | Makrofajlar etkilenir. HO-1, demir geri dönüşümünü düzenler ve heme bağlı hasar oluşur. Hemoliz, nefrit, inflamasyon. |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|              |                                                                                             |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>APOL1</b> | <b>(OD) Tripanozomiyaz:</b> Somatik hücreler ve por oluşturan serum proteini etkilenmiştir. |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|

|             |                                                                                                                                                  |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>NBAS</b> | <b>NBAS eksikliğine bağlı akut karaciğer yetmezliği:</b> Somatik ve hematopoietik hücreler etkilenmiştir. ER stresi. Ateş, karaciğer yetmezliği. |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|               |                                                                                           |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>RANBP2</b> | Akut nekrotizan ensefalopati: Nükleer por fonksiyonu etkilenmiş. Ateş, akut ensefalopati. |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|

|                    |                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Osteopetroz</b> | <b>CLCN7, SNX10, OSTM1, PLEKHM1, TCIRG1, TNFRSF11A, TNFSF11:</b> Osteoklastlar, sekreatuar lizozomlar ve osteoklastogenezis(TNFRSF11A, TNFSF11) etkilenebilir. Hipokalsemiyle birlikte osteopetrozis, nörolojik bozukluklar (görme bozukluğu), büyüme geriliği. |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                                     |                                                                                                                                                                                                                             |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Hidradenitis süpürativa (OD)</b> | <b>NCSTN, PSEN, PSENEN:</b> Epidermis ve keratinizasyonu düzenleyen kıl folikülündeki Notch sinyalizasyonu/gama-sekretaz etkilenmiştir. Verneuil hastalığı / Hidradenit süpürativa ile sivilce / kütanöz hiperpigmentasyon. |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

#### 9. Lökositlerle ilgili diğer doğuştan bağışıklık hataları

|               |                                                                                                                                               |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>IRF4</b>   | <b>IRF4 haplo yetmezliği:</b> Lökosit ve monositler; pleiotropik transkripsiyon etkilenir. Whipple hastalığı.                                 |
| <b>IL18BP</b> | <b>IL-18BP eksikliği:</b> Lökosit ve diğer hücreler; salgılanan IL-18'i nötralize eden IL-18BP fonksiyonu etkilenir. Fulminant viral hepatit. |

#### 2.2.3.7 Otoinflamatuvar hastalıklar

Otoinflamatuvar bozukluklar, birden fazla organ sistemini içeren spontan enflamasyon tablolarına yol açan abartılı bir doğal bağışıklık tepkisi ile ortaya çıkar. Edinsel immünitedeki aşırılıklar otoimmün bozukluklarla tanımlanmışken, 'otoinflamasyon' kavramı nispeten yakın zamanda ortaya çıkmıştır ve otoimmün bozuklukların tipik belirtileri olmaksızın spontan sistemik inflamasyonla birlikte olan klinik bozuklukları kapsamaktadır (77). Doğuştan gelen bağışıklık mekanizmalarına ilişkin artan bilgi ve moleküler genetikteki ilerlemeler doğrudan otoinflamatuvar olarak tanımlanan veya otoinflamatuvar bir bileşen içeren bozuklukların tanımlanmasına yol açmıştır (78). Otoinflamatuvar bozukluklardaki temel sorun, normal veya önemsiz bir uyarana karşı artan duyarlılık veya bağışıklık sisteminin normal yanıtlarının uygun şekilde zamanında azaltılmasındaki yetersizliğe bağlı olarak abartılı bir inflamatuvar yanıt olarak görünmektedir. Bu bozukluklardaki mutasyona uğramış proteinlerin çoğu, apoptoz, NF-κB aktivasyonu ve proinflamatuvar sitokin üretimine dahil olan ölüm bölgesi katlantısı ailesinin üyeleridir (79,80). Otoinflamatuvar bozukluklar genellikle ateş ve yükselen inflamatuvar belirteçler (CRP, ESR, SAA) ile birlikte olan tekrarlayan inflamatuvar ataklarla kendini gösterir. Hastalar ataklar arasında asemptomatiktir ancak şiddetli formlarda daha uzun süreli semptomlar ortaya çıkabilir (81,82). Hastalar genellikle her atakta benzer semptomlar yaşarlar. Her sendromda, farklı hastalar arasında ve hatta aynı ailenin etkilenen üyeleri arasında özelliklerin değişkenliği görülür. Yorgunluk ve baş ağrısı gibi spesifik olmayan özelliklerin olduğu bir prodromal dönem olabilir (83).

**Tablo 7 Otoinflamatuvar hastalıklar**

| <b>1. Tip 1 interferonopatiler</b>        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TMEM173</b>                            | <b>STING ile ilişkili vaskülopati infantil başlangıçlı:</b> STING, IFN'nin ekspresyonunu indüklemek için hem NF-kappa-B hem de IRF3 transkripsiyon yollarını aktive eder. Deri vaskülopatisi, inflamatuvar akciğer hastalığı, sistemik otoinflamasyon ve intrakraniyal kalsifikasyon (İKK), ailesel chilblain lupus (ACL).                                |
| <b>ADA2</b>                               | <b>ADA2 eksikliği:</b> ADA'lar hücre dışı adenosini devre dışı bırakır ve adenosin reseptörleri aracılığıyla gerçekleşen sinyalizasyonu sonlandırır. Poliarteritis nodosa, çocukluk çağında başlayan, erken başlangıçlı tekrarlayan iskemik inme ve ateş; bazı hastalar hipogamaglobulinemi geliştirir.                                                   |
| <b>TREX1</b>                              | <b>TREX1 eksikliği, Aicardi-Goutieres sendromu 1 (AGS1):</b> Tip I IFN üretiminin artmasına yol açan anormal ss DNA türlerinin hücre içi birikimi. SLE, ACL.                                                                                                                                                                                              |
| <b>RNASEH2B<br/>RNASEH2C<br/>RNASEH2A</b> | <b>RNASEH2B eksikliği (AGS2), RNASEH2C eksikliği (AGS3), RNASEH2A eksikliği (AGS4):</b> Tip I IFN üretiminin artmasına neden olan anormal RNA-DNA hibrit türlerinin hücre içi birikimi. Klasik AGS, spastik paraparezi (SP).                                                                                                                              |
| <b>SAMHD1</b>                             | <b>SAMHD1 eksikliği (AGS5):</b> SAMHD1 sitozoldeki dNTP'leri kontrol eder. Kusurunda tip I INF üretimi artar. Klasik AGS, ACL.                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>ADAR1</b>                              | <b>ADAR1 eksikliği (AGS6):</b> dsRNA substratlarında adenosinin inosine deaminasyonunu katalize eder, buradaki kusur tip I IFN üretiminin artmasına neden olur. Klasik AGS, SP, bilateral striatal nekroz (BSN).                                                                                                                                          |
| <b>IFIH1</b>                              | <b>Aicardi-Goutieres sendromu 7 (AGS7):</b> IFIH1 geni, MAVS adaptör molekülü aracılığıyla tip I interferon sinyalizasyonunu etkinleştiren bir sitoplazmik viral RNA reseptörünü kodlar. AGS, Singleton-Merten sendromu (SMS), SLE, SP.                                                                                                                   |
| <b>DNASE2</b>                             | <b>DNase II eksikliği:</b> DNase II, DNA'yı bozar ve ortadan kaldırır. DNase II aktivitesinin kaybı, tip I interferon sinyallemesini indükler. AGS.                                                                                                                                                                                                       |
| <b>DNASE1L3</b>                           | <b>DNASE1L3 eksikliği nedeniyle pediatrik sistemik lupus eritematozus:</b> DNASE1L3, hücre dışı DNA'yı degrade eden bir endonükleazdır. DNASE1L3 eksikliği, apoptotik hücrelerin klirensini azaltır. Çok erken başlangıçlı SLE, azalmış kompleman seviyeleri, otoantikörler (dsDNA, ANCA), lupus nefrit, hipokomplementemik ürtikeryal vaskülit sendromu. |
| <b>ACP5</b>                               | <b>İmmün disregülasyon ile birlikte spondiloenkondro-displazi:</b> IFN'nin muhtemelen plazmasitoid dendritik hücrelerle (pDH) ilgili mekanizma yoluyla up-regülasyonu. Kısa boy, SP, İKK, SLE, trombositopeni ve otoimmün hemolitik anemi, muhtemelen tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar.                                                      |
| <b>POLA1</b>                              | <b>(XL) X'e bağlı retikülat pigment bozukluk:</b> POLA1, sitozolik RNA / DNA sentezi için gereklidir ve eksikliği, tip I interferon üretiminin artmasına neden olur. Hiperpigmentasyon, karakteristik yüz, akciğer ve GI tutulumu.                                                                                                                        |
| <b>USP18</b>                              | <b>USP18 eksikliği:</b> ISG15'in hatalı negatif düzenlemesi, artan IFN'ye yol açar. TORCH benzeri sendrom.                                                                                                                                                                                                                                                |

|             |                                                                                                                                        |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>OAS1</b> | <b>(OD GOF) OAS1 eksikliği:</b> B hücreler düşük. RNA'nın tanınmasından artan interferon. Pulmoner alveolar proteinoz, deri döküntüsü. |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## 2. İltihaplanmayı etkileyen kusurlar

|                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>MEFV</b>                     | <b>(OR LOF ve OD) Ailevi Akdeniz ateşi:</b> Olgun granülositler, sitokinle aktive olan monositler etkilenir. <b>OR:</b> IL1β'nın inflammasom aracılı indüksiyonunda artış. Kolşisine yanıt veren tekrarlayan ateş, serozit ve iltihaplanma. Vaskülit ve inflamatuvar bağırsak hastalığına yatkınlık. <b>OD:</b> Genellikle M694del varyantı. |
| <b>MVK</b>                      | <b>Mevalonat kinaz eksikliği (Hiper IgD sendromu):</b> Somatik ve hemaotpoietik hücreler etkilenir. Kolesterol sentezini etkileyen hastalığın patogenezi net değil. Yüksek IgD seviyelerine sahip periyodik ateş ve lökositoz.                                                                                                               |
| <b>NLRP3</b>                    | <b>(OD GOF) Muckle-Wells sendromu:</b> PMN'ler, monositler etkilenir. Lökosit apoptozunda, NFκB sinyalizasyonunda ve IL-1 işlemede rol oynayan kriyopirinde kusur. Ürtiker, sensörinöral işitme kaybı (SNİK), amiloidoz.                                                                                                                     |
| <b>(1) NLRP3<br/>(2) NLRP12</b> | <b>(OD GOF) Ailevi soğuk otoinflamatuvar sendrom 1 ve 2:</b> Soğuğa maruz kaldıktan sonra kaşıntılı olmayan ürtiker, artrit, titreme, ateş ve lökositoz.                                                                                                                                                                                     |
| <b>NLRP3</b>                    | <b>(OD GOF) Neonatal başlangıçlı multisistem inflamatuvar hastalık veya kronik infantil nörolojik kutanöz ve artiküler sendrom:</b> PMN'ler, kondrositler etkilenir. Neonatal başlangıçlı döküntü, kronik menenjit ve ateş ve iltihapla birlikte artropati.                                                                                  |
| <b>NLRP4</b>                    | <b>(OD GOF) NLRP4-MAS (makrofaj aktivasyon sendromu) / Ailevi soğuk otoinflamatuvar sendrom 4:</b> PMN'ler monositler makrofajlar etkilenir. NLRP4'teki fonksiyon artışı, IL-1β ve IL-18'in yüksek sekresyonunun yanı sıra makrofaj aktivasyonu ile sonuçlanır. Şiddetli enterokolit ve makrofaj aktivasyon sendromu.                        |
| <b>PLCG2</b>                    | <b>PLAID (PLCγ2 ilişkili antikor eksikliği ve bağışıklık düzensizlik) / Ailevi soğuk otoinflamatuvar sendrom 3 veya APLAID (c2120A&gt; C):</b> B hücreleri, NK, mast hücreleri etkilenir. Mutasyonlar IL-1 yollarını aktive eder. Soğuk ürtiker hipogammaglobulinemi, bozulmuş humoral bağışıklık, otoinflamasyon.                           |
| <b>NLRP1</b>                    | <b>NLRP1 eksikliği:</b> Lökositler etkilenir. IL-18 ve kaspaz 1'in sistemik yükselmesi, NLRP1 inflammasomunun dahil olduğunu düşündürür. Diskeratoz, otoimmünite ve artrit. <b>NLRP1 GOF:</b> Keratinositler. Artmış IL1β. Palmoplantar karsinom, kornea skarlaşması; tekrarlayan solunum papillomatozu.                                     |

## 3. İnflamazoma bağlı olmayan durumlar

|                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TNFRSF1A</b> | <b>(OD) TNF reseptörü ile ilişkili periyodik sendrom (TRAPS):</b> PMN'ler, monositler etkilenir. 55-kD TNF reseptör mutasyonları, hücre içi reseptör tutulmasına veya TNF'yi bağlamak için mevcut olan çözünür sitokin reseptörünün azalmasına yol açar. Tekrarlayan ateş, serozit, döküntü ve oküler veya eklem iltihabı. |
| <b>PSTPIP1</b>  | <b>(OD) Piyojenik steril artrit, piyoderma gangrenozum, akne (PAPA) sendromu, hiperzinkemi ve hiperkalprotektinemi:</b> Upregüle aktive T hücreleri. Enflamatuvar yanıt sırasında riskli fizyolojik sinyalizasyonuna yol açan düzensiz aktin yeniden organizasyonu. Yıkıcı artrit, iltihaplı deri döküntüsü, miyozit.      |
| <b>NOD2</b>     | <b>(OD) Blau sendromu:</b> Monositler etkilenir. CARD15'in nükleotid bağlanma bölgesindeki mutasyonlar, muhtemelen lipopolisakkaritler ve NF-κB sinyaliyle etkileşimleri bozar. Üveit, granümatöz sinovit, kamptodaktili, döküntü ve kraniyal nöropatiler, %30 Crohn koliti geliştirir.                                    |

|                |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ADAM17</b>  | <b>ADAM17 eksikliği:</b> Lökositler ve epitel hücreleri etkilenir. Hatalı TNF $\alpha$ üretimi. Erken başlayan ishal ve cilt lezyonları.                                                                                                                                 |
| <b>LPIN2</b>   | <b>Kronik tekrarlayan multifokal osteomyelit ve konjenital dizeitropoietik anemi (Majeed sendromu):</b> Nötrofiller, kemik iliği hücreleri etkilenir. Kronik tekrarlayan multifokal osteomyelit, transfüzyona bağlı anemi, kütanöz inflamatuvar bozukluklar.             |
| <b>IL1RN</b>   | <b>DIRA (İnterlökin 1 Reseptörü antagonisti eksikliği):</b> PMN ve monositler etkilenir. IL1 reseptör antagonistindeki mutasyonlar, Interleukin 1'in karşı konulmamış etkisine izin verir. Yenidoğan başlangıcı, steril multifokal osteomyelit, periostitis ve püstüloz. |
| <b>IL36RN</b>  | <b>DITRA (IL-36 reseptör antagonisti eksikliği):</b> Keratinositler, lökositler etkilenir. IL-36RN'deki mutasyonlar, IL-8 üretiminin artmasına neden olur. Püstüler psoriyazis.                                                                                          |
| <b>SLC29A3</b> | <b>SLC29A3 mutasyonu:</b> Lökositler, kemik hücreleri etkilenir. Hiperpigmentasyon hipertrikozu, histiyositoz-lenfadenopati plus sendromu.                                                                                                                               |
| <b>CARD14</b>  | <b>(OD) CAMPS (CARD14 aracılı Sedef hastalığı):</b> Esas olarak keratinositlerde. CARD14'teki mutasyonlar, NF-kB yolunu ve IL-8 üretimini etkinleştirir. Sedef hastalığı.                                                                                                |
| <b>SH3BP2</b>  | <b>(OD) Kerubizm:</b> Stroma hücreleri, kemik hücreleri. Hiperaktif makrofaj ve artmış NF-kB. Çenelerde kemik dejenerasyonu.                                                                                                                                             |
| <b>PSMB8 *</b> | <b>(OR veOD) CANDLE (kronik atipik nötrofilik dermatit ile lipodistrofi):</b> Keratinositler, B hücresi ve adipoz hücreleri etkilenir. Mutasyonlar, tanımlanmamış bir mekanizma yoluyla IFN sinyalizasyonu artışına neden olur. Kontraktürler, pannikülit, İKK, ateş.    |
| <b>COPA</b>    | <b>(OD) COPA kusuru:</b> PMN ve dokuya özgü hücreler etkilenir. Coat protein kompleksi I (COPI) yoluyla hatalı hücre içi taşıma. Otoimmün inflamatuvar artrit ve Th17 ile interstisyel akciğer hastalığı.                                                                |
| <b>OTULIN</b>  | <b>Otulipenia / ORAS:</b> Lökositler etkilenir. Yüksek proinflamatuvar sitokin seviyelerine yol açan NF-KB aktivasyonunun LUBAC indüksiyonunu artırır. Ateş, ishal, dermatit.                                                                                            |
| <b>TNFAIP3</b> | <b>(OD) A20 eksikliği:</b> Lenfositler etkilenir. NF-KB sinyal yolunun kusurlu inhibisyonu. Artralji, mukozal ülserler, göz iltihabı.                                                                                                                                    |
| <b>AP1S3</b>   | <b>AP1S3 eksikliği:</b> Keratinositler etkilenir. Bozulmuş TLR3 translokasyonu. Püstüler sedef hastalığı.                                                                                                                                                                |
| <b>ALPS1</b>   | <b>ALPS eksikliği:</b> Bağırsak epitel hücreleri etkilenir. Bağırsakta yetersiz LPS inhibisyonu. Enflamatuvar barsak hastalığı.                                                                                                                                          |
| <b>TRIM22</b>  | <b>TRIM22:</b> Makrofajlar, bağırsak epitel hücreleri etkilenir. Granülatöz kolit. Enflamatuvar barsak hastalığı                                                                                                                                                         |
| <b>HAVCR2</b>  | <b>Deri altı pannikülit benzeri T hücreli lenfoma (TIM3 eksikliği):</b> Lökositler etkilenir. Hatalı kontrol noktası sinyalizasyonu nedeniyle artan inflamasyon aktivitesi. Pannikülit, HLH, poliklonal kütanöz T hücre infiltratları veya T hücre lenfoması.            |

### 2.2.3.8 Kompleman eksiklikleri

En sık görülen tip, C1-C9 ve Mannan bağlayıcı lektin eksikliklerini içeren otozomal resesif formdur (84). X'e bağlı resesif kalıtım paterni, properdin eksikliği için tanımlanmıştır (85). C1, C4 ve C2 dahil klasik kompleman yolunun erken bileşenlerinin eksiklikleri, streptococcus pneumoniae ve Haemophilus Influenza Tip b gibi kapsüllenmiş bakteriyel enfeksiyonlarla ilişkilidir. C3 eksikliği, yaşamın erken dönemlerinde şiddetli tekrarlayan piyojenik enfeksiyonlarla ilişkilidir (86-88).

Geç ortak yolun (C5, C6, C7, C8 ve C9) eksiklikleri, Neisseria meningitidis ve Neisseria gonorrhoeae dahil olmak üzere artan Neisseria enfeksiyonları ile ilişkilidir (88). Erken alternatif yoldaki properdin eksikliği de tekrarlayan Neisseria enfeksiyonu ile ilişkilidir (84,85). Mannan bağlayıcı lektin eksikliği, özellikle çocuklarda ve yenidoğanlarda adaptif bağışıklık sistemi olgunlaşmadığında artan piyojenik enfeksiyon ve sepsis sıklığıyla ilişkilendirilmiştir (88).

Artmış enfeksiyon insidansına ek olarak, erken klasik kompleman eksikliği (C1, C4 veya C2) olan bir bireyde sıklıkla daha yüksek bir otoimmünite insidansı, özellikle de sistemik lupus eritematoz vardır. C1 gibi erken klasik tamamlayıcılar apoptoz geçiren hücrelere bağlanır ve bu tür hücrelerin ortadan kaldırılmasını kolaylaştırır. Vücut, temizlenmemiş hücrelere karşı otoimmün bozukluklara neden olan otoantikorlar üretir (87). Tablo 8'de kompleman eksiklikleri özetlenmiştir (1).

**Tablo 8 Kompleman eksiklikleri**

|                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>C1QA</b><br><b>C1QB</b><br><b>C1QC</b> | <b>C1q eksikliği:</b> CH50 hemolitik aktivitesi yok, klasik yolun kusurlu aktivasyonu, apoptotik hücrelerin azalmış klirensi. SLE, kapsüllenmiş organizmalarla enfeksiyonlar.                                                                                                                                                                                           |
| <b>C1R / C1s</b>                          | <b>C1r / C1s eksikliği:</b> CH50 hemolitik aktivitesi yok, klasik yolun kusurlu aktivasyonu. SLE, kapsüllenmiş organizmalarla enfeksiyonlar, Ehlers-Danlos fenotipi.                                                                                                                                                                                                    |
| <b>C1R / C1S</b>                          | <b>(OD GOF) C1r / C1s Periodontal Ehlers-Danlos:</b> Normal CH50. Hiperpigmentasyon, cilt kırılganlığı.                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>C4A+C4B</b>                            | <b>Tam C4 eksikliği:</b> CH50 hemolitik aktivitesi yok, klasik yolun kusurlu aktivasyonu, tam eksiklik hem C4A hem de C4B'nin bialelik mutasyonlarını / delesyonlarını / dönüşümlerini gerektirir. SLE, kapsüllenmiş organizmalarla enfeksiyonlar. Kısmi eksiklik yaygındır (ya C4A veya C4B) ve konakçı savunması üzerinde ılımlı bir etkiye sahip gibi görünmektedir. |



|                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>C2</b>                                    | C2 eksikliği: CH50 hemolitik aktivitesi yok, klasik yolun kusurlu aktivasyonu. SLE, kapsüllenmiş organizmalarla enfeksiyonlar, ateroskleroz.                                                                                                                                                                  |
| <b>C3</b>                                    | <b>C3 eksikliği (OR LOF):</b> CH50 ve AH50 hemolitik aktivitesi yok, kusurlu opsonizasyon, kusurlu humoral immün yanıt.                                                                                                                                                                                       |
| <b>C3</b>                                    | <b>(OD) C3 GOF:</b> Kompleman aktivasyonunun artması. Atipik hemolitik üremik sendrom.                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>C5</b>                                    | <b>C5 eksikliği:</b> CH50 ve AH50 hemolitik aktivitesi yok. Kusurlu bakterisidal aktivite. Disemine neisseria enfeksiyonları.                                                                                                                                                                                 |
| <b>C6/C7<br/>C8A/G/B</b>                     | <b>C6 eksikliği / C7 eksikliği / C8α eksikliği / C8 γ eksikliği / C8 β eksikliği:</b> CH50 ve AH50 hemolitik aktivitesi yok, kusurlu bakterisidal aktivite.                                                                                                                                                   |
| <b>C9</b>                                    | <b>C9 eksikliği:</b> Azalmış CH50 ve AP50 hemolitik aktivitesi, yetersiz bakterisidal aktivite. Disemine neisseria enfeksiyonlarına hafif duyarlılık.                                                                                                                                                         |
| <b>MASP2</b>                                 | <b>MASP2 eksikliği:</b> Lektin aktivasyon yolunun yetersiz aktivasyonu. Piyojenik enfeksiyonlar, inflamatuvar akciğer hastalığı, otoimmünite.                                                                                                                                                                 |
| <b>FCN3</b>                                  | <b>Ficolin 3 eksikliği:</b> Ficolin 3 yolu ile tamamlayıcı aktivasyonunun olmaması. Solunum yolu enfeksiyonları, apseler.                                                                                                                                                                                     |
| <b>SERPING1</b>                              | <b>C1 inhibitörü eksikliği:</b> Kompleman yolunun C4 / C2 tüketimi ile spontan aktivasyonu, yüksek moleküler ağırlıklı kininojenden bradikinin üretimi ile temas sisteminin spontan aktivasyonu. Kalıtsal anjiyoödem                                                                                          |
| <b>CFB</b>                                   | <b>(OD) Faktör B GOF:</b> Artmış spontan AH50 ile işlev kazanımı mutasyonu. Atipik hemolitik üremik sendrom. <b>(OR)Faktör B eksikliği:</b> Alternatif yolun yetersiz aktivasyonu. Kapsüllenmiş organizmalarla enfeksiyonlar.                                                                                 |
| <b>CFD</b>                                   | <b>Faktör D eksikliği:</b> AH50 hemolitik aktivitesi yok. Neisseryal enfeksiyonlar.                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>CFP</b>                                   | <b>(XL) Properdin eksikliği:</b> AH50 hemolitik aktivitesi yok. Neisseryal enfeksiyonlar.                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>CFI (OR)<br/>CFH (OR<br/>ve OD)</b>       | <b>Faktör I / H eksikliği:</b> Alternatif kompleman yolunun C3 tüketimi ile spontan aktivasyonu. Enfeksiyonlar, yaygın neisseryal enfeksiyonlar, atipik Hemolitik-üremik sendrom,                                                                                                                             |
| <b>CFHR1<br/>CFHR2<br/>CFHR3<br/>CFHR4/5</b> | <b>(OR ve OD) Faktör H ile ilişkili protein eksiklikleri:</b> Normal CH50, AH50. Faktör H'ye karşı otoantikörler. Otoantikör aracılı aHÜS'e yatkınlığa yol açan bir veya daha fazla CFHR geninin ilişkili delesyonları. Geç yaş başlangıçlı atipik hemolitik-üremik sendrom, yaygın neisseryal enfeksiyonlar. |
| <b>THBD</b>                                  | <b>(OD) Trombomodülin eksikliği:</b> Normal CH50, AH50. aHÜS.                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>CD46</b>                                  | <b>Membran Kofaktör Proteini (CD46) eksikliği:</b> Kompleman alternatif yolunun inhibitörü, C3b bağlanmasını azalmış. aHÜS, enfeksiyonlar, preeklampsi.                                                                                                                                                       |
| <b>CD59</b>                                  | <b>Membran Atak Kompleks İnhibitörü (CD59) eksikliği:</b> Eritrositler, kompleman aracılı parçalanmaya oldukça duyarlıdır. Hemolitik anemi, polinöropati.                                                                                                                                                     |

|             |                                                                                                                            |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>CD55</b> | <b>CD55 eksikliği (CHAPLE hastalığı):</b> Komplemanın endotelde hiperaktivasyonu. Protein kaybettiren enteropati, tromboz. |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### 2.2.3.9 Kemik iliği yetmezlikleri (KİY)

Kalıtsal kemik iliği yetmezliği hastalıkları, bir veya daha fazla hematopoietik seriyi etkileyen kantitatif veya kalitatif anormalliklere sahip heterojen bir hastalık grubudur. KİY sendromları, yapısal proteinleri veya DNA onarımı, telomeraz biyolojisi ve ribozomal biyosentez gibi temel hücresel yolları etkileyen germline mutasyonlardan kaynaklanır (89). Bu mutasyonlar, kemik iliğinde bir veya daha fazla hematopoietik progenitör serinin yokluğundan veya bir veya daha fazla ilik progenitör soyunun hücre ölümünün artmasından kaynaklanan tekli veya çoklu periferik sitopenilere yol açar. KİY sendromlarının çoğu çocuklukta ortaya çıkar, ancak bazıları semptomların ciddiyetine bağlı olarak yaşamın ilerleyen dönemlerinde tanı alır (90).

Fanconi anemisi (FA), diskeratozis konjenita (DC), Diamond – Blackfan anemisi (DBA) ve Shwachman – Diamond sendromunu (SDS) kapsayan KİY’de sitopeni dışında ayrıca miyelodisplastik sendrom, akut lösemi ve spesifik solid tümör riskleri de artmıştır (91). Bu sendromlar ve KİY’e neden olan diğer genetik bozuklukların bazılarında belirli immünolojik anormallikler de görülür (92,93). Kemik iliği yetmezliği ile ilişkili sınıflama tablosu Tablo 9 da gösterilmiştir (1).

**Tablo 9 Kemik iliği yetmezliği**

**\*Fankoni anemisi:** T / B hücreleri ve NK normal/düşük. SSS, iskelet, deri, kardiyak, GI, ve ürogenital anomaliler. Artan kromozomal kırıklar. İmmün yetmezlikli kemik iliği yetmezliği. İlişkili genler:

|                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |              |              |               |              |               |              |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| <i>FANCA</i>                  | <i>BRCA2</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | <i>FANCF</i> | <i>BRIP</i>  | <i>PALB2</i>  | <i>ERCC4</i> | <i>UBE2T</i>  | <i>RFWD3</i> |
| <i>FANCB-</i><br><i>(XLR)</i> | <i>FANCD2</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <i>XRCC9</i> | <i>FANCL</i> | <i>RAD51C</i> | <i>RAD5</i>  | <i>XRCC2</i>  |              |
| <i>FANCC</i>                  | <i>FANCE</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | <i>FANCI</i> | <i>FANCM</i> | <i>SLX4</i>   | <i>BRCA1</i> | <i>MAD2L2</i> |              |
| <i>SAMD9</i>                  | <b>(OD GOF) MIRAGE (miyelodisplazi, enfeksiyon, büyüme geriliği, adrenal hipoplazi, genital fenotipler, enteropati):</b> Hematopoietik kök hücre (HKH), miyeloid hücreler etkilenir. IUGR, gonadal anormallikler, adrenal yetmezlik, kromozom 7 aberasyonlu MDS, enfeksiyonlara yatkınlık, enteropati, dalak yokluğu. |              |              |               |              |               |              |
| <i>SAMD9L</i>                 | <b>(OD GOF) Ataksi pansitopeni sendromu:</b> B hücre sayısı düşük. HKH, miyeloid hücreler etkilenir. MDS, nörolojik problemler.                                                                                                                                                                                       |              |              |               |              |               |              |

|                                          |                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                   |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>**Diskeratozis Konjenita:</b>         |                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                   |
| (DKCX1, XL) <i>DKC1</i>                  | (DKCA6, OD) <i>ACD</i>                                                                                                                                                                                                                    | T ve B hücreler normal/düşük. HKH etkilenir. Kemik iliği yetmezliği, pulmoner ve hepatik fibroz, tırnak distrofisi, lökoplaki, retikülat cilt pigmentasyonu; mikrosefali, nöro-gelişimsel gecikme |
| (DKCA1, OD) <i>TERC</i>                  | (DKCB1) <i>NOLA3</i>                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                   |
| (DKCA2, OD) <i>TERT</i>                  | (DKCB2) <i>NOLA2</i>                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                   |
| (DKCA3, OD) <i>TINF2</i>                 | (DKCB3) <i>WRAP53</i>                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                   |
| (DKCA4, OD) <i>RTEL1</i>                 | (DKCB4) <i>TERT</i>                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                   |
| (DKCA5, OD) <i>TINF2</i>                 |                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                   |
| <b>**<i>RTEL1</i></b>                    | <b>DKCB5:</b> B hücreler normal/düşük. Tırnak distrofisi, lökoplaki, kemik iliği yetmezliği, şiddetli B hücre immün yetmezliği, intrauterin büyüme geriliği, büyüme geriliği, mikrosefali, serebellar hipoplazi ve özofagus disfonksiyonu |                                                                                                                                                                                                   |
| <b>**<i>PARN</i></b>                     | <b>DKCB7:</b> B hücreler normal/düşük. Gelişimsel gecikme, mikrosefali ve serebellar hipoplazi.                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                   |
| <b>**<i>ACD</i></b>                      | <b>DKCB7:</b> B hücreler normal/düşük. Kemik iliği yetmezliği, pulmoner ve hepatik fibroz, tırnak distrofisi, lökoplaki, retikülat cilt pigmentasyonu; mikrosefali, nörogelişimsel gecikme.                                               |                                                                                                                                                                                                   |
| <b><i>SRP72</i></b>                      | <b>BMFS1 (<i>SRP72</i> eksikliği):</b> Kemik iliği yetmezliği ve doğuştan nöral işitme kaybı.                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                   |
| <b><i>TP53</i></b>                       | <b>BMFS5:</b> Eritroid hipoplazisi, B hücresi eksikliği.                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                   |
| <b><i>STN1</i></b><br><b><i>CTC1</i></b> | Coats plus sendromu: IUGR, erken yaşlanma, pansitopeni, hiposelüler kemik iliği, vasküler ektaziye bağlı gastrointestinal kanama, intrakraniyal kalsifikasyon, anormal telomerler.                                                        |                                                                                                                                                                                                   |

### 2.2.3.10 Primer immün yetmezlik fenokopileri (PİYF)

PİYF, bilinen genetik kusurları olan İSDK'lara benzer klinik belirtilerle kendini gösterir. Ancak germline mutasyon tespit edilemez ya da somatik bir mutasyona sahiptirler. Bu nedenle primer immün yetmezliklerin fenokopileri olarak adlandırılmışlardır. Bu hastalıklar ayrıca somatik mutasyonlarla ilişkili olanlar ve çeşitli sitokinlere karşı oto-antikorların varlığı ile ilişkili olanlar olarak alt bölümlere ayrılmıştır. Somatik mutasyonlar genellikle zigot oluşumu sürecini takiben ortaya çıkar. TNFRSF6, KRAS, NRAS, NLRP3 ve STAT5B genlerinde fonksiyon kaybettiren ya da kazandıran somatik mutasyonlarla immünite kusuru fenotipleri ortaya çıkabilir (94). Sitokinin biyolojik fonksiyonunu bloke eden otoantikorlar, ilgili İSDK'ya benzer bir klinik fenotip ile kendini gösterebilir. Şimdiye kadar, interferon IFN- $\gamma$ , GM-CSF, bir grup TH-17 sitokinine ve IL-6'ya otoantikorların klinik fenotiple veya enfeksiyona yatkınlıkla yakından ilişkili olduğu bulunmuştur (95). Tablo 10'da

bu hastalık grubuna neden olan somatik mutasyonlar ve otoantikorlar Uluslararası İmmünoloji Dernekleri Birliği (IUIS) İSDK sınıflaması kapsamında özetlenmiştir (1).

Tablo 10 Doğuştan gelen immünite kusurlarının fenokopileri

| Somatik mutasyonlarla (SM) ilişkili olanlar |                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>TNFRSF6</i> (SM)                         | <b>Otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS-SFAS):</b> CD4–CD8– çift negatif (DN) αβ T hücreleri ve CD5 + B hücrelerinin sayısı artmıştır. Ig’ler normal / artmış. Splenomegali, lenfadenopati, otoimmün sitopeniler, Kusurlu lenfosit apoptozu / ALPS – FAS (= ALPS tip Im). |
| <i>KRAS</i> (SM)                            | <b>(GOF) RAS ile ilişkili otoimmün lökoproliferatif hastalık (RALD):</b> B hücreli lenfositoz. Ig normal/artmış. Splenomegali, lenfadenopati, otoimmün sitopeniler, granülositoz, monositoz / ALPS benzeri.                                                                   |
| <i>NRAS</i> (SM)                            | <b>(GOF) RAS ile ilişkili otoimmün lökoproliferatif hastalık (RALD):</b> Artmış CD4– CD8– çift negatif (DN) αβ T hücreleri. Lenfositoz. Normal veya artmış Ig. Splenomegali, lenfadenopati, otoantikorlar / ALPS benzeri.                                                     |
| <i>NLRP3</i> (SM)                           | <b>Kriyoprinopati, (Muckle-Wells / CINCA / NOMID benzeri sendrom):</b> Ürtiker benzeri döküntü, artropati, nörolojik işaretler.                                                                                                                                               |
| <i>STAT5B</i> (SM)                          | <b>(GOF) STAT5b'deki somatik mutasyonlara bağlı hipereozinofilik sendrom:</b> Eozinofili, atopik dermatit, ürtiker döküntü, ishal.                                                                                                                                            |
| Otoantikorlarla (OA) ilişkili olanlar:      |                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <i>IL17/IL22</i> OA                         | <b>Kronik mukokutanöz kandidiyaz (KMK):</b> Endokrinopati, kronik mukokutanöz kandidiyaz / KMK.                                                                                                                                                                               |
| <i>IFNγ</i> OA                              | <b>Yetişkinlikte başlayan mikobakterilere duyarlılıkla olan immün yetmezlik:</b> Naif T hücreler azalmış. Mikobakteriyel, mantar, <i>Salmonella</i> , VZV enfeksiyonları / MSMD veya CID.                                                                                     |
| <i>IL6</i> OA                               | <b>Tekrarlayan cilt enfeksiyonu:</b> Stafilokok enfeksiyonları / STAT3 eksikliği.                                                                                                                                                                                             |
| <i>GM-CSF</i> OA                            | <b>Pulmoner alveolar proteinoz:</b> Pulmoner alveolar proteinoz, kriptokokal menenjit, yaygın nokardiyoz / CSF2RA eksikliği.                                                                                                                                                  |
| <i>C1 INH</i> OA                            | <b>Edinilmiş anjiyoödem:</b> Anjiyoödem / C1 INH eksikliği (kalıtsal anjiyoödem).                                                                                                                                                                                             |
| <i>CFH</i> OA                               | <b>Atipik hemolitik üremik sendrom:</b> aHÜS = alternatif kompleman yolun spontan aktivasyonu.                                                                                                                                                                                |
| Çeşitli sitokinlere karşı OA                | <b>Timoma ile hipogammaglobulinemi (Good sendrom):</b> Artmış CD8 + T hücreleri. B hücresi yok. Azalmış Ig. İnvasif bakteriyel, viral veya fırsatçı enfeksiyonlar, otoimmünite, saf kırmızı hücre aplazisi, liken planus, sitopeni, kolit, kronik ishal.                      |

#### 2.2.4 Genetik Tanı Yöntemleri

Maliyetlerinin düşmesiyle daha ulaşılabilir olan **dizileme metodları**, hastalığın moleküler temellerinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Böylelikle genetik testler immünoloji klinikleri için kesin tanı konulabilmesinde vazgeçilmez araçlar haline gelmiştir. Moleküler çalışmalar, ulaşılan kesin tanıları sayesinde heterojen klinik özelliklerle uzun süre tanısal gecikmeler yaşayan hastaların tanı almasını hızlandırırken aynı zamanda aile taramalarıyla henüz tam olarak semptomatik hale gelmemiş fakat aynı genetik bozukluğa sahip olanları önceden tespit edilebilmesini sağlamaktadır. Hasta ve yakınlarına bilinçli aile planlaması kararları verme fırsatı vermesinin yanında moleküler yollardaki kusurların tespitiyle hastalığı kontrol etmede ve tedavide etkili olduğu kanıtlanmış özel hedefli tedavileri uygulama fırsatlarına yol açmıştır. İSDK moleküler tanısının koyulmasıyla birlikte daha iyi anlaşılan kritik moleküler mekanizmalarla immün sistem hücrelerinin gelişimi ve olgunlaşması süreçleri daha iyi bir şekilde incelenebilmiştir. Böylece moleküler genetik çalışmalar immünoloji biliminin ilerlemesine de önemli bir katkı sağlamaktadır (63).

**Sanger dizileme**, 1977'den beri yapıla gelen 1. Nesil dizileme metodudur ve gen dizilemenin altın standardı olarak kabul edilir. Sanger dizileme, tek gen dizileme, belirli bir gende tanımlanmış bir mutasyon için diğer aile üyelerinin değerlendirilmesi ve yeni nesil dizileme ile tanımlanan varyantların doğrulanması için günümüzde de kullanılmaktadır. Bununla birlikte, çoğunlukla, Sanger sekanslamanın yerini, çok daha düşük bir maliyetle aynı anda birçok geni test etme yeteneği nedeniyle büyük ölçüde paralel dizileme teknolojileri almıştır (63).

Hız ve maliyetleri nedeniyle günümüzde yaygın bir şekilde **yeni nesil dizileme yöntemleri (Gen Panelleri, Whole Exome Sequencing: WES ve Whole Genome Sequencing: WGS)** kullanılmaktadır. Klinik uygulamalarda nadiren gerçekleştirilen WGS, yüksek maliyeti ve büyük miktardaki veri analizinin daha karmaşık olması nedeniyle daha çok araştırma laboratuvarlarında kullanılmaktadır. İstisnalar dışında, gen düzenleyici bölgeler, poliadenilasyon sinyalleri veya derin intronik bölgeler yalnızca WGS tarafından dizilenmektedir. Gen paneli dizileme ve ekzom dizileme, genomik DNA'nın yalnızca dizilenecek olan genom bölümlerini zenginleştirmek için parçalanmasından sonra bir yakalama (capture) adımını gerektirir. Bu yakalama adımı, artefakt oluşturma potansiyeline sahiptir ve amaçlanan tüm alanları etkin bir şekilde

yakalayamayabilir. Bu nedenle, bu yaklaşımları kullanırken, belirli bir hastada hastalıkla ilişkili olabileceği düşünülen genlerin dizileme tarafından uygun şekilde tamamen kapsandığından emin olmak çok önemlidir. Bu durum WGS'de daha az sorun teşkil eder çünkü genomik DNA parçalandıktan sonra bir yakalama adımı olmaksızın doğrudan dizilir. Somatik bir mutasyon düşünülüyorsa, periferik kan hücresi popülasyonunun yalnızca %5'inde bulunabilen nadir olayları tespit etmek için şüphelenilen genin dizilemesi için derin kapsanmışlık gerekmektedir. Kapsama derinliği, bir varyantın gerçekten somatik bir mutasyon olduğu ve sadece sekanslama reaksiyonunun bir artefaktı olmadığına dair istatistiksel güvenilirliğe izin verecek kadar yeterli değilse, mutasyonlar gözden kaçabilir (63).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hasta Seçimi

Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na 2015-2020 yılları arasında, doğuştan immünite kusuru klinik tanısıyla ve enfeksiyonlara yatkınlık, atopi, otoimmünite ve otoinflamasyon klinik ve laboratuvar özellikleriyle başvurarak moleküler sitogenetik, moleküler dizi analizi ve MLPA yöntemiyle analizleri yapılan hastalar çalışma grubu olarak belirlendi. Uluslararası İmmünoloji Dernekleri Birliği (IUIS: International Union of Immunological Societies) tarafından oluşturulan İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları (İSDK) klasifikasyonu kapsamındaki Ailevi Akdeniz Ateşi ve Kistik Fibrozis hastaları çalışmamıza dâhil edilmedi. Klinik olarak doğuştan immünite kusuru tanısı olan 154'ü erkek 101'i kız, tamamı 18 yaşının altında olan toplam 255 hasta çalışmaya dâhil edildi. Retrospektif olarak planladığımız bu çalışma için KTÜ Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı.

#### 3.2. Moleküler Sitogenetik (FISH) Analizi

Çalışmaya dahil edilen 255 hastadan, immünite kusuru klinik özellikleriyle birlikte ilişkili anomalileri olan 9 hastaya DiGeorge Sendromuna yönelik 22q11 delesyonunu değerlendiren FISH çalışması yapılmıştı.

Periferik kan örneği kullanılarak 72 saatlik standart lenfosit kültürü yapıldı. Lenfosit kültürü için; RPMI-1640, Fitohemaglutinin, fetal bovine serum ve L-glutamin ortamında 37 °C de 72 saatlik lenfosit kültürü yapıldı. 48. Saatte Kolşisin eklendi. 72. saatte çıkarım işlemlerine geçildi. Çıkarım işlemlerin tüm aşamalarında 10 dk 1.000 rpm santrifüj işlemi standart olarak uygulandı. 37 °C de 20 dk 0,056 M KCl hipotonik solusyonunda (0,056 M KCl) inkübe edilerek santrifüj edildi ve supernatan atıldı.

Pellet üzerine, tespit amacıyla taze hazırlanmış 1/3 oranında Asetik asit/metanol (fiksatif) karışımı soğuk olarak tatbik edildi. Sonrasında süpernatant uzaklaştırıldı ve pelletin rengi berraklaşana kadar fiksatif eklenerek santrifüj edildi ve süpernatant kısım atıldı. Pellet rengi berraklaştığında fiksatif eklenerek +4 °C de saklandı. Elde edilen bu hücre pelletleri FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) için kullanıldı.

DiGeorge Sendromu FISH uygulaması için; hedef bölgesi (TUPLE1, 22q11.2, Red, ve kontrol bölgesi (N85A3, 22q13.3, Green) olan DiGeorge/VCFS TUPLE1 ve 22q13.3 Deletion Syndrome (Cytocell. Cambridge, UK) probu kullanıldı.

Hücre kültüründen elde edilen ve yayılan metafaz alanlarını içeren lamalar kurutulduktan sonra;

- ✓ Lam ve Problar, 10 dakika süreyle 75 ° C'de denatüre edildi.
- ✓ Belirlenen bölgeye denatüre edilmiş problar uygulandı.
- ✓ Denatüre slaytlar, 37 ° C'de 18 saat süreyle inkübe edildi.
- ✓ Üreticinin talimatlarına göre hibridizasyon sonrası yıkamalar yapıldı.
- ✓ Slaytlar, DAPI Antifde ES ( Cytocell, Cambridge, UK) ile zıt boyandı.
- ✓ Mikroskop (Olympus BX53, Tokyo, J), filtreler (Olympus U-CBM, Tokyo, J), cihaz kamerası (Olympus DP72, Tokyo, J) ve FISH görüntülenerek sinyaller değerlendirildi.

### **3.3 Moleküler Genetik Analiz**

Toplamda 246 hastaya dizi analizi, MLPA ve WES analizi yapılmıştı. 246 hastanın 40'ında klinik özelliklerini ortaya çıkarabilecek birbirinden farklı genetik etyolojiler olabileceği düşüncesiyle doğrudan WES analizi planlanmışken geriye kalan 206 hastada klinik özellikleriyle belirlenebilmiş tek genlere yönelik dizi analizi yapılmıştı. Hedeflenmiş tek genlere yönelik dizi analizi yapılan 206 hastanın 9'unda eş zamanlı olarak aynı gen (*FANCA*) için MLPA analizi de yapılmıştı.

Doğrudan WES planlanmış olan 40 hastayla birlikte tek genlere yönelik yapılan 206 analiz sonucunda tanı koyulamayan 177 hasta için de WES planlanmıştı. Böylece WES planlanan toplam 217 hastamız vardı.

WES uygulanması planlanan toplam 217 hastadan polikliniğimize tekrar başvurmayan, WES uygulaması için gerekli olan hastane/SGK kuralları ve prosedürlerini yerine getiremeyen, başka illere taşınmış olan veya exitus olan toplam 146 hastaya WES yapılamamışken, bu şartları sağlayan toplam 71 hastaya WES uygulanabilmişti.



### 3.3.1. DNA izolasyonu

High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche ticari kiti kullanılarak periferik kandan gDNA izolasyonu aşağıdaki protokole uyularak elde edildi.

1. 1,5 ml'lik eppendorf tüplere 200 µl hasta periferik kan numunesi, 200 µl Binding Buffer ve 40 µl proteinaz K eklendi. Sonrasında 70<sup>0</sup> C'de 10 dakika inkübe edildi.
2. İnkübasyon sonrasında İzopropanol (100 µl) eklenerek filtreli tüplere aktarılan karışım 1 dk boyunca 8000 g'de santrifüj edildi.
3. Santrifüjden sonrasınra tüplerin alt kısmı dikkatlice boşaltılarak her bir tüpe Inhibitor Removal Buffer (500 µl) eklenip 8000 g'de 1 dk. santrifüj edildi.
4. (Bu aşama peş peşe 2 kez uygulandı) Yine santrifüj sonrası tüplerin alt kısmı boşaltıldı. Akabinde 500 µl Wash Buffer eklenen tüpler 8000 g'de 1 dk. santrifüj edildi ve tüplerin alt kısmı boşaltıldı.
5. 13000 g'de 10 sn. santrifüj edildi ve tüplerin alt kısmı boşaltıldı.
6. Geriye kalan filtreler yeni tüplere aktararak Elution Buffer (200 µl) eklendi ve 8000 g'de 1 dk. santrifüj edilerek tüplerin alt kısmında DNA elde edildi. İzole edilen DNA örneklerinin miktar ve saflık tayini, NanoDrop ND-2000c spektrofotometrede ölçülerek yapıldı.

### 3.3.2 MLPA Tekniği

MLPA reaksiyonu için **MRC-Holland** marka **SALSA MLPA Probemixes P031/P032 FANCA kit** kullanılmıştır. **ABI 3500** cihazıyla **Gene Mapper** programında okutulduktan sonra çıkan sonuçlar **Coffalyser MLPA** analiz programıyla değerlendirildi.

Uygulanan MLPA protokolü aşağıdaki gibidir:

- 1.**Denatürasyon:** İki DNA ipliği, 98 ° C'lik bir sıcaklıkta ısıtılarak ayrıldı.
- 2.**Hibridizasyon:** MLPA problemleri, hedef dizileriyle karşılaştıkları ve bağlandıkları denatüre DNA örneğine eklenir. İki yarım prob, DNA hedef

dizisinin bitişik bölgelerine bağlanmasıyla hibridizasyon gerçekleşti.

**3.Ligasyon:** Hibridize problarla tamamlanan DNA hedef sekansı, ligaz adı verilen bir enzim tarafından bağlandı (birleştirildi). Bu ligasyon adımı, hibridizasyonun spesifik olup olmadığını kontrol etmenin bir yolunu sağlar; prob ve hedef dizi arasındaki herhangi bir uyumsuzluk, amplifikasyonun meydana gelmesini engeller.

**4.Amplifikasyon:** Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), problarla bağlanmış hedeflenen sekansları kopyalamak için kullanıldı. Bu, bir polimeraz, nükleotidler ve bir ileri ve geri primerin eklenmesini gerektirir. İleri primer, ölçülecek DNA kopya sayılarını değerlendirebilmek için bir floresan prob ile etiketlendi. Sadece bağlanmış problar amplifiye edildi.

**5.Fragman ayırma:** Amplifiye edilmiş fragmanlar, kapiler elektroforez kullanılarak uzunluklarına göre ayrıldı. Her parça, elektroferogram adı verilen ayrı bir tepe modeli olarak görselleşti. Parçaların tahmin edilen uzunlukları, her bir prob üzerindeki kesik dizinin uzunluğuna ve bitişik problar arasındaki araya giren dizinin uzunluğuna göre hesaplandı.

**6.Analiz:** DNA numunesinden elde edilen veriler, bir genin kopya sayısını ortaya çıkaran bir prob oranını hesaplamak için bir dizi referans numunesi ile karşılaştırıldı. Örneğin, normal genlerin çoğu, her kromozom çiftinden 1 kopya oranıyla sonuçlanan iki kopya sayısına sahiptir. 1'in altındaki oran delesyonu gösterirken birden büyük oran gen duplikasyonunu gösterir.

### 3.3.3 Yeni Nesil Dizileme (NGS)

#### 3.3.3.1 Tek gen dizi analizi

Uygun şekilde elde edilmiş gDNA kullanılarak İllumina Miseq cihazında QIAseq™ Targeted DNA Panel ticari kiti ile hedeflenmiş tek genler için NGS aşağıdaki protokole göre gerçekleştirilmiştir.

1. **Fragmentasyon:** DNA örneği, kontrollü bir multi-enzim reaksiyon ile fragmente edilir, end repair yapılır ve A-tail eklenir. Hazır DNA fragmentleri; kullanılacak dizi platformuna spesifik adaptorler (UMI ve sample index içeren) ile 5' uçlarından bağlanır.

2. **UMI assignment:** Hedef zenginleştirme ve kitaplık oluşturma asamalarından önce her bir DNA molekulu -UMI olarak bilinen- kendine özgü bir sekans yada index ile kaydedilir. Bu tanımlama 12 bazlık random sekans içeren adaptörün (UMI) fragmente DNA ile bağlanması ile gerçekleşir. İstatiksel olarak bu proses adaptor başına 412 farklı işaretlemeye imkân verir ve örnekteki her bir DNA molekulu eşsiz bir UMI sekansı alır. Ayrıca bağlanan bu adaptor ilk örnek indexini de içerir.

3. **Hedef zenginleştirme ve final kitaplığı oluşturma:** Hedef zenginleştirme, UMI içeren DNA molekullerinin yeteri kadar zengileştirildiği aşamadır. Zenginleştirme için; UMI bağlı DNA molekulleri; Adaptor complement 1 bölge spesifik primer ve 1 universal primer ile Targeted PCR ile çoğaltılır. Son olarak; kitaplığı çoğaltmak ve platform spesifik adaptor sekans ve ekstra örnek indice leri eklemek için Universal PCR gerçekleştirilir.

4. **Yeni Nesil Sekanslama:** Illumina MiSeq cihazında QIAseq™ Targeted DNA Panel marka kitle yapıldı.

1. Üreticinin talimatlarına göre kütüphane denatürasyonunu takiben, florometre ile DNA kütüphanesi konsantrasyonunu ölçüldü.
2. Üreticinin talimatlarına göre uygun bir otomatik elektroforez sistemi ve DNA kalite analiz kiti kullanarak DNA kitaplık kalitesini doğrulandı. Ortalama kitaplık boyutu, kullanılan hedef zenginleştirme kitine özel olacaktır.
3. DNA konsantrasyonunu ng /  $\mu$ L'den nM'ye dönüştürüldü.
4. Dizileme kitaplığını, üreticinin talimatlarına göre uygun şekilde 6–20 pM nihai konsantrasyona ve 600  $\mu$ L hacme dilüe edildi.
5. Üreticinin talimatlarına göre, pozitif kontrol sekanslama kitaplığı dilüe edildikten sonra denatüre edilerek çalışmaya dahil edildi.
6. Yüklenen DNA kitaplığı konsantrasyonu (pM), eklenen pozitif kontrol yüzdesi, reaktif kartuşu barkodu, dizileme okuma sayısı, kullanılan zenginleştirme kiti, okuma uzunluğu ( s) ve numune sayfası kaydedildi.
7. Dizileme sonunda dizileme verileri FASTQ dosya biçimi seçilerek

kaydedildi.

8. FASTQ dosyasından biyoinformatik süreçlerle anotasyonu tamamlanmış varyant çağırma dosyalarının (VCF: Variant Call Format) oluşturulması basamağından itibaren klinik anotasyonla birlikte olası varyantların belirlenmesi ve patojenitelerinin değerlendirilmesi süreçleri, WES NGS çalışma protokolü ve çalışma sonuçlarının analizi başlığı altında yer alan 14. Maddeden itibaren aynı şekilde gerçekleştirilmiştir (bkz. sayfa 69).

### **3.3.3.2 Tüm ekzom dizileme (WES, Whole Exome Sequencing) çalışması:**

#### **Tüm ekzom dizileme Potokolü**

##### **1. gDNA fragmentasyonu ve etiketlenmesi:**

- Nextera transpozom adaptör diziler ile eş zamanlı olarak gDNA' yı fragmanlara ayırır ve etiketler.
- 2 ml'lik PCR tüplerine sırasıyla,
  - TD (Tagment DNA) Buffer (25 µl),
  - Normalize gDNA (10 µl),
  - TDE2 (Tagment DNA Enzyme 2) (15 µl) eklenir.
- 1 dakika karıştırıldı ve santrifüj yapıldı.
- Tüpler PCR cihazına koyularak 58°C`de 10 dk. inkübe edildi.
- 15 µl ST (Stop Tagment Buffer) her tüpe eklenerek pipetaj yapılır.
- PCR cihazında 60°C de 5 dk inkübe edildi.

##### **2. Etiketlenmiş DNA fragmanlarının temizlenmesi**

- Tüplere 52 µl SPB (Sample Purification Beads) eklendi ve 10 kez pipetaj yapılarak karıştırıldı. 5 dk oda sıcaklığında inkübasyon için bırakıldı.
- Manyetik stande yerleştirilerek sıvı berraklaşmaya kadar 2-5 dk beklendi.
- Yeni 0,2 ml tüplere 98 µl süpernatant transfer edildi. Her birine 137 µl SPB eklenerek pipetajla 10 kez karıştırıldı. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi.
- Manyetik stand üzerinde 2-5 dk inkübe edildikten sonar süpernatant uzaklaştırıldı.

- 200µl etanol her tüpe eklendi ve 30 sn manyetik standın üstünde inkübe edildi ve süpernatant atıldı. 5 dk hava ile kurumaya bırakıldı.
- Tüplere 22,5 µl RSB (Resuspension Buffer) eklenerek 1 dk karıştırıldı. 2 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra santrifüj edildi.
- Manyetik standta sıvı berraklaşınca kadar beklendi.
- Yeni tüplere 20 µl süpernatant transfer edildi.

### **3. Etiketlenmiş DNA fragmanlarının amplifikasyonu**

- Örneklere özgü 5 µl indeks 1 (i7) adaptör tüplere eklendi. i7 adaptör tüplerinin kapakları turuncu kapaklarla değiştirildi.
- Sonrasında her tüpteki indeks kombinasyonlarının farklı olması için indeks 2 (i5) adaptöründen 5 µl tüplere eklendi. i5 adaptör tüplerinin kapakları yeni beyaz kapaklarla değiştirildi.
- 20'şer µl LAM (Library Amplification Mix) tüplere eklendikten sonra karıştırıldı ve santrifüj yapıldı.
- 72°C de 3 dk, 98°C de 30 sn. ve (98°C de 10 sn., 60°C de 30 sn., 72°C de 30 sn)x10 siklus olacak şekilde amplifiye edildi.

### **4. Amplifiye DNA Temizlenmesi**

- Tüpler santrifüj edildi ve tüplere 90µl SPB eklendikten sonra karıştırıldı.
- 5 dk oda sıcaklığında inkübasyondan sonra santrifüj yapıldı.
- Tüpler manyetik standta sıvı berraklaşınca kadar 2-5 dk beklendi ve süpernatant uzaklaştırıldı.
- 200µl etanol eklendi.
- 30 sn manyetik stand üstünde inkübe edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı. Tüpler 5 dk hava ile kurutuldu.
- 17'şer µl RSB eklendi ve karıştırıldı.
- Oda sıcaklığında 2 dk inkübe edildikten sonra santrifüj yapıldı.
- Sıvı berraklaşınca kadar manyetik standta bekletildi.
- 15µl süpernatant yeni tüplere transfer edildi.

## 5. Prob Hibridizasyonu

- 0,2 ml PCR tüplerine sırasıyla;
  - DNA kütüphanesi (30 µl),
  - BLR (Blocker) (10 µl),
  - CEX (Coding Exone Oligos) (10 µl)
- Eklenerek karıştırıldı ve santrifüj edildi.
- 125 µl SPB eklendikten sonra karıştırıldı.
- Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildikten sonra santrifüj edildi.
- Sıvı berraklaşmaya kadar manyetik standta bekletildi ve süpernatant uzaklaştırıldı.
- 200µl etanol ekleyip manyetik standda 30sn inkübe edilerek süpernatant atıldı.
- 10 dakika manyetik standta kurutuldu.
- 7,7 µl EHB1 (Enrichment Hybridization Buffer 1) eklenerek karıştırıldı. 2 dakika oda sıcaklığında inkübe ve santrifüj yapıldı.
- Sıvı berraklaşmaya kadar manyetik standta bekletildikten sonra 7,5 µl süpernatant yeni tüpe transfer edildi.
- 2,5 µl EHB2 (Enrichment Hybridization Buffer 2) süpernatantın üstüne eklenerek karıştırıldıktan sonra santrifüj edildi.
- 95°C de 10 dk, 58°C de 30 dk. inkübe edildi.

## 6. Hibridize Probların Yakalanması

- PCR cihazından alındıktan sonra tüpler;
- 280xg’de 1 dakika santrifüj edilerek 0,5 ml tüpe 10µl örnek transfer edildi.
- 250µl SMB (Streptavidin Magnetic Beads) eklendikten sonra 5 dakika karıştırıldı.
- Oda sıcaklığında 25 dakika inkübe edilerek santrifüj edildi.
- Sıvı berraklaşmaya kadar manyetik standta bekletilip süpernatant uzaklaştırıldı.

## 7. İkinci Hibridizasyon

- 0,2ml PCR tüplerine sırasıyla
  - DNA kütüphanesi (30µl),

- BLR (10µl),
  - CEX (10µl)
- eklenip 1200 rpm’de 1 dk. karıştırıldı ve santrifüj yapıldı.
- 125µl SPB eklendikten sonra 1 dakika 1800 rpm’de karıştırıldı.
  - Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilerek santrifüj edildi.
  - Sıvı berraklaşınca kadar manyetik standta bekletilip süpernatant uzaklaştırıldı.
  - 200µl etanol eklendi.
  - Manyetik stand üzerinde 30sn inkübe edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı.
  - 10 dakika manyetik standta kurutma sonrasında 7,7 µl EHB1 eklendi.
  - 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edilerek santrifüj yapıldı.
  - Sıvı berraklaşınca kadar manyetik standta bekletildikten sonra 7,5 µl süpernatant yeni tüpe transfer edildi.
  - Süpernatantın üstüne 2,5 µl EHB2 eklenerek karışım sağlandıktan sonra santrifüj edildi. 95°C de 10 dk, 58°C de 30 dk. inkübe edildi.

### **8. Hibridize Probların Yakalanması**

- Thermal cycler cihazından alındıktan sonar tüpler santrifüj edilerek 0,5 ml’lik tüpe 10µl örnek transfer edildi.
- 250µl SMB eklendikten sonra karıştırıldı.
- Oda sıcaklığında 25 dakika inkübe edildikten sonar santrifüj edildi.
- Sıvı berraklaşınca kadar manyetik standta bekletildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı.
- 200µl EEW (Enhanced Enrichment Wash solüsyonu) eklendi. 4 dakika karıştırıldıktan sonra pellet çözünmediyse pipetaj yardımıyla çözüldü.
- 50°C’ye ayarlanmış ısı bloğunda 30 dakika inkübe edildi.
- Sıvı berraklaşınca kadar manyetik standta bekletilip süpernatant uzaklaştırıldı.

### **9. Yakalanan Kütüphanenin Temizlenmesi**

- 45µl SPB eklendikten sonra 1 dk karıştırıldı.
- 5 dk oda sıcaklığında inkübasyon sonrası santrifüj yapıldı.

- Sıvı berraklaşınca kadar manyetik standta 2-5 dk bekletilip süpernatant uzaklaştırıldı.
- 200µl etanol eklenerek manyetik stand üzerinde 30sn inkübe edilip süpernatant uzaklaştırıldı.
- 5 dakika manyetik standta kurutulup 27,5µl RSB eklendi ve 1 dk karıştırıldı.
- 2 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra santrifüj yapıldı.
- Sıvı berraklaşınca kadar manyetik standta bekletildi.

#### **10. Zenginleştirilmiş Kütüphanenin Amplifikasyonu**

- Berraklaşma sonrası alınan sıvı üzerine 5µl PPC eklendi.
- 20µl EAM eklenip 1 dk karıştırıldıktan sonra santrifüj yapıldı.
- PCR cihazında
  - 72°C de 3 dk,
  - 98°C de 30 sn.
  - 10 x (98°C de 10 sn., 60°C de 30 sn., 72°C de 30 sn) çalıştırıldı.

#### **11. Zenginleştirilmiş Amplifiye Kütüphanenin Temizlenmesi**

PCR cihazından çıkarılan tüpe;

- 50µl SPB eklenerek 1 dk karıştırıldı.
- 5 dk oda sıcaklığında inkübasyon sonrasında santrifüj yapıldı.
- Sıvı berraklaşınca kadar manyetik standta 2-5 dk bekletilip süpernatant uzaklaştırıldı.
- 200µ etanol eklenerek manyetik stand üzerinde 30sn inkübe edilip süpernatant uzaklaştırıldı.
- 5 dakika manyetik standta kurutulduktan sonra 32µl RSB eklendi ve 1 dk karıştırıldı.
- 2 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra santrifüj yapıldı.
- Sıvı berraklaşınca kadar manyetik standta 2-5 dk bekletildikten sonra 30µl süpernatant yeni tüpe transfer edildi.



## 12. Hazırlanan Kütüphanenin Denatürasyonu

Qubit metodu kullanılarak, hazırlanan kütüphanenin konsantrasyonu ölçüldü. Stok kütüphane konsantrasyonu 5ng/μl olacak şekilde dilüsyonu yapıldıktan sonra tekrar Qubit yapılarak ölçülen konsantrasyon “4.329” ile çarpıldı ve kütüphanenin nM cinsinden değeri bulundu. 4nM konsantrasyonda 50μl total hacimde kütüphane alabilmek için “200/nM kütüphane” işlemi yapılarak, toplam hacim 50μl olacak şekilde nükleaz içermeyen su eklendi.

0,2’lik tüpe;

- 4nM kütüphane (10μl) ve
- 0.2N NaOH (10μl)

eklenerek kısa süre vortekslendi ve sonuçta 2nM kütüphane elde edildi.

Santrifüj yapıldıktan sonra tüp 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.

2ml tüp içine

- HT1 (990μl) ve
- 2nM kütüphane (10μl)

eklendi ve kısa süre vortekslendikten sonra santrifüj yapıldı. İçinden alınan 117μl örnek farklı bir tüpte 1183μl HT1 ile kısa süre vortekslendi. Sonra 5μl dilüsyonu yapılmış ve denatüre edilmiş Phix ilave edilip kısa süre vortekslendikten sonra tüpün tamamı, Reagent Cartidge’ın 10 numaralı bölümüne aktarıldı.

## 13. Denatüre Kütüphanenin Cihaza Yüklenmesi

NextSeq 500 cihazının yazılımında “Sequence” seçilerek çalışmanın başlaması için kurulum aşamalarına geçildi. Sisteme yükleme yapıldıktan sonra işlem bitiminde FASTQ formatında dosya elde edildi.

## 14. Ham Verilerin Değerlendirilmesi

Yeni nesil dizileme yöntemleri ile gerçekleştirilen tek gen dizi analizi ve tüm ekzon dizileme analizleri bu aşamadan sonra aynı şekilde analiz edilmiştir.

FASTQ (NGS dizileme cihazından dizileme sonucunda elde edilerek biyoinformatik yazılımlarla incelenebilir dosya türlerine dönüştürülebilen ham

veri dosya türü) dosyalarının okuma kaliteleri QC (Quality Control) araçları ile sağlandığı için FASTQC aracı kullanıldı.

- Trimomatic programı: Düşük kaliteli okumalar ve adaptör dizileri Trimomatic programıyla filtrelendi.
- Samtools: Referans genoma BWA (Burrows-Wheeler Aligner) ile hizalanmış kısa okumaların PCR fazlalıkları Samtools kullanılarak arındırıldı.
- GATK (GenomeAnalysisToolkit) kullanımı: GATK ile çıktı üzerinde tekrar hizalama (realignment) yapıldı.
- GATK Unified Genotyper kullanımı: Varyasyon taramasına hazırlanmış bu veri üzerinde tek baz değişiklikleri (SNV: single nucleotide variant) ve küçük boyuttaki insersiyon ve delesyonlar tespit edilebildi.
- GATK FilterVariants ve VQSR araçları kullanımı: Veri içindeki yaklaşık %30 kadar yalancı okuma ve hizalama hatalarından kaynaklanan varyasyonlar temizlendi.
- VCF (Variant Call Format)) kullanımı: GATK yazılımı varyasyonları VCF formatında saklamaktadır. SnpEff yazılımı aracılığıyla, varyasyonların olası fonksiyonel etkileri, protein kodu üzerinde oluşturdukları değişimler (missense, frame-shift vb.) ve toplumsal veritabanlarındaki alel frekans bilgileri VCF verisine eklendi.

### **15. Varyant Anotasyonu (Anlamlandırılması)**

Anotasyon genomik varyasyonların anlamlandırılmasında en önemli basamaktır. Bu basamak şu aşamaları içermektedir.

- ✓ Etkilenmiş gen ve transkriptlerin listesinin oluşturulması,
- ✓ Değişimin protein dizisinde oluşturduğu değişikliklerin elde edilmesi,
- ✓ Değişim bölgelerinin belirlenmesi (kodlayan dizi, intron bölgesi, non coding RNA , regule edici bölge, splice varyant bölgesi gibi),
- ✓ Varyantların belirlenmesi: OMIM, Clinvar gibi varyant veri bankalarında bulunan varyantların belirlenmesi ve raporlanması.
- ✓ VCF dosyası Annovar, SnpEFF, VEP anotasyon araçları, veritabanları ve in house oluşturulmuş veritabanları kullanılarak varyantlar anlamlandırılarak gerekli filtrelerden geçirilmesi.

## 16.Varyant Analizi

Çalışma sonucunda ulaşılan veriler için aşağıdaki veri tabanları kullanılarak analiz edildi.

- BaseSpace Variant Interpreter (Illumina),
- QIAGEN Bioinformatics ve Varsome (The Human Genomics Community)

Analiz kapsamında,

- ✓ Kodlama bölgeleri (SNV / küçük INDEL'ler (İnsersiyon/Delesyon)),
- ✓ Kodlama bölgesini çevreleyen intronik bölgeler
- ✓ Dizilemede kullanılan kitin primerlerini kapsadığı non-coding alanlardaki

Tespit edilen varyantlardan,

- ✓ NCBI dbSNP (National Center for Biotechnology Information, Single Nucleotide Polymorphism Database) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>),
- ✓ ExAC (Exome Aggregation Consortium) (<http://exac.broadinstitute.org/>)
- ✓ The Genome Aggregation Database (gnomAD)

veritabanlarına göre % 1 'den az popülasyon sıklığına sahip olan varyantlar analiz edilmiştir. Hedef genler ve ekzonlar filtrelendikten sonra ilgili ve anlamlı varyantlar belirlendi. Varyant kalite değeri ve genotip kalite değerleri çalışmanın derinliği ve literatürde geçerli olan değerler göz önüne alınarak bir alt sınır seçildi.

- ✓ Coverage oranı genellikle 10X anlamlı değer olarak alındı.
- ✓ Genotip kalite değerleri olarak ise %99 en yüksek değerdir ve bu değer düştükçe genotip tayin belirleme tutarlılığı azalmaktadır.
- ✓ Baz okuma kalitesi ise Q30 değerleri baz alındı.

Analizde öncelikle değerlendirilmesi gereken bölgeler yukardaki basamaklara göre filtrelenerek derecelendirildikten sonra:

- Öncelikle Online Mendelian Inheritance in Man® (OMIM)'de kayıtlı fenotip özellikleri bulunan varyantlar seçildi.

- Bu varyantlar içinde hastanın klinik özelliklerine, laboratuvar parametrelerine ve varsa dismorfik özelliklerine uygun olan varyantlar tespit edildi.
- İlişkili genlerin kalıtım paterni göz önüne alınarak tespit edilen varyantlardan allel zigositesi hastalık yapıcı vasıf taşıyan varyantlar seçildi.
- Seçilen varyantlar karşıladığı ACMG (ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics) kriterlerine göre
  - ✓ Patojenik
  - ✓ Olasılıkla Patojenik
  - ✓ Önemi Bilinmeyen
  - ✓ Olasılıkla Benign
  - ✓ Benign

Olarak sınıflandırıldı. Karşıladığı ACMG Kriterlerine (Tablo 11) göre varyantlar Tablo 12'ye gruplandırılmıştır (20).

- Patojenitesine göre sınıflandırılan varyantlar Clinvar ve HGMD veritabanlarında araştırıldı. Bu veritabanlarında patojenik olarak kaydedilenler hastalık açısından anlamlı kabul edildi.
- Yukardaki adımlarda hastalığı açıklayabilecek herhangi bir varyanta ulaşılamaması durumunda öncelikle varyant filtrelemede kullanılan veritabanı frekans oranı %1'e yükseltildi.
- Veritabanı frekans oranındaki değişikliğe rağmen hastalıkla ilişkili herhangi bir varyant bulunamayan durumlarda dizilemede kullanılan kitin kapsadığı primerler ölçüsünde kodlamayan (non-coding) bölgelerde analize dahil edildi.
- Analizler sonucunda hastalık yapıcı olarak değerlendirilen ve hasta kliniği ile uygunluk gösteren varyantlar hastanın BAM (Binary Alignment Map) dosyası kullanılarak Integrative Genomics Viewer v2.3 (IGV, Broad Institute) programı ile görsel olarak doğrudan değerlendirildi.
- IGV'de referans genom olarak "Human hg19" çalışıldı. Analizler sonucunda bulunan ve özellikle hastanın patolojik klinik özellikleriyle örtüşen varyantlar listelendi.

## Tespit Edilen Varyantların Patojenite Değerlendirmesi

Analizler sonucunda bulunan varyantların patojenite sınıflandırması Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Kolejinin (ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics) oluşturmuş olduğu varyantlarının yorumlanması için standartlar ve yönergeler doğrultusunda yapılmıştır. Tablo 11’de varyant patojenite sınıflaması için ACMG kriterlerini özetlemektedir (20).

Tablo 11. Patojenik ve Benign Varyantların Sınıflandırılmasında ACMG Kriterleri (20)

| Patojenite Kanıt Düzeyi                          | Kategori                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                  | Patojenik Varyantlar İçin                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Çok Güçlü Patojenik<br>(Pathogenic, Very Strong) | <p><b>PVS1:</b> Protein işlevinin azalmasına veya ortadan kalkmasına neden olan mutasyonlarının (Loss-of-function: LOF) hastalık mekanizması olduğu bilinen bir gende null varyant (anlamsız, çerçeve kayması, kanonik <math>\pm</math> 1 veya 2 splicing bölgesi, başlangıç kodonu, tek veya çoklu ekzon delesyonu)</p> <p>Uyarılar:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• LOF'un bilinen bir hastalık mekanizması olmadığı genlere dikkat edilmelidir (örneğin, GFAP, MYH7)</li> <li>• Genin 3' ucundaki LOF varyantlarını yorumlarken dikkatli olunmalıdır</li> <li>• Ekzon atlmasına yol açacağı tahmin edilen ancak proteinin geri kalanını olduğu gibi bırakacağı tahmin edilen splicing varyantlarında dikkatli olunmalıdır</li> <li>• Birden fazla transkript varlığında dikkatli olunmalıdır</li> </ul> |
| Güçlü Patojenik<br>(Pathogenic, Strong)          | <p><b>PS1:</b> Nükleotid değişikliğinden bağımsız olarak önceden belirlenmiş bir patojenik varyantla aynı amino asit değişikliği</p> <p>Örnek: Aynı kodondaki G&gt; C veya G&gt; T'nin neden olduğu Val → Leu</p> <p>Uyarı: Amino asit / protein seviyesinden ziyade splicingi etkileyen değişikliklere dikkat edilmelidir</p> <p><b>PS2:</b> De novo (anne ve babanın biyolojik anne baba olduğu doğrulanmışsa) varyantın ortaya çıkardığı hastalığı olan ve aile öyküsü olmayan bir hastada</p> <p>Not: Sadece babalık teyidi yeterli olmayabilir. Yumurta bağıışı, taşıyıcı annelik, embriyodaki hatalar, nakil vb. göz önünde bulundurulmalıdır.</p> <p><b>PS3:</b> Gen veya gen ürünü üzerinde zararlı bir etkiyi destekleyen in vitro veya in vivo fonksiyonel çalışmaların var olması</p>                        |

|                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                    | <p>Not: Doğrulanmış ve klinik tanı laboratuvarı ortamında tekrarlanabilir ve güçlü olduğu gösterilen fonksiyonel çalışmalar en iyi oluşturulmuş çalışmalar olarak kabul edilir.</p> <p><b>PS4:</b> Etkilenen bireylerde varyantın yaygınlığı, kontrollerdeki yaygınlığa kıyasla önemli ölçüde artmıştır.</p> <p>Not 1: Vaka kontrol çalışmalarından elde edilen göreceli risk veya OR,<math>&gt; 5.0</math>'dır ve göreceli risk veya odd ratio tahmini etrafındaki güven aralığı 1.0'ı içermez.</p> <p>Not 2: Vaka-kontrol çalışmalarının istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı çok nadir varyantlarda, varyantın aynı fenotipe sahip birden fazla ilgisiz hastada önceden gözlemlenmesi ve kontrollerde yokluğu orta düzeyde kanıt olarak kullanılabilir.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Orta Patojenik<br>(Pathogenic, Moderate)           | <p><b>PM1:</b> Varyantın mutasyonel bir hot spot ve / veya kritik ve iyi dengelenmiş fonksiyonel alanda (örneğin, bir enzimin aktif bölgesi) bulunması</p> <p><b>PM2:</b> Varyant, Ekzom Sekanslama Projesi, 1000 Genom Projesi veya Ekzom Toplama Konsorsiyumundaki kontrollerde yoksa (veya resesif ise son derece düşük frekansta)</p> <p>Uyarı: İnsersiyon/delesyon varyantlarının popülasyon verileri NGS ile yetersiz çağrılabilmiş olabilir.</p> <p><b>PM3:</b> Resesif bozukluklar için, trans olarak patojenik bir varyantla tespit edildi</p> <p>Not: Bu, aşamayı belirlemek için ebeveynlerin (veya çocukların) test edilmesini gerektirir.</p> <p><b>PM4:</b> Yinelenmeyen bir bölgedeki veya "stop-loss varyantlarında" inframe delesyon / insersiyonların bir sonucu olarak protein uzunluğu değişiklikleri</p> <p><b>PM5:</b> Daha öncesinde bir missense varyasyonun patojenik olduğu belirlendiği bir amino asit kalıntısında novel missense varyasyon</p> <p>Örnek: Arg156His patojeniktir; yeni analizdeyse Arg156Cys değişikliğini gözlemlmek</p> <p>Uyarı: Amino asit / protein seviyesinden ziyade splicingi etkileyen değişikliklere dikkat edilmelidir.</p> <p><b>PM6:</b> De novo varsayılan varyantlar, ancak babalık ve annelik teyidi olmaksızın</p> |
| Destekleyici Nitelikte<br>(Pathogenic, Supporting) | <p><b>PP1:</b> Hastalığa neden olduğu kesin olarak bilinen bir gende birden fazla etkilenen aile üyesinde hastalıkla birlikte varyasyon kümelenmesi</p> <p>Not: Segregasyon verilerinin artmasıyla daha güçlü kanıt olarak kullanılabilir</p> <p><b>PP2:</b> Benign missense varyasyon oranının düşük olduğu ve missense varyantların yaygın bir hastalık mekanizması olduğu bir gendeki missense varyant</p> <p><b>PP3:</b> Birden fazla in siliko kompütasyonel araçla (korunmuşluk, evrimsel, splicing etkisi vb.) gen veya gen ürünü üzerinde zararlı bir etkisinin desteklendiği varyasyonlar</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

|                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                   | <p>Uyarı: Birçok in silico algoritması tahminleri için aynı veya çok benzer girdiyi kullandığından, her algoritma bağımsız bir kriter olarak sayılmamalıdır. PP3, bir varyantın herhangi bir değerlendirmesinde yalnızca bir kez kullanılabilir.</p> <p><b>PP4:</b> Hastanın fenotipi veya aile öyküsü, tek bir genetik etiyolojiye sahip bir hastalık için oldukça spesifik</p> <p><b>PP5:</b> Saygın kaynak yakın zamanda varyantın patojenik olduğunu bildiriyor, ancak bağımsız bir değerlendirme yapmak için laboratuvarın kanıtı mevcut değil</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|                                   | Benign Varyantlar İçin                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Tek Başına Benign Kriteri         | <b>BA1:</b> Ekzom Dizileme Projesi, 1000 Genom Projesi veya Ekzom Toplama Konsorsiyumunda alel frekansı > %5'tir                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Güçlü Benign (Benign, Strong)     | <p><b>BS1:</b> Alel frekansı hastalık için beklenenden daha yüksek</p> <p><b>BS2:</b> Erken yaşta tam penetrasyon beklenen resesif (homozigot), dominant (heterozigot) veya X'e bağlı (hemizigot) bir bozukluk sağlıklı bir yetişkin bireyde gözlemleniyse</p> <p><b>BS3:</b> İyi yapılandırılmış in vitro veya in vivo fonksiyonel çalışmalar, varyasyonun protein fonksiyonu veya splicingi üzerinde hiçbir zarar verici etki göstermezse</p> <p><b>BS4:</b> Bir ailenin hastalıktan etkilenen bireyler arasında beklenmedik segregasyon dağılımı</p> <p>Uyarı: Yaygın fenotipler (yani kanser, epilepsi) için fenokopilerin varlığı, etkilenen bireyler arasında segregasyon eksikliğini taklit edebilir. Ayrıca ailelerde, otozomal dominant bir bozukluğa katkıda bulunan birden fazla patojenik varyant bulunabilir, bu da görünürde bir segregasyon eksikliğini doğurabilir.</p>                                                                     |
| Destekleyici (Benign, Supporting) | <p><b>BP1:</b> Öncelikle truncating varyantların hastalığa neden olduğu bilinen bir gendeki missense varyant</p> <p><b>BP2:</b> Tamamen penetran dominant gen / bozukluk için patojenik bir varyantla trans olarak gözlenmesi veya herhangi bir kalıtım modelinde patojenik bir varyantla cis'te gözlemlenmesi</p> <p><b>BP3:</b> Bilinen bir işlevi olmayan tekrar eden bir bölgede inframe delesyon / insersiyonlar</p> <p><b>BP4:</b> Birden fazla in silico kompütasyonel araçla (korunmuşluk, evrimsel, splicing etkisi vb.) gen veya gen ürünü üzerinde zararlı bir etkisinin olmadığına desteklenmiş varyasyonlar</p> <p>Uyarı: Birçok in silico algoritması tahminleri için aynı veya çok benzer girdiyi kullandığından, her algoritma bağımsız bir kriter olarak sayılamaz. BP4, bir varyantın herhangi bir değerlendirmesinde yalnızca bir kez kullanılabilir.</p> <p><b>BP5:</b> Hastalık için alternatif bir moleküler temele sahip varyant</p> |

**BP6:** Saygın kaynak yakın zamanda varyantı iyi huylu olarak bildiriyor, ancak kanıtlar laboratuvar tarafından bağımsız bir değerlendirme yapmak için mevcut değil

**BP7:** Splicing tahmin algoritmalarının splice konsensüs sekansına veya yeni bir splice sitesinin oluşturulmasına hiçbir etkisinin tahmin edilmediği ve nükleotidin yüksek oranda korunmadığı eşanlamlı (sessiz: silent) bir varyant

Tablo 12. Karşılanan ACMG Kriterlerine Göre Varyant Sınıflaması (20)

| Varyant Sınıfı               | Karşılanan ACMG Kriterleri                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Patojenik</b>             | (i) 1 Çok güçlü (PVS1) ve<br>(a) $\geq 1$ Güçlü (PS1–PS4) VEYA<br>(b) $\geq 2$ Orta (PM1–PM6) VEYA<br>(c) 1 Orta (PM1–PM6) ve 1 destekleyici (PP1–PP5) VEYA<br>(d) $\geq 2$ Destekleyici (PP1–PP5)<br>(ii) $\geq 2$ Güçlü (PS1–PS4) VEYA<br>(iii) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE<br>(a) $\geq 3$ Orta (PM1–PM6) VEYA<br>(b) 2 Orta (PM1–PM6) VE $\geq 2$ Destekleyici (PP1–PP5) VEYA<br>(c) 1 Orta (PM1–PM6) AND $\geq 4$ destekleyici (PP1–PP5) |
| <b>Muhtemelen Patojenik</b>  | (i) 1 Çok güçlü (PVS1) VE 1 orta (PM1–PM6) VEYA<br>(ii) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE 1–2 orta (PM1–PM6) VEYA<br>(iii) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE $\geq 2$ destekleyici (PP1–PP5) VEYA<br>(iv) $\geq 3$ Orta (PM1–PM6) VEYA<br>(v) 2 Orta (PM1–PM6) VE $\geq 2$ destekleyici (PP1–PP5) VEYA<br>(vi) 1 Orta (PM1–PM6) VE $\geq 4$ destekleyici (PP1–PP5)                                                                                               |
| <b>Klinik Önemi Belirsiz</b> | (i) Diğer kriterler karşılanmadıysa VEYA<br>(ii) Benign ve patojenik kriterleri çelişiyorsa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Muhtemelen Benign</b>     | (i) 1 Güçlü (BS1–BS4) ve 1 destekleyici (BP1–BP7) VEYA<br>(ii) $\geq 2$ destekleyici (BP1–BP7)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Benign</b>                | (i) 1 Tek başına benign kriteri (BA1) VEYA<br>(ii) $\geq 2$ Güçlü (BS1–BS4)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |



### 3.3.4. Sanger Dizileme ve Analizi

Hastaların klinik özellikleriyle örtüşen, yeni nesil DNA dizileme analiz basamaklarını geçerek anlamlı olarak değerlendirilen varyantlar için Thermofisher ABI 3500 Scientific cihazı kullanılarak Sanger dizileme uygulandı. Ulaşılabilen hasta ebeveynleri ve diğer aile üyelerinden alınan örneklerde Sanger dizileme yapılarak segregasyon analizleri yapıldı.

NGS sonucu anlamlı varyasyon bulunan 54 hastaya, ebeveynlerine ve kardeşlerinde sanger dizileme yapılarak varyantın doğrulaması ve segregasyon analizi yapıldı.

#### 1. Sanger Dizileme Protokolü

NGS ile tespit edilen varyantların öncesi ve sonrasını kapsayacak şekilde primerler tasarlandıktan sonra PCR yapıldı. PCR sonrası oluşan ampliconlar Sanger dizileme cihazıyla dizilerek oluşan ham data FinchTv yazılımıyla görsellere dönüştürülerek varyantlar teyit edildi. Bu süreçler aşağıdaki protokole göre gerçekleştirilmiştir.

- 1- Primer tasarımı: UCSC (University of California, Santa Cruz) veritabanı baz alınarak hedef DNA bölgesini amplifiye edebilecek uygun primerler dizayn edildi.
- 2- PCR için;
  - Hasta DNA'sı
  - Taq DNA Polimeraz
  - dNTPler
  - Primer
  - Su

0.2 ml 'lik PCR tüpünde karışım sağlandı. Aşağıdaki PCR döngüsüyle çoğaltıldı.

✓ 1 döngü

5 dakika 94°C'de Denatürasyon

- ✓ 35 döngü
  - 30 saniye 94°C’de Denatürasyon
  - 30 saniye 55°C’de Bağlanma
  - 45 saniye 72°C’de Uzama
- ✓ 1 döngü
  - 7 dakika 72°C’de Son uzama
- ✓ Tamamlanma: 4°C’de bekleme.

Bu aşamada elde edilen amplikonlar (PCR ürünü) sanger dizileme için kullanıldı. Dizileme için ABI BigDye Terminatör Kit aşağıdaki protokole göre kullanıldı:

1. PCR tüplerine buffer ve 8 µl Big Dye enziminden oluşan karışım dağıtıldı.
2. Tüplere 7,5 µl deiyonize su eklendi.
3. 10 µM forward/reverse primerler eklendi.
4. Toplamda 20 µl hacim oluşacak şekilde 4 µl pürifiye PCR ürünü eklendi.

Elde edilen PCR için aşağıdaki reaksiyon başlatıldı.

- ✓ 1 döngü
  - 1 dakika 96°C’de Denatürasyon
- ✓ 25 döngü
  - 10 saniye 96°C’de Denatürasyon
  - 5 saniye 50°C’de Bağlanma
  - 4 dakika 60°C’de Uzama
- ✓ Tamamlanma: 4°C’de bekleme.

PCR sonrası florasan işaretli ddNTP’ler ve diğer PCR artıklarının uzaklaştırılması için pürifikasyon ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent kullanılarak gerçekleştirildi.

Arginin (A), sitozin (C), timin (T), guanin (G) nükleotitlerini içeren bir deoksinükleotid trifosfat (dNTP) karışımı, her bir nükleotit için floresan işaretli zincir sonlandırıcı dideoksinükleotid trifosfatlar (ddNTP’ler) ve oligonükleotit primerlerinin bulunduğu ortamda yeni çift sarmallı DNA oluşturularak Sanger dizileme yapıldı. Genomik DNA’nın denatürasyonu ile oluşan tek iplikçikli DNA’da hedef bölgeye

spesifik tasarlanan oligonükleotit primerlerinin tutunması sonrasında ortamda bulunan Taq DNA polimeraz enzimi ile deoksinükleotid trifosfatlar eklenerek komplementer zincirin uzaması sağlandı.

Bu özel kamerasıyla Sanger cihazı dizileme süresince algıladığı floresan ışımalarından bir kromotogram dosyası oluşturur.

## **2. Sanger Dizileme Analizi**

Sanger dizileme sonucu oluşturulan. “ab1” uzantılı kromotogram dosyası varyantların dizileme uzaması sırasında yaydığı ışımadan elde edilen kompleks dizileme datasını görsel olarak incelenmesini sağlayan FinchTv ve CLC Genomics WorkBench3 yazılımlarıyla açıldı. Kromotogram dosyasındaki dizileme datasını otomatik olarak (RefSeq) referans diziye hizalan FinchTv ve CLC Genomics WorkBench3 yazılımlarıyla görsel olarak tek nükleotit değişiklikleri heterozigotlukta çift pik vermesiyle, homozigotlukta tepe sapması olarak görülmesiyle teyit edilirken frameshift varyantlar takip eden çift tepelerin görülmesi veya frameshift noktası sonrasındaki dizi sapmasıyla teyit edildi.

## **3.4.İstatistik**

Çalışmamızın verileri Statistical Packed for the Social Sciences (SPSS) 23.0 paket programında analiz edilerek sayı ve yüzde değerleri kullanılmıştır.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda Ocak 2015 ile Ocak 2020 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Polikliniği'ne klinik olarak immün yetmezlik ön tanısı alan 154'ü erkek 101'i kız 255 hastaya (yaş ortalaması 7,82) moleküler sitogenetik, moleküler dizi analizi ve MLPA planlanmıştır. İmmün yetmezlik tanısı ile gelen 255 hastadan 31 erkek 24 kız toplam 55 hastada (yaş ortalaması 7,48) kliniği ile uyumlu varyasyon ve delesyonlar tespit edildi (Tablo 13).

Tablo 13: Hastaların cinsiyet ve yaş dağılım özellikleri

| Hasta (n)  | Analiz Edilen Hasta Sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) | Tanı Konulamayan Hasta Sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) | Tanı Konulabilen Hasta Sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) |
|------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Erkek (n)  | 154 (%60)                                    | 123 (7,26 $\pm$ 4,92)                           | 31 (6,34 $\pm$ 5,85)                            |
| Kız (n)    | 101 (%40)                                    | 78 (9,89 $\pm$ 6,86)                            | 23 (9,07 $\pm$ 6,42)                            |
| Toplam (n) | 255                                          | 201 (%78,83)                                    | 54 (%21,17)                                     |

Çalışmaya dahil edilen 255 hastadan, immünite kusuru klinik özellikleriyle birlikte ilişkili anomalileri olan 9 hastaya DiGeorge Sendromuna yönelik 22q11 delesyonunu değerlendiren FISH çalışması yapılmıştır. Heterojen klinik özellikleriyle hedef tek gen belirlenemeyen hastalardan test prosedürlerine uyum sağlayabilen 40 hastaya doğrudan WES uygulanmasına karar verilerek kliniğe ilk gelişinde tüm ekzom dizileme başlatılmıştır. 206 hastada ise klinik özelliklerinin belirli genlere yönlendirmesiyle tek hedef genler öncelikle çalışılmıştır. Hedeflenen tek gen çalışması yapılan 206 hastanın analizi sonucunda klinik özelliklerini açıklayabilecek tanı koyulamayan 177 hastaya ise sonraki aşamadan WES uygulanmaya karar verilmiştir. 176 hastadan, polikliniğimize tekrar başvurmamaları, WES uygulaması için gerekli olan hastane/SGK kuralları ve prosedürlerini yerine getirememeleri, başka illere taşınmış olmaları veya exitus olmaları gibi farklı nedenlerle toplam 146 hastaya WES

yapılamamışken ulaşılabilen ve şartları sağlayan 31 hastaya WES yapılmıştı. Böylece toplam WES uygulanan hasta sayısı (40+31) toplamda 71 idi.

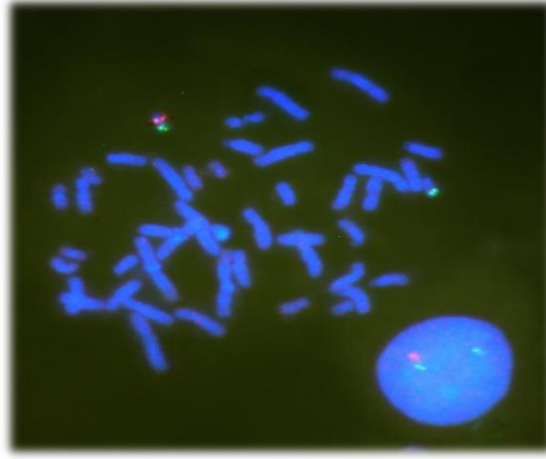
#### 4.1. FISH sonuçları

DiGeorge sendromu ön tansıyla 9 hastaya FISH yöntemi ile ilgili 22q11 bölgesinde delesyon analizi yapılmıştır. 22q11 (TUPLE1) bölge (kırmızı) delesyonunu gösteren H15'e ait imaj Şekil DG'de gösterilmiştir. 9 hastanın 5 tanesi erkek (%55) hasta ve 4 tanesi kız (%45) hastaydı. Bu analiz sonucunda 3 hastanın kliniğini açıklayan Di George lokusunda delesyon tespit edilmiştir. Delesyon tespit edilen hastalardan 2 tanesi erkek (%66) hasta ve 1 tanesi kız (%33) hasta iken, tanı koyulamayan 6 hastanın 3 tanesi erkek (%50) hasta ve 3 tanesi kız (%50) idi. Bu yöntem ile hastalarımızda tanı koyma başarıımız %33,3'tür (Tablo 14).

Tablo 14: FISH yöntemi ile analizleri yapılan hastaların cinsiyet ve yaş dağılımlarına göre sonuçları

| FISH Yöntemi ile |                                         |                                            |                                            |
|------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Hasta (n)        | Analiz edilen hasta sayısı (Yaş Ort. ±) | Tanı konulamayan hasta sayısı (Yaş Ort. ±) | Tanı konulabilen hasta sayısı (Yaş Ort. ±) |
| Erkek (n)        | 5 (%55)                                 | 3 (1,96± 2,31)                             | 2 (0,97±1,17)                              |
| Kız (n)          | 4 (%45)                                 | 3 (1,2±1,41)                               | 1 (0,12)                                   |
| Toplam (n)       | 9                                       | 6 (%66,7)                                  | 3 (%33,3)                                  |

H15'e ait 22q11 TUPLE1 bölgesi delesyonu FISH mikroskop görüntüsü Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. H15'e ait 22q11 TUPLE1 Bölgesi Delesyonu FISH Mikroskop Görüntüsü

#### 4.2 Tek gen dizi analizi sonuçları

206 hastaya hedef gendeki mutasyonlarını ortaya koymak üzere tek gen analizi yapıldı. 206 hastanın 127 tanesi erkek (%62) hasta ve 79 tanesi kız (%38) hastaydı. Bu analiz sonucunda 29 hastanın immun yetmezlik klinik tablosunu açıklayan sonuçlara ulaşılmıştır. Tanısı konulan 29 hastadan 13 tanesi erkek (%45) hasta ve 16 tanesi kız (%55) hasta iken, tanı koyulamayan 177 hastanın 114 tanesi erkek (%64) hasta ve 63 tanesi kız (%36) idi. Bu yöntemi ile hastalarımızda tanı koyma başarımız %14,07'dir (Tablo 15).

Tablo 15: Tek gen analiz yöntemi ile analizleri yapılan hastaların cinsiyet ve yaş dağılımlarına göre sonuçları

**Tek Gen Analiz Yöntemi ile**

| Hasta (n)  | Analiz edilen hasta sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) | Tanı konulamayan hasta sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) | Tanı konulabilen hasta sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) |
|------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Erkek (n)  | 127 (%62)                                    | 114 (5,82 $\pm$ 5,62)                           | 13 (5,72 $\pm$ 5,88)                            |
| Kız (n)    | 79 (%38)                                     | 63 (9,91 $\pm$ 4,95)                            | 16 (11,02 $\pm$ 5,73)                           |
| Toplam (n) | 206                                          | 177 (%85,93)                                    | 29 (%14,07)                                     |

### 4.3 MLPA Analizi Sonuçları

Tek gen dizi analizi yapılan 206 hastanın Fankoni anemisi düşünülen 9'unda FANCA tek dizi analiziyle eş zamanlı FANCA MLPA analizide yapılmıştı. 9 hastanın 4 tanesi erkek (%55,6) hasta ve 5 tanesi kız (%44,4) hastaydı. Bu analiz sonucunda 4 hastanın immun yetmezlik klinik özellikleriyle ilişkili Fankoni anemisi tanısı koyulabilmişti. Tanısı konulan 4 hastadan 1 tanesi erkek (%25) hasta ve 3 tanesi kız (%75) hasta iken, tanı koyulamayan 5 hastanın 3 tanesi erkek (%60) hasta ve 2 tanesi kız (%40) idi. Bu yöntemi ile hastalarımızda tanı koyma başarıımız %44,4'tür (Tablo 16).

Tablo 16: MLPA yöntemi ile analizleri yapılan hastaların cinsiyet ve yaş dağılımlarına göre sonuçları

| MLPA Analiz Yöntemi ile |                                              |                                                 |                                                 |
|-------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Hasta (n)               | Analiz edilen hasta sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) | Tanı konulamayan hasta sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) | Tanı konulabilen hasta sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) |
| Erkek (n)               | 4 (%62)                                      | 3 (6,90 $\pm$ 0,74)                             | 1 (7,85)                                        |
| Kız (n)                 | 5 (%38)                                      | 2 (9,12 $\pm$ 0,61)                             | 3 (11,65 $\pm$ 3,20)                            |
| Toplam (n)              | 9                                            | 5 (%55,6)                                       | 4 (%44,4)                                       |

### 4.4 WES analizi sonuçları

Doğrudan WES yapılmasına karar verilen 40 hasta ile tek gen analizi sonucunda tanı alamayan ve WES planlanan hastalardan WES analizi yapılabilen 31 hasta olmak üzere toplamda 71 hastaya WES analizi yapıldı. 71 hastanın 47 tanesi erkek (%66) hasta ve 24 tanesi kız (%34) hastaydı. Bu analiz sonucunda 22 hastada immun yetmezlik klinik tablosunu açıklayan sonuçlara ulaşılmıştır. Tanısı konulan 22 hastadan 16 tanesi erkek (%72) hasta ve 6 tanesi kız (%28) hasta iken, tanı koyulamayan 49 hastanın 31 tanesi erkek (%63) hasta ve 28 tanesi kız (%37) idi. Bu yöntemi ile hastalarımızda tanı koyma başarıımız %31'dir (Tablo 16).

Tablo 17: WES analizi ile analizleri yapılan hastaların cinsiyet ve yaş dağılımlarına göre sonuçları

WES Analizi Yöntemi ile

| Hasta (n)  | Analiz Edilen Hasta Sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) | Tanı Konulamayan Hasta Sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) | Tanı Konulabilen Hasta Sayısı (Yaş Ort. $\pm$ ) |
|------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Erkek (n)  | 47 (%66)                                     | 31 (6,61 $\pm$ 4,63)                            | 16 (6,97 $\pm$ 5,36)                            |
| Kız (n)    | 24 (%34)                                     | 18 (8,76 $\pm$ 4,30)                            | 6 (6,86 $\pm$ 6,82)                             |
| Toplam (n) | 71                                           | 49 (%69)                                        | 22 (%31)                                        |

WES uygulanan 71 hastanın 33'ü akrabalığı evliliği (%45) sonucu doğarken 38 hastanın anne ve babası arasında bilinen akrabalık ilişkisi yoktu (%55). WES ile tanı konulan 22 hastanın 12'si akraba evliliği (%55) sonucu doğarken 10 hastanın anne ve babası arasında bilinen akrabalık ilişkisi yoktu (%45) (Tablo 18).

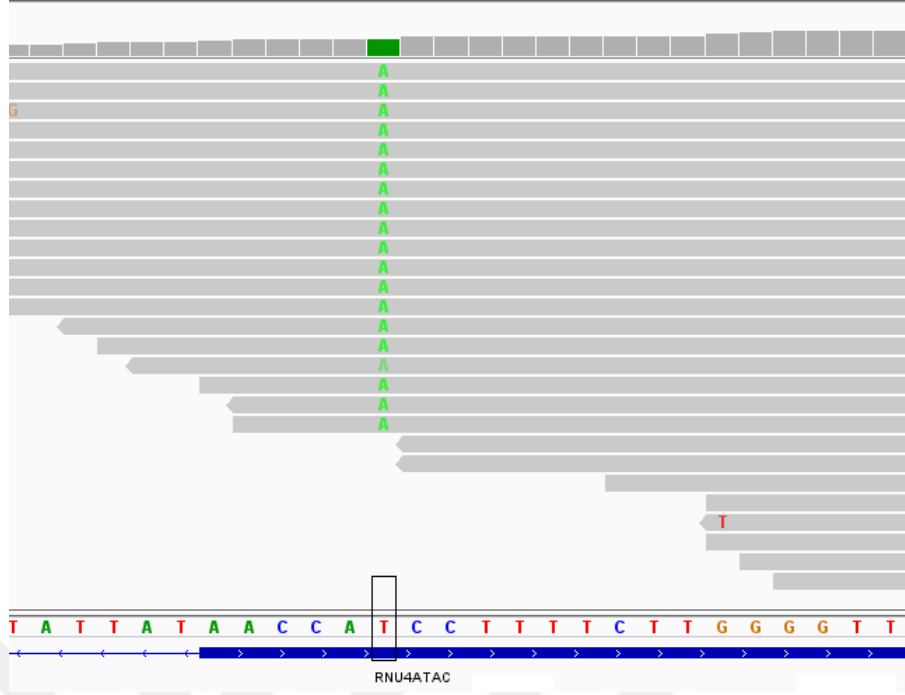
Tablo 18. WES Uygulanan Hastaların Ebeveyn Akrabalık Durumu

WES Analizi Yöntemi ile

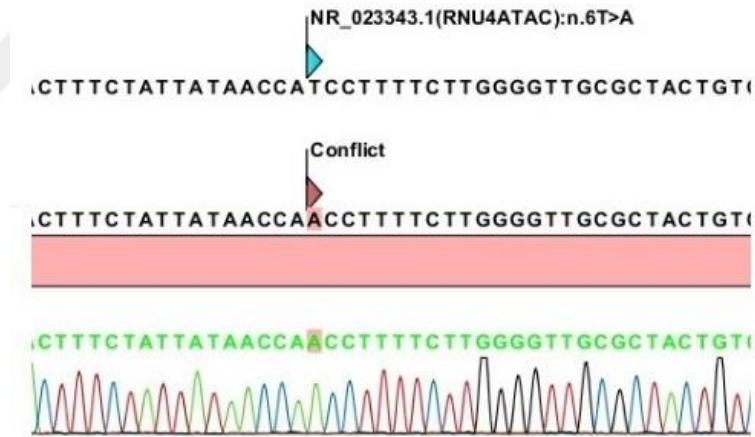
| Ebeveyn Akrabalığı | Toplam (%) | Tanı Konulamayan Hasta Sayısı | Tanı Konulabilen Hasta Sayısı (%) |
|--------------------|------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| Var                | 33 (%45)   | 21                            | 12 (%55)                          |
| Yok                | 38 (%55)   | 28                            | 10 (%45)                          |

Analiz sürecinde tespit edilen anlamlı varyasyonların teyit edilmesinde incelediğimiz Integrative Genomics Viewer (IGV) görüntüsü ve Sanger dizileme analiz görüntüleri örneği olarak hasta H3'e ait *RNU4ATAC* genindeki varyasyonun IGV görüntüsüyle (Şekil 7) birlikte Sanger dizileme pikleri sırasıyla Şekil 8 ve Şekil 9'da gösterilmiştir.

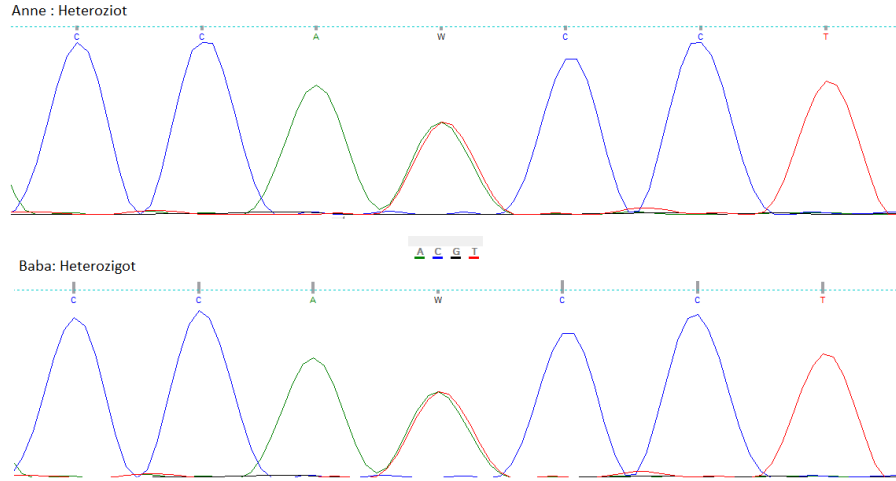




Şekil 7. H3'e ait *RNU4ATAC* Geni IGV Görüntüsü



Şekil 8. H3'te tespit edilen *RNU4ATAC* n.6T>A varyasyonu Sanger görüntüsü



Şekil 9. Hasta H3'ün anne ve babasına ait Sanger sekans görüntüsü

FISH, tek gen analizi ve tüm ekzon dizileme ile mutasyon tespit ettiğimiz hastalara ait klinik ve laboratuvar bulguları Tablo 19'da verilmiştir. Bu hastalarda tespit edilen varyasyonların tespit edildiği gen, zigositesi, türü, protein üzerinde meydana getirdiği aminoasit değişimi, HGMD ve ClinVar kayıt numarası, GnomAD frekansı, CADD skoru, DANN skoru, ACMG sınıflaması ve karşıladığı ACMG kriterleri Tablo 20'de verilmiştir.

Tablo 19. FISH, Tek Gen Analizi ve WES ile mutasyon tespit ettiğimiz hastalara ait klinik ve laboratuvar bulguları

|   | Hasta H. |               |           |                 |     |              | Laboratuvar Bulguları             |                                                      |                 |                |                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |  |
|---|----------|---------------|-----------|-----------------|-----|--------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------|----------------|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
|   | Cinsiyet | Yaş (Desimal) | Test Türü | Kalıtım Paterni | GEN | Hastalık Adı |                                   |                                                      |                 |                |                           | Klinik Bulgular                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |  |
|   |          |               |           |                 |     |              | T Lenfosit                        | B Lenfosit                                           | İg              | Diğer          |                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |  |
| 1 | H1       | K             | 0,37      | WES             | OR  | RFXANK       | Bare Lenfosit Sendromu, Tip II    | % CD4+T ↑<br>CD4/CD8 ters dönmüş<br>HLA-DR ↓         | N               | IgG ↓<br>IgM ↓ | BK ↑<br>Neu ↑<br>Lenf. ↑  | Gelişim geriliği, ÜSYE, ASYE, KC ve safra yolu hastalıkları (kolestaz), HSM, viral sepsis (CMV), GİS enfeksiyonarı (inatçı ishal). Ateş, takipne, burun akıntısı, ishal ve döküntü ile başvurdu.                                                                                                                                                                  |  |
| 2 | H2       | K             | 0,16      | WES             | OR  | ADA          | Adenozin deaminaz (ADA) eksikliği | T hücre Yok                                          | B hücre yok     | IgG↓<br>IgM↓   | Eoz. ↑                    | Gelişme geriliği, pnömoni, ensefalit (buna bağlı nöbetler). Ateş, pnömoni, hırıltılı solunum ile başvurdu ve takipte sepsis.                                                                                                                                                                                                                                      |  |
| 3 | H3       | E             | 4,45      | WES             | OR  | RNU4ATAC     | Roifman sendromu                  | % CD3+ ↑<br>CD4/CD8 ters dönmüş,<br>NK düzeyi normal | B hücre azalmış | IgG ↓<br>IgM ↓ |                           | Sık enfeksiyon geçirme; otitis media / pnömoni Bilişsel yetersizlik, konuşması gecikmiş. Kısa gövde (boy SDS: -0,98), mikrosefali (baş çevresi SDS: -2,28), uzun filtrum, uzun palpebral fissur, uzun ve belirgin kirpikler, topuz burun, ince üst dudak. Proksimal femur epifiz displazisi, sol bacak 1 cm kısa, hiperkonveks tırnaklar. Egzama, besin alerjisi. |  |
| 4 | H4       | E             | 5,9       | Tek Gen         | OR  | ATM          | Ataksi-telenjiektazi              | Düşük<br>% CD8+ ↓                                    | N               | N              | AFP ↑<br>Lenf. ↓<br>Neu ↓ | 1 yaşından itibaren ataksik yürüyüş ve disartrik konuşma, konjonktivada ve kulakta telenjiektazi. Serebellar atrofi                                                                                                                                                                                                                                               |  |

|    |     |   |      |         |    |                     |                     |          |    |                                          |                                                                                                                                                                                                        |
|----|-----|---|------|---------|----|---------------------|---------------------|----------|----|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5  | H5  | K | 9,3  | Tek Gen | OR | ATM                 | Ataksi-telenjektazi | N        | N  | IgM ↑<br>AFP ↑<br>Hb ↓<br>PLT ↑<br>Neu ↑ | Ataksik yürüyüş, disartrik konuşma, sklerada telenjektazi, 2 yaşından itibaren çok sık enfeksiyon ve ateş. Serebellar atrofi                                                                           |
| 6  | H8  | K | 5,33 | Tek Gen | OR | ATM                 | Ataksi-telenjektazi | N        | N  | IgG ↓<br>IgA ↓<br>IgM ↓<br>IgE ↓         | 1 yaşından itibaren dengesiz yürüyüş, disartrik konuşma. Konjonktival telen-jiektazi. Tiroglossal kist, tırnaklarda hiper-keratoz. 9 yaşında; servikal LAP: Büyük B Hücreli Lenfoma. Serebellar atrofi |
| 7  | H10 | K | 10,3 | Tek Gen | OR | ATM                 | Ataksi-telenjektazi | -        | -  | N<br>AFP ↑<br>Lenf. ↓<br>Neu ↓           | Ataksik yürüyüş, disartrik konuşma. Parmak uçlarında hiperkeratinizasyon, onikolizis, kserozis kutis. Serebellar atrofi                                                                                |
| 8  | H12 | K | 7,22 | Tek Gen | OR | ATM                 | Ataksi-telenjektazi | Az       | Az | IgA ↓<br>AFP ↑<br>Lenf. ↓                | Ataksik yürüyüş. Sık enfeksiyon. ALL (8 yaşında tanı almış.) Serebellar atrofi                                                                                                                         |
| 9  | H14 | E | 5,5  | WES     | OR | BLM                 | Bloom Sendromu      | N        | N  | IgG ↓<br>IgM ↓                           | Boy kısalığı, gelişim geriliği, nöromotor gelişim geriliği, alında hipopigment alan, vücutta hiperpigmente alanlar, cafe au lait lekeleri, hiptiroidi, T hücreli lenfoma (NHL)                         |
| 10 | H15 | E | 1,8  | FISH    | OD | (22)(q11.21 q11.21) | DiGeorge Sendromu   | -        | -  | -                                        | Mikrognati, işitme kaybı, beyin MR'da ventrikülomegali, trunkus arteriyozus, VSD, konuşmanın gecikmesi.                                                                                                |
| 11 | H16 | K | 0,12 | FISH    | OD | (22)(q11.21 q11.21) | DiGeorge Sendromu   | % CD3+ ↓ | N  | N<br>Ca <sup>+2</sup> ↓<br>Hb ↓          | Timus aplazisi, paratiroid hipoplazisi, nöromotor gelişim geriliği, kemerli künt burun. Nozokomiyal sepsis, takipte rekürrent süpüratif otitits.                                                       |
| 12 | H17 | E | 0,14 | FISH    | OD | (22)(q11.21 q11.21) | DiGeorge Sendromu   | N        | N  | N<br>Ca <sup>+2</sup> ↓<br>PTH ↓         | Boy kısalığı, (-2,39 SDS), işitme kaybı, hipertelorizm, kısa palpebral fissür, umbilikal herni, bilateral inguinal herni. Paratiroid hipoplazisi.                                                      |

|    |     |   |      |         |    |        |                                                      |                                |   |                         |                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----|-----|---|------|---------|----|--------|------------------------------------------------------|--------------------------------|---|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 13 | H18 | E | 0,23 | Tek Gen | OR | EPG5   | Vici Sendromu                                        | % CD4+ ↓                       | N | IgG ↓<br>IgG2↓          |                                                                                                                           | Gelişim geriliği, hiptoni, korpus kallozum total agenezisi, nöbet, sensöörinöral işitme kaybı, mikrognați, ciltte ve saçlarda hipopigmente alanlar, parsiyel albinizm, ciltte kserotik yama alanlar. İmmunglobülinlerde azalma ve tekrar eden solunum yolu enfeksiyonları. |
| 14 | H19 | E | 0,03 | WES     | OR | EPG5   | Vici Sendromu                                        | % CD4+ ↓                       | N | IgG ↓<br>IgG2↓          |                                                                                                                           | Gelişim geriliği, hipotoni, mikrosefali (-2,91 SDS), korpus kallozum agenezisi, pons hipoplazisi, serebral beyaz cevher hacim kaybı, infantil spazm, nistagmus, yüksek damak, trakeomalazi, ciltte ve saçlı deride deskuamatöz papüller.                                   |
| 15 | H20 | E | 14,2 | WES     | OD | STAT3  | Otoimmün hastalık, multisistem, infantil başlangıç 1 | Double Negatif T Hücre: %8,98↑ | - | IgG ↓<br>IgA ↓<br>IgE ↓ | IGF-1 ↓<br>Anti-TG ↑<br>Anti-TPO ↑<br>Direkt Coombs +<br>Dışkı kalprotektin +<br>MR: Hipofizitis<br>Anti-Gliadin<br>IgA ↑ | Boy kısalığı (SDS: -5), otoimmün lenfoproliferatif sendrom, otoimmün hemolitik anemi, trombositopeni ve tiroidit. Çölyak, otoimmün enteropati, dermatit, hipotiroidizm, Tip 1 DM, besin alerjisi, supraklavikular LAP. Bilateral optik nöropati, papil ödemi.              |
| 16 | H21 | K | 3,29 | Tek Gen | OD | STAT3  | Hiper IgE Sendromu / Job Sendrom                     | N                              | N | IgE ↑                   | Eoz. ↑                                                                                                                    | Sık sinopulmoner enfeksiyon; bronşiektazi, eozonofilik pnömoni, pnömatosel ve bunun rüptürüne bağlı pnömotoraks. Yüksek damak. Ekzema. Anti-HBS, pnömokok ve tetanoz aşısı yanıtları zayıf/yetersiz.                                                                       |
| 17 | H22 | E | 0,66 | Tek Gen | OD | STAT3  | Hiper IgE Sendromu / Job Sendrom                     | N                              | N | IgE ↑                   | Eoz.↑                                                                                                                     | Kaba ve asimetrik yüz, belirgin alın ve hipertelorizm. Yüksek damak. Kronik egzama. Bronşiyolit. Tekrar eden moniliyazis. Süt, yumurta ve fıstık alerjisi. Demir eksikliği anemisi.                                                                                        |
| 18 | H23 | E | 17,2 | WES     | OR | SPINK5 | Netherton sendromu                                   | N                              | N | IgE ↑                   |                                                                                                                           | Doğuştan beri var olan atopik dermatit, iktiyozis linearis circumflexa. Tüm vücutta kserozis, egzamatize, likenifiye lezyonlar, sırtta ve ensede eritroderma. Kaş laterallerinde kayıp. Adenoid hiperplazi, diş eti hipertrofisi, hafif jinekomasti.                       |

|    |     |   |      |         |    |           |                                                  |                                           |            |                         |                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|----|-----|---|------|---------|----|-----------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------|------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 19 | H25 | K | 16,7 | Tek Gen | OD | PMS2      | PMS2 eksikliği                                   | N                                         | N          | IgG ↓                   | Ig düşüklüğü, sık enfeksiyon geçirme. Cafe au lait lekleri. Takipte önce Burkitt Lenfoma (Nazofarenks NHL) sonra kolon adenokarsinoma teşhis edildi.                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 20 | H26 | E | 5,13 | WES     | OD | STAT5B    | STAT5B eksikliği                                 | N                                         | N          | IgE ↑                   | Yüksek damak. Kronik LAP. Atopik dermatit, alerjik rinit, tüm vücut saçlı deride hiperemik, hiperkeratotik, seboreik kaşıntılı lezyonlar. Ayak tınaklarında onikomikoz.                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 21 | H27 | E | 2,9  | Tek Gen | XL | BTK       | Agamaglobulinemi, X ilişkili 1                   | % CD3+ ↑                                  | CD19+ Yok. | IgG ↓<br>IgA ↓<br>IgM ↓ | B hücreler yok, anemi. 6 aylıktan itibaren ciltte kurutlu, eritemli lezyonlar; pyoderma. Sık ÜS YE+ateş, ishal+ateş. Aşı yanıtları zayıf. Bozuk diş gelişimi. Enfeksiyona rağmen LAP yok. |                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 22 | H29 | K | 5,66 | WES     | OD | TNFRSF13B | İmmün yetmezlik, yaygın değişken, 2              | N                                         | N          | IgG↓<br>IgA↓<br>IgM az  | Lenf. ↑<br>Neu ↑<br>D. Coombs +<br>Ig ↓<br>-Kemik dansitelerinde difüz azalma                                                                                                             | Tekrar eden dirençli ateş epizotları.Pnömoni, tonsillit, otitis medya, konjonktivit, selülit ve lenfadenit. Geçirilmiş menenjit, otoimmün hemolitik anemi ve febril konvülzyon öyküsü. Batın cildinde turuncu leke.Serebrotendinöz Ksantomatozis; hafif ataksik yürüyüş. -CYP27A1 geninde homozigot mutasyon |
| 23 | H30 | E | 0,16 | Tek Gen | OR | STXBP2    | Hemofagositik lenfositiositoz, ailesel, 5 (FHL5) | % CD8 ↑<br>% CD4 ↓<br>% NK ↓<br>CD4/CD8 ↓ | N          | N                       | Hb ↓<br>PLT ↓<br>Neu ↓<br>Lenf. ↑<br>Ferritin ↑<br>AST ↑<br>ALT ↑<br>Trigliserit ↑<br>Fibrinojen ↓<br>Na+ ↓                                                                               | Ateş (5 gündür süren ateşle başvurdu), HSM, PY: blastik hücre infiltrasyonu                                                                                                                                                                                                                                  |
| 24 | H31 | K | 0,55 | Tek Gen | OR | STXBP2    | Hemofagositik lenfositiositoz, ailesel, 5 (FHL5) | -                                         | -          | IgG ↓<br>IgM ↓          | Hb ↓<br>PLT ↓,<br>AST ↑                                                                                                                                                                   | Nöromotor gelişme geriliği olan hasta; ateş, HSM, Kİ yayması: hema fagositoz. SSS HLH tutulumu                                                                                                                                                                                                               |

|    |     |   |      |         |    |        |                                                                                   |                                 |   |       |                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|----|-----|---|------|---------|----|--------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|---|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |     |   |      |         |    |        |                                                                                   |                                 |   |       | ALT ↑<br>Neu ↓<br>Ferritin ↑<br>Trigliserit ↑<br>Fibrinojen ↓<br>Na+ ↓                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 25 | H32 | E | 0,12 | Tek Gen | OR | UNC13D | Hemofagositik lenfositosis, ailesel, 3 (FHL3)                                     | -                               | - | -     | Hb ↓<br>PLT ↓<br>Neu ↓<br>Ferritin ↑<br>Trigliserit ↑<br>Fibrinojen ↓<br>Na+ ↓               | Ateş, HSM, AST↑ ALT↑<br>PT ve aPTT uzamış.<br>Kİ yayması: hemafagositoz.                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 26 | H33 | E | 15,6 | Tek Gen | OR | UNC13D | Hemofagositik lenfositosis, ailesel, 3 (FHL3)                                     | % CD8 ↑<br>% CD4 ↓<br>CD4/CD8 ↓ | N | N     | Hb ↓, PLT ↓<br>AST ↑, ALT ↑<br>Neu ↓<br>Ferritin ↑<br>Trigliserit ↑<br>Fibrinojen ↓<br>Na+ ↓ | Ateş (3 haftadır süren ateşle başvurdu), HSM,<br>Kİ yayması: hemafagositoz.                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 27 | H34 | K | 16,7 | Tek Gen | OR | AIRE   | APECED (APS-1)<br>Otoimmün Poliendokri-nopati kandidiyazis ve ektodermal distrofi | N                               | N | -     | -                                                                                            | Tiroidit / hipotiroidi, hipoparatiroidi, hipogonadizm (puberte tarda, primer amenore), adrenal yetmezlik. Bilateral oküler keratopati, kornea distrofisi, görme keskinliğinde azalma, ptosis. Dental enamel bozukluk, dilde yarıklanma. Sık diyare. Vitiligo psöriyaziform dermatit, kaşıntı, guttat psöriyazis, tırnaklarda pitting. Epilepsi. Leptomeningeal menenjit öyküsü. |
| 28 | H35 | E | 7,91 | WES     | XL | FOXP3  | IPEX, İmmüdisregülasyon, poliendokrinopati ve enteropati, X                       | N                               | N | IgE ↑ | Anti-GAD +<br>dsDNA +                                                                        | Tip 1 DM. Kronik karın ağrısı, ishal / kabızlık, eklem ağrısı. Oral aft, eroziv gastrit, duodenit, kolit. Atopik dermatit. Simian çizgisi.                                                                                                                                                                                                                                      |
| 29 | H36 | E | 0,44 | Tek Gen | XL | FOXP3  | IPEX, İmmüdisregülasyon,                                                          | N                               | N | IgE ↑ | Anti-GAD+<br>Hb ↓ ve Ret. ↑<br>D. Combs +                                                    | Tip 1 DM.<br>Hipotiroidi.<br>Hemolitik anemi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

|    |     |   |      |         |    |        |                                                                                                 |                                           |          |                                            |                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----|-----|---|------|---------|----|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |     |   |      |         |    |        | poliendokrinopati ve enteropati, X                                                              |                                           |          |                                            | PLT ↓<br>Eoz. ↑                                                                                                       | Hipospadias.<br>Yaygın döküntü; dermatit. İshal, kolit.                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 30 | H38 | E | 6,65 | WES     | OD | SIAE   | Otoimmün hastalık, yatkınlık, 6                                                                 | N                                         | N        | IgG ↓<br>IgM ↓                             | JRA atakta:<br>-Sedim ↑<br>-CRP ↑<br>-Diz MR: JRA uyumlu bulgular.<br>-ESR: 38 mm/saat                                | Oligoartiküler JRA; atakta diz eklemlerde şişlik, hassasiyet ağrı ve topallyarak yürüme. Servikal lenfadenit, adenoid hipertrofisi. Hipogammaglobulinemi; sık enfeksiyon geçirme. Allerjik döküntüler, dermatit, saçlarda dökülme. Saç, kaş ve kirpiklerde hipopigmentasyon. Fotosensitif cilt. Diş gıcırdatma, yemek sonrası karın ağrısı. |
| 31 | H40 | E | 2,82 | WES     | XL | SH2D1A | Lenfoproliferatif sendrom, X'e bağlı, 1                                                         | % CD3 ↓<br>% CD8 ↑<br>% NK ↓<br>CD4/CD8 ↓ | % CD19 ↓ | IgG ↓<br>IgG1↓<br>IgG2↓<br>IgG3↓           | BK ↑<br>Lenf. ↓<br>Neu ↑<br>AST ↑, ALT ↑<br>Hb ↓                                                                      | Sık enfeksiyon geçirme.<br>HSM.<br>Apendektomi sonrası sepsis ve septik şok ile ex.                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 32 | H42 | E | 8,1  | WES     | XL | MAGT1  | X'e bağlı immün yetmezlik, magnezyum defekti, Epstein-Barr virüs enfeksiyonu ve neoplazi (XMEN) | % CD4+ ↓                                  | N        | IgG ↓<br>IgG1↓<br>IgG2 ↓<br>IgA ↓<br>IgM ↑ | BK ↑<br>Lenf. ↑<br>Hb ↓ Ret. ↑<br>D. Coombs+<br>AST ↑, ALT ↑<br>CRP↑ ve ESR ↑<br>-EBV VCA IgG +++                     | Tekrar eden oral aft ve ateş öyküsü. Rekürren respiratuvar enfeksiyonlar, oral aft. Aşılama sonrası ateş. HSM, sarılık. Otoimmün hemolitik anemi.                                                                                                                                                                                           |
| 33 | H44 | K | 17,8 | Tek Gen | OD | ELANE  | Elastaz eksikliği (Ciddi konjenital nötropeni [SCN] 1)                                          | N                                         | N        | IgG ↑                                      | BK ↓<br>Neu ↓<br>Monosit ↑<br>Hb ↓<br>-PY: toksik granülasyon<br>-Kİ Biyopsi: granülosit seri matürasyon yetersizliği | Sık enfeksiyon, ateş, oral mukozal lezyonlar. Miyoklonik epilepsi. İnatçı anemi.                                                                                                                                                                                                                                                            |



|    |     |   |      |         |    |         |                                                                                                                             |                   |          |                         |                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----|-----|---|------|---------|----|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|----------|-------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 34 | H48 | K | 17,8 | Tek Gen | OR | G6PC3   | Nötropeni, Ciddi konjenital nötropeni 4, otozomal resesif                                                                   | N                 | N        | IgG ↑<br>IgM ↑          | Neu ↓<br>BK ↓<br>Hb ↓                               | Gelişme geriliği, boy kısalığı.<br>Ateşle birlikte tekrarlayan respiratuvar enfeksiyonlar ve oral mukozal lezyonlar. Hafif anemi.<br>Gingiva hiperplazisi.<br>Ön kolda variköz ven.<br>Gecikmiş ve yetersiz pubertal gelişim.                                                                                                                                                               |
| 35 | H49 | K | 11,5 | WES     | OR | DNAJC21 | Shwachman-Diamond sendromu<br><br>(Bialelik DNAJC21 mutasyonu ile oluşan)                                                   | Düşük             | Düşük    | -                       | BK ↓<br>Neu ↓<br>Lenf. ↓<br>Hb ↓<br>HbF ↑<br>PLT ↓  | Gelişme geriliği. Sık enfeksiyon ve ateş, egzema ve döküntü. Pansitopeni. Konjenital kalça çıkığı. Puberte gecikmesi.<br>Kİ Biyopsi: Hiposelüler, granülosit seri yok                                                                                                                                                                                                                       |
| 36 | H50 | E | 5,67 | Tek Gen | OD | RANBP2  | {Akut enfeksiyonun indüklediği nekrotizan ensefalopati, 3, duyarlılık}                                                      | % NK ↓            | % CD19 ↓ | IgG ↓                   | H1N1 PCR (+)<br>BOS proteinini ↑<br>Influenza A (+) | Ateş, aniden başlayan korkularla birlikte kasılmalar, çift görme ve uykuya meyil ile başvurdu. Kerning + ve ense sertliği mevcut. Ex.<br>Beyin MR: Ensefalit; bilateral eksternal kapsül, talamusalarda, mamiller cisimcikler, pons lateralinde ve mezensefalon posteriorunda simetrik fokal T2 sinyal artışı.                                                                              |
| 37 | H51 | K | 4,42 | Tek Gen | OD | RANBP2  | {Akut enfeksiyonun indüklediği nekrotizan ensefalopati, 3, duyarlılık}                                                      | -                 | -        | -                       | Influenza A (+)<br>H1N1 PCR (+)<br>BOS proteinini ↑ | Ateş sonrası 5. gün ani görme kaybı, yürüme güçlüğü, uyku hali ve morarma.<br>Beyin MR: Akut nekrotizan ensefalit; eksternal kapsül, temporal lob ve talamus medial kesiminde, mamiller cisimler, optik radyasyon mediali, pons laterali, mezensefalon krusları ve serebellar hemisferlerde difüzyon kısıtlanması.                                                                          |
| 38 | H52 | K | 14,9 | WES     | OR | NBAS    | Boy kısalığı, optik sinir atrofi ve Pelger-Huet anomalisi MIM:616483 / İnfantil karaciğer yetmezliği sendromu 2 MIM: 614800 | % CD8 ↑<br>% NK ↓ | N        | IgG ↓<br>IgA ↓<br>IgM ↓ | -                                                   | Normal zeka, postnatal gelişme geriliği, boy kısalığı, osteopeni, tekrar eden kırıklar.<br>Brakisefali, dar alın, senil görünüm. Küçük orbitalar, bilateral ekzoftalmus, miyop. Kısa boyun, foramen magnum dar. Küçük eklemlerde hipermobilité, gevşek cilt.<br>Uterin hipoplazi.<br><b>Kusma, ateş. Akut KC yetmezliğine bağlı hepatik ensefalit. Transaminaz yüksekliği, koagülopati.</b> |

|    |     |   |      |     |    |                |                                                                              |                                 |                     |                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----|-----|---|------|-----|----|----------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 39 | H53 | E | 3,51 | WES | OD | <i>CXCR4</i>   | WHIM (siğiller, hipogammaglobulinemi, enfeksiyonlar, miyelokatexis) sendromu | Azalmış                         | Azalmış %<br>CD19 ↓ | IgG ↓<br>BK ↓<br>Neu↓<br>Lenf.↓<br>Hb ↓<br>Kİ biyopsi: hiperselüler                                 | Sık ÜSYE. Hipogammaglobulinemi. İnmemiş testis. İnguinal lenfadenit.                                                                                                                                                                                                                      |
| 40 | H54 | E | 16   | WES | OR | <i>ADA2</i>    | Vaskülit, Otoinflamasyon, İmmün yetmezlik ve hematolojik kusurlar sendromu   | -                               | -                   | Ig↑<br>Hb↓<br>WBC↓<br>Lenf.↓<br>Neu ↓                                                               | Halsizlik, yorgunluk, iştahsızlık. Oral aftlar, analp apse. HSM<br>Servikal ve submental yaygın LAP.<br>LAP Biyopsi: İnterfoliküler Hodgkin Lenfoma ve Plazma Hücreli varyant Castleman Hastalığı                                                                                         |
| 41 | H55 | E | 17,1 | WES | OD | <i>TNFAIP3</i> | Ailesel otoinflamatuvar sendrom, Behçet benzeri                              | Düşük. C4/CD8 oranı ters dönmüş | Düşük               | IgG ↓<br>IgA ↓<br>IgM ↓<br>Lenf. ↓<br>Hb ↓<br>Total Demir↓<br>CRP ↑<br>Albumin ↓<br>Total Protein ↓ | Sık enfeksiyon, ÜSYE ve ASYE. Oral ülserler, pangastrit, İBH; kolit. Dirençli DEA.                                                                                                                                                                                                        |
| 42 | H56 | E | 5,54 | WES | OD | <i>NLRP1</i>   | Otoinflamasyon, artrit ve diskeratoz                                         | -                               | -                   | N<br>CRP ↑<br>ESR ↑<br>Amiloid A ↑<br>Lenf. ↑<br>Neu ↑<br>Hb ↑<br>PLT ↑                             | Büyüme gelişme geriliği, boy kısalığı. Tekrar eden ateşli epizotlar. Unilateral optik atrofi. Hepatosplenomegali. Diz eklemünde artrit. Kronik ürtikelyal plaklar. Kronik anemi. Yaygın LAP. Minimal aort yetmezliği. Serebral parankim atrofisi. Ventrikülomegali, korpus kallozum ince. |
| 43 | H57 | E | 16,1 | WES | OR | <i>IL36RN</i>  | Psöriyazis 14, püstüler                                                      | N                               | N                   | IgE ↑<br>BK ↑<br>Lenf. ↑<br>Neu ↑                                                                   | Yüz, diz, popliteal bölge, dirsek, antekubital bölge, koltuk altı ve kasıkta likenifiye dermatit, kaşıntılı lezyonlar                                                                                                                                                                     |

|    |     |   |      |         |    |                 |                                                                                                 |   |   |        |                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                       |
|----|-----|---|------|---------|----|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---|---|--------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 44 | H58 | E | 6,05 | Tek Gen | OD | <i>TNFRSF1A</i> | TNF reseptörü ile ilişkili periyodik sendrom (TNF receptor-associated periodic syndrome: TRAPS) | - | - | IgG Az | BK ↑<br>Neu ↑<br>Lenf. ↑<br>CRP ↑<br>ESR ↑<br>Amiloid A: 24 (bir kez)           | Boy kısalığı (<3p)<br>Rekürren periyodik ateş, karın ağrısı, ishal, göğüs ağrısı atakları.<br>Atak sırasında ayak bileklerinde şişlik ağrı ve vücutta döküntü.<br>Karın bölgesinde vitiligo.                          |
| 45 | H59 | E | 13,4 | Tek Gen | OR | <i>CD46</i>     | Atipik hemolitik üremik sendrom, duyarlılık, 2                                                  | - | - | -      | BUN ↑<br>Kreatinin ↑<br>C3↓<br>PLT ↓<br>Hb ↓<br>Hematüri<br>Proteinüri<br>Anüri | Atipik HÜS.                                                                                                                                                                                                           |
| 46 | H61 | E | 3,98 | Tek Gen | OD | <i>SERPING1</i> | Hereditör Anjiyoödem tip 1 ve tip 2 (C1 inhibitör eksikliği)                                    | - | - | N      | C4 ↓                                                                            | Böcek sokması sonrası epizodik, kaşıntısız ödem.<br>Doğumdan itibaren karın ağrısı, kusma ve ishal. Sırtta, kollarda, boyundada, kalçada ve genital bölgelerde veziküler lezyonlar.<br>Özefajit, gastrit. Hafif anemi |
| 47 | H62 | K | 14,8 | Tek Gen | OD | <i>SERPING1</i> | Hereditör Anjiyoödem tip 1 ve tip 2 (C1 inhibitör eksikliği)                                    | - | - | -      | C4 ↓                                                                            | Epizodik anjiyoödem. Eritema marginatum.<br>Laringeal ödem. Karın ağrısı.                                                                                                                                             |
| 48 | H63 | K | 17,1 | Tek Gen | OD | <i>SERPING1</i> | Hereditör Anjiyoödem tip 1 ve tip 2 (C1 inhibitör eksikliği)                                    | - | - | -      | C4 ↓                                                                            | Epizodik kaşıntısız anjiyoödem. Faringeal ödem. Karın ağrısı. Kusma.                                                                                                                                                  |
| 49 | H64 | K | 0,52 | WES     | OR | <i>CD59</i>     | Membran Atak Kompleks İnhibitörü (CD59) eksikliği                                               | N | N | N      | Hb ↓<br>Ret. ↑<br>Lenf. ↑<br>CK ↑<br>LDH ↑<br>BOS protein ↑                     | Hipotoni. Alt ekstremitelerde kas güçsüzlüğü.<br>EMG: Polinöropati.<br>Uzuv paralizisi, bilateral arefleksi.<br>DTR alınamadı.<br>Nistagmus, strabismus.                                                              |

|    |     |   |      |         |    |       |                       |                                               |   |                                  |                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----|-----|---|------|---------|----|-------|-----------------------|-----------------------------------------------|---|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 50 | H65 | K | 15,2 | Tek Gen | OR | FANCA | Fanconi anemisi tip A | -                                             | - | -                                | Hb ↓<br>Ret. ↓<br>BK ↓<br>Neu ↓<br>Monosit ↓<br>Kİ biyopsi:<br>Hiposelüler. | Sık enfeksiyon geçirme ve aplastik anemi.<br>Boy kısalığı.<br>Mikrosefali, mikroftalmi, hipotelorizm.<br>Pelvik orta hat yerleşimli sol ektopik böbrek.<br>Anemic solukluk.<br>Sinüs trombozu.<br>KC'de Sekonder hemakromatoz.                                                                                                             |
| 51 | H66 | K | 10,4 | Tek Gen | OR | FANCA | Fanconi anemisi tip A | -                                             | - | -                                | Hb ↓<br>BK ↓<br>Neu ↓<br>PLT ↓<br>Monosit ↓<br>Kİ biyopsi:<br>Hiposelüler.  | Boy kısalığı, mikrosefali, düşük kulak, düşük doğum ağırlığı.<br>Sık enfeksiyon geçirme. Aplastik anemi. At nalı böbrek. Sol ekstremitede radius ve başparmak aplazisi. Sağ elde tek falanksli hipoplazik başparmak. Doğumsal kalça çıkığı.<br>KC'de demir birikimi. Beyin MR: Ventriküllerde genişleme ve beyin myelinizasyonunda gerilik |
| 52 | H67 | K | 9,19 | Tek Gen | OR | FANCA | Fanconi anemisi tip A | -                                             | - | -                                | Hb ↓<br>BK ↓<br>Neu ↓<br>PLT ↓<br>Monosit ↓                                 | Gelişme geriliği, bilişsel yetersizlik. Aplastik anemi.<br>Meningomyelosel. Ventriküler septal defekt. Sol Radius ve bilateral başparmak aplazisi.                                                                                                                                                                                         |
| 53 | H68 | E | 7,85 | Tek Gen | OR | FANCA | Fanconi anemisi tip A | -                                             | - | -                                | Hb ↓<br>BK ↓<br>Neu ↓<br>PLT ↓                                              | Aplastik anemi, sık enfeksiyon, ateş. Düşük doğum ağırlığı, gelişim geriliği. Mikrosefali, mikroftalmi ve hipotelorizm, klinodaktili. Sırtta cafe a lait lekeleri. Bilateral kriptorşidizm.                                                                                                                                                |
| 54 | H69 | E | 0,72 | WES     | OR | TET2  | İmmün yetmezlik 75    | N<br>Double<br>Negatif T<br>Hücre ↑<br>(%2,5) | N | IgG1↓<br>IgG3↓<br>IgM ↓<br>IgA ↓ | Neu ↓<br>AST ↑<br>ALT ↑                                                     | Gelişme geriliği. Kanlı ishal öyküsü. Gazlı, sulu ishal ve kabızlık atakları.<br>Hafif anemi.<br>Hipogammaglobulinemi                                                                                                                                                                                                                      |

Ig: İmmünglobulin. N: Normal OR: Otozomal Resesif, OD: Otozomal Dominant. WES: Whole Exome Sequencing: Tüm ekzon dizileme. Beyaz Küre: BK, Hemoglobin: Hb, Platelet:PLT, Lenfosit:Lenf., Nötrofil:Neu, Retikülosit:Ret., Eozonofil:Eoz., Parathormon:PTH, Alfa Fetoprotein:AFP. HSM: Hepatosplenomegali, SSS: Santral Sinir Sistemi.

Tablo 20: Mutasyon Tespit Edilen Gen Varyantları ve Varyantlara Ait Özellikler

| Hasta<br>(H.)<br>no | Test<br>türü | Gen        | Zigosite        | Anne<br>Genotipi | Baba<br>Genotipi | Mutasyon ve<br>Transkript ID                                  | Mutasyon türü        | Aminoasit<br>Değişikliği | ClinVar<br>HGMD ID<br>DOI                | GnomAD<br>Frekans | CADD<br>skoru<br>(Grch37<br>v1.6) | DANN<br>Skoru                   | ACMG<br>sınıfı | Karşılanan<br>ACMG<br>Kriterleri          |
|---------------------|--------------|------------|-----------------|------------------|------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------|--------------------------|------------------------------------------|-------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------|-------------------------------------------|
| 1                   | H1           | WES        | <i>RFXANK</i>   | II               | I I              | c.634C>T<br>NM_003721.3                                       | Nonsense             | p.212*                   | 10.1089/ped.<br>2019.1097                | 0,00000798        | 38                                | 0,9955                          | P              | PVS1 PM2<br>PP3 PP5                       |
| 2                   | H2           | WES        | <i>ADA</i>      | II               | I I              | c.736C>T<br>NM_000022.3                                       | Nonsense             | p.Q246*                  | 549915<br>CM1313319                      | 0                 | 33                                | 0.9504                          | P              | PVS1 PM2<br>PP5 BP4                       |
| 3                   | H3           | WES        | <i>RNU4ATAC</i> | II               | I I              | n.6T>A<br>NR_023343.1                                         | Splicing             | p.?                      | Novel                                    | 0,00000771        | 17,51                             | 0,9345<br>(raw C-<br>skoru:1,7) | VUS            | PM2 BP4                                   |
| 4                   | H4           | Tek<br>Gen | <i>ATM</i>      | II               | I I              | c.7159_7160insAGCC<br>NM_000051.3                             | Nonsense             | p.F2387*                 | 641019<br>CI991970                       | 0                 | -                                 | -                               | P              | PVS1 PM2<br>PP3 PP5                       |
| 5                   | H5           | Tek<br>Gen | <i>ATM</i>      | II               | i<br>I           | c.7159_7160insAGCC<br>NM_000051.3<br>c.7865C>T<br>NM_000051.3 | Nonsense<br>Missense | p.F2387*<br>p.A2622V     | 641019<br>CI991970<br>449346<br>CM107470 | 0<br>0            | -<br>24,2                         | -<br>0,9842                     | P<br>P         | PVS1 PM2<br>PP3 PP5<br>PM1 PM2<br>PP5 BP4 |
| 6                   | H8           | Tek<br>Gen | <i>ATM</i>      | II               | I I              | c.7865C>T<br>NM_000051.3                                      | Missense             | p.A2622V                 | 449346<br>CM107470                       | 0                 | 24,2                              | 0,9842                          | P              | PM1 PM2<br>PP5 BP4                        |
| 7                   | H10          | Tek<br>Gen | <i>ATM</i>      | II               | I I              | c.3626_3627delTT<br>NM_000051.3                               | Framesift            | p.F1209Yfs*19            | 187552                                   | 0                 | -                                 | -                               | P              | PVS1 PM2<br>PP3 PP5                       |

|    |     |         |         |    |   |   |                                  |           |              |                                       |   |      |        |     |                               |
|----|-----|---------|---------|----|---|---|----------------------------------|-----------|--------------|---------------------------------------|---|------|--------|-----|-------------------------------|
| 8  | H12 | Tek Gen | ATM     | II | I | I | c.6579_6580delCA<br>NM_000051.3  | Nonsense  | p.H2195*     | Novel                                 | 0 | -    | -      | LP  | PVS1 PM2                      |
| 9  | H14 | WES     | BLM     | II | I | I | c.2643G>A<br>NM_015202.4         | Nonsense  | p.W881*      | 42072                                 | 0 | 52   | 0,9952 | P   | PVS1 PM2<br>PM3 PP5           |
| 10 | H15 | FISH    | 22q11.2 | I  | - | - | (22)(q11.21q11.21)<br>(TUPLE1x1) | Delesyon  |              | -                                     | 0 | -    | -      | P   |                               |
| 11 | H16 | FISH    | 22q11.2 | I  | - | - | (22)(q11.21q11.21)<br>(TUPLE1x1) | Delesyon  |              | -                                     | 0 |      |        | P   |                               |
| 12 | H17 | FISH    | 22q11.2 | I  | - | - | (22)(q11.21q11.21)<br>(TUPLE1x1) | Delesyon  |              | -                                     | 0 |      |        | P   |                               |
| 13 | H18 | Tek Gen | EPG5    | II | I | I | c.2653delA<br>NM_020964.2        | Framesift | p.T885Qfs*3  | 10.24953/tu<br>rkjped.2020.<br>03.015 | 0 | -    | -      | LP  | PVS1 PM2                      |
| 14 | H19 | WES     | EPG5    | II | I | I | c.3205T>G<br>NM_020964.3         | Missense  | p.Y1069D     | Novel                                 | 0 | 25,5 | 0,9921 | VUS | PM2 PP3 BP1                   |
| 15 | H20 | WES     | STAT3   | I  | - | - | c.2107G>A<br>NM_139276.2         | Missense  | p.A703T      | 224850                                | 0 | 22,3 | 0,8271 | LP  | PM1 PM2<br>PP2 PP5 BP4        |
| 16 | H21 | Tek Gen | STAT3   | I  | - | - | c.2117T>C<br>NM_139276.2         | Missense  | p.L706P      | 429592                                | 0 | 31   | 0.9989 | LP  | PM1 PM2<br>PP2 PP3 PP5        |
| 17 | H22 | Tek Gen | STAT3   | I  | - | - | c.1909G>A<br>NM_213662.1         | Missense  | p.V637M      | 18308                                 | 0 | 23,6 | 0,9979 | P   | PM1 PM2<br>PM5 PP2 PP3<br>PP5 |
| 18 | H23 | WES     | SPINK5  | II | I | I | c.1430+4A>G<br>NM_001127698.1    | Splicing  | p.?          | Novel                                 | 0 | 24,2 | 0.9313 | VUS | PM2 BP4                       |
| 19 | H25 | Tek Gen | PMS2    | II | I | I | c.1164delT<br>NM_000535.7        | Framesift | p.H388Qfs*10 | 480324                                | 0 | -    | -      | P   | PVS1 PM2<br>PP5               |
| 20 | H26 | WES     | STAT5B  | I  | - | I | c.804delC<br>NM_012448.3         | Framesift | p.E269RTer60 | Novel                                 | 0 | -    | -      | P   | PVS1 PM2<br>PP3               |
| 21 | H27 | Tek Gen | BTK     | XI | I | - | c.839+5G>T<br>NM_000061.2        | Splicing  | p.?          | Novel                                 | 0 | 26,5 | 0,9698 | VUS | PM2                           |

|    |     |            |                  |    |   |   |                                |                    |              |                     |            |      |         |     |                               |
|----|-----|------------|------------------|----|---|---|--------------------------------|--------------------|--------------|---------------------|------------|------|---------|-----|-------------------------------|
| 22 | H29 | WES        | <i>TNFRSF13B</i> | I  | - | - | c.515G>A<br>NM_012452.3        | Missense           | p.C172Y      | CM077983            | 0.000183   | 23,1 | 0,7465  | LP  | PM1 PM2<br>PP3 PP5            |
| 23 | H30 | Tek<br>Gen | <i>STXBP2</i>    | II | i | I | c.736G>T<br>NM_006949.3        | Nonsense           | p.D255Y      | Novel               | 0          | 41   | 0,9979  | P   | PVS1 PM2<br>PP3               |
|    |     |            |                  |    |   |   | c.1463C>T<br>NM_001272034.2    | Missense           | p.P477L      | 77858.4<br>CM096296 | 0,00000419 | 25,4 | 0,9988  | P   | PS3 PM2 PP2<br>PP3 PP5        |
| 24 | H31 | Tek<br>Gen | <i>STXBP2</i>    | II | I | I | c.902+5G>A<br>NM_006949.3      | Splicing           | p.?          | CS106817            | 0,0000359  | 22,9 | 0,795   | VUS | PM2 PP5 BP4                   |
| 25 | H32 | Tek<br>Gen | <i>UNC13D</i>    | II | I | I | c.1208T>C<br>NM_199242.2       | Missense           | p.L403P      | 2002<br>CM050750    | 0          | 25,1 | 0,9987  | LP  | PS3 PM2 PP3                   |
| 26 | H33 | Tek<br>Gen | <i>UNC13D</i>    | II | I | I | c.1240C>T<br>NM_199242.2       | Missense           | p.R414C      | 533094<br>CM066255  | 0,00000399 | 27,8 | 0,9994  | VUS | PM2 PP3                       |
| 27 | H34 | Tek<br>Gen | <i>AIRE</i>      | II | I | I | c.931delT<br>NM_000383.3       | Framesift          | p.C311Vfs*67 | 554933              | 0          | -    | -       | P   | PVS1 PM2<br>PP3 PP5           |
| 28 | H35 | WES        | <i>FOXP3</i>     | XI | I | - | c.1190G>A<br>NM_014009.3       | Missense           | p.R397Q      | 379222<br>CM109691  | 0          | 32   | 0,99950 | LP  | PM1 PM2<br>PM5 PP2 PP3<br>PP5 |
| 29 | H36 | Tek<br>Gen | <i>FOXP3</i>     | XI | I | - | c.748_750delAAG<br>NM_014009.3 | İnframe            | p.250delK    | 499890              | 0          | -    | -       | LP  | PM1 PM3<br>PM4 PP3 PP5        |
| 30 | H38 | WES        | <i>SIAE</i>      | I  | - | - | c.3G>A<br>NM_001199922.1       | Başlatıcı<br>Kodon | p.Met?       | Novel               | 0,0000199  | 25,9 | 0,9956  | VUS | PVS1 PP3                      |
| 31 | H40 | WES        | <i>SH2D1A</i>    | XI | I | - | c.137+5G>A<br>NM_002351.4      | Splicing           | p.?          | CS1413673           | 0          | 27   | 0,9755  | VUS | PM2 BP4                       |
| 32 | H42 | WES        | <i>MAGT1</i>     | XI | I | - | c.991C>T<br>NM_032121.5        | Nonsense           | p.R331*      | 6258372             | 0          | 37   | 0,9969  | P   | PVS1 PM2<br>PP3 PP5           |
| 33 | H44 | Tek<br>Gen | <i>ELANE</i>     | I  | I | - | c.377C>G<br>NM_001972.3        | Missense           | p.S126W      | 16745<br>CM097552   | 0          | 23,2 | 0,9885  | LP  | PM1 PM2<br>PM5 PP2 PP3        |

|    |     |            |                 |    |   |   |                             |            |               |                   |           |       |        |     |                     |
|----|-----|------------|-----------------|----|---|---|-----------------------------|------------|---------------|-------------------|-----------|-------|--------|-----|---------------------|
| 34 | H49 | WES        | <i>DNAJC21</i>  | II | I | I | c.983+1G>A<br>NM_194283.3   | Splicing   | p.?           | 222066            | 0,0000597 | 34    | 0,9958 | VUS | PVS1 PP3            |
| 35 | H48 | Tek<br>Gen | <i>G6PC3</i>    | II | I | I | c.230G>A<br>NM_138387.3     | Missense   | p.G77E        | Novel             | 0         | 27,7  | 0,9977 | VUS | PM2 PP2 PP3         |
| 36 | H50 | Tek<br>Gen | <i>RANBP2</i>   | I  | ? | ? | c.2000C>T<br>NM_006267.4    | Missense   | p.A667V       | Novel             | 0         | 26,8  | 0,9991 | VUS | PM2 PP3 BP1         |
| 37 | H51 | Tek<br>Gen | <i>RANBP2</i>   | I  | ? | ? | c.1754C>T<br>NM_006267.5    | Missense   | p.T585M       | 8363<br>CM0901488 | 0         | 21,4  | 0,9969 | VUS | PM2 PP5 BP4         |
| 38 | H52 | WES        | <i>NBAS</i>     | II | I | I | c.1556T>A<br>NM_015909.3    | Missense   | p.V519E       | Novel             | 0         | 28,8  | 0,9788 | VUS | PM1 PM2<br>PP3 BP1  |
| 39 | H53 | WES        | <i>CXCR4</i>    | I  | - | I | c.1000C>T<br>NM_003467.3    | Nonsense   | p.R334*       | CM030831          | 0         | 38    | 0,9969 | P   | PVS1 PM2<br>PP3 PP5 |
| 40 | H54 | WES        | <i>ADA2</i>     | II | I | I | c.144dupG<br>NM_001282225.2 | Frameshift | p.R49fs*13    | CI1614108         | 0.0000319 | -     | -      | P   | PVS1 PM2<br>PP3 PP5 |
| 41 | H55 | WES        | <i>TNFAIP3</i>  | I  | - | - | c.259C>T<br>NM_001270507    | Nonsense   | p.R87*        | Novel             | 0         | 38    | 0,9978 | P   | PVS1 PM2<br>PP3     |
| 42 | H56 | WES        | <i>NLRP1</i>    | I  | - | - | c.4175G>A<br>NM_03004.3     | Missense   | p.R1392Q      | Novel             | 0,0000441 | 26    | 0,9994 | VUS | PM2 PP3 BP1         |
| 43 | H57 | WES        | <i>IL36RN</i>   | II | I | I | c.338C>T<br>NM_173170.1     | Missense   | p.S113L       | 30490<br>CM117054 | 0,00288   | 22,8  | 0,9988 | LP  | PM1 PM2<br>PP3 PP5  |
| 44 | H58 | Tek<br>Gen | <i>TNFRSF1A</i> | I  | I | - | c.434A>G<br>NM_001065.3     | Missense   | p.N145S       | 97703             | 0,0000918 | 14,85 | 0,9625 | LB  | PP2 BS2 BP4         |
| 45 | H59 | Tek<br>Gen | <i>CD46</i>     | II | I | I | c.535G>C<br>NM_172359.2     | Missense   | p.E179Q       | CM066539          | 0,000107  | 7,98  | 0,7425 | LB  | PM1 PM2<br>BP1 BP4  |
| 47 | H61 | Tek<br>Gen | <i>SERPING1</i> | I  | I | - | c.1378T>C<br>NM_000062.2    | Missense   | p.S460P       | CM022840          | 0         | 18,1  | 0,9947 | LP  | PM1 PM2<br>PP2 PP3  |
| 48 | H62 | Tek<br>Gen | <i>SERPING1</i> | I  | - | I | c.1095dupT<br>NM_000062.3   | Framesift  | p.R366SfsTer3 | Novel             | 0         | -     | -      | LP  | PVS1 PM2            |



|    |     |         |                 |    |   |   |                                    |          |          |                  |   |      |        |     |                               |
|----|-----|---------|-----------------|----|---|---|------------------------------------|----------|----------|------------------|---|------|--------|-----|-------------------------------|
| 49 | H63 | Tek Gen | <i>SERPING1</i> | I  | I | - | c.1397G>A<br>NM_000062.3           | Missense | p.R466H  | 3496<br>CM890025 | 0 | 23,4 | 09993  | P   | PM1 PM2<br>PM5 PP2 PP3<br>PP5 |
| 50 | H64 | WES     | <i>CD59</i>     | II | I | I | c.146A>T<br>NM_001127227           | Missense | p.D49V   | -<br>CM152302    | 0 | 22,6 | 0,9876 | LP  | PM1 PM2<br>PP3 PP5            |
| 51 | H65 | Tek Gen | <i>FANCA</i>    | II | I | I | rsa 16q24.3<br>(FANCAexons18-23)x0 | Delesyon | p.?      | -<br>CG081049    | 0 | -    | -      | P   |                               |
| 52 | H66 | Tek Gen | <i>FANCA</i>    | II | I | I | rsa 16q24.3<br>(FANCAexons1-3)x0   | Delesyon | p.?      | -<br>CG112471    | 0 | -    | -      | P   |                               |
| 53 | H67 | Tek Gen | <i>FANCA</i>    | II | I | I | rsa 16q24.3<br>(FANCAexons1-3)x0   | Delesyon | p.?      | -<br>CG112471    | 0 | -    | -      | P   |                               |
| 54 | H68 | Tek Gen | <i>FANCA</i>    | II | I | I | rsa 16q24.3<br>(FANCAexons1-3)x0   | Delesyon | p.?      | -<br>CG112471    | 0 | -    | -      | P   |                               |
| 55 | H69 | WES     | <i>TET2</i>     | II | I | I | c.3350A>C<br>NM_001127208.2        | Missense | p.K1117T | Novel            | 0 | 24,8 | 0,9982 | VUS | PM2 PP2 PP                    |

Heterozigotluk: I veya **I**  
Homozigot: **II**  
Birleşik Heterozigotluk: **II**  
X'e bağlı Hemizotluk: **XI**

P (Pathogenic): Patojenik,  
LP (Likely Pathogenic): Olasılıkla Patojenik,  
VUS (Variant Uncertain Significance): Klinik önemi belirsiz,  
LB (Likely Benign): Olasılıkla Benign

#### 4.5 Varyant tespit edilen genlerin IUIS sınıfı ve kalıtım paternleri

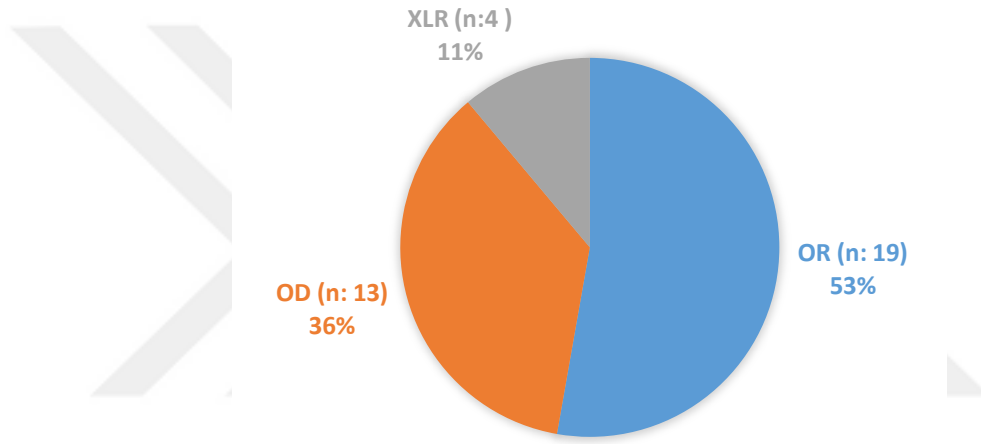
Çalışmamızda toplam 54 hastada 35 gen ve 22q11 DG delesyon bölgesinde birbirinden farklı 50 varyasyon tespit edilmişti. Anlamlı varyasyon tespit ettiğimiz genler en fazla sendromik özelliklerle ilişkili veya birlikte kombine immün yetmezlik ile immün disregülasyon bozuklukları başlığı altındaydı. Doğuştan gelen immün kusurların fenokopileri başlığı altındaysa tanı alan hastamız yoktu. Bu sınıflamanın kapsamı dışında olan fakat MIM:619126 numarası ile OMIM®- Online Mendelian Inheritance in Man® veritabanında “İmmün yetmezlik 75” fenotip ismiyle kayıtlı olan **TET2** geninde bir hastamızda ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz varyasyon tespit edildi. ACMG kriterlerine göre, tespit edilen toplam 50 varyantın 20’si (%40) patojenik, 13’ü (%26) olasılıklı patojenik, 15’i (%30) klinik önemi belirsiz ve 2’ü (%4) olasılıkla benign idi. Varyasyon tespit edilen bu genlerin IUIS sınıflamasına göre dağılımları Tablo 21’de gösterilmiştir.

**Tablo 21.** Varyasyon Tespit Edilen Genlerin IUIS İSDK Sınıflamasına Göre Dağılımları

| IUIS İSDK Sınıfı: Varyant Tespit Edilen Genler |                                                                                                                                               | Tespit Edilen varyantlar |                      |                       |                     |
|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|
|                                                |                                                                                                                                               | Patojenik                | Olasılıklı patojenik | Klinik önemi belirsiz | Olasılıklı a Benign |
| 1                                              | Hücrel ve humoral bağışıklığı etkileyen immün yetmezlikler: <i>ADA, RFXANK</i>                                                                | 2                        | -                    | -                     | -                   |
| 2                                              | Sendromik özelliklerle ilişkili veya birlikte kombine immün yetmezlikler: <i>ATM, BLM, EPG5, PMS2, RNU4ATAC, SPINK5, STAT3, STAT5B, 22q11</i> | 8                        | 4                    | 3                     | -                   |
| 3                                              | Ağırlıklı olarak antikor eksiklikleri: <i>BTK, TNFRSF13B</i>                                                                                  | -                        | 1                    | 1                     | -                   |
| 4                                              | İmmün disregülasyon bozuklukları: <i>STXBP2, UNC13D, AIRE, FOXP3, SIAE, SH2D1A, MAGT1</i>                                                     | 4                        | 3                    | 4                     | -                   |
| 5                                              | Fagosit sayısının veya işlevinin doğuştan kusurları: <i>ELANE, G6PC3, DNAJC21</i>                                                             | -                        | 1                    | 2                     | -                   |
| 6                                              | İntrinsik ve innate bağışıklık kusurları: <i>RANBP2, NBAS, CXCR4</i>                                                                          | 1                        | -                    | 3                     | -                   |
| 7                                              | Otoinflamatuvar bozukluklar: <i>ADA2, TNFAIP3, IL36RN, TNFRSF1A, NLRP1</i>                                                                    | 2                        | 1                    | 1                     | 1                   |
| 8                                              | Kompleman Eksiklikleri: <i>CD46, CD59, SERPING1</i>                                                                                           | 1                        | 3                    | -                     | 1                   |
| 9                                              | Kemik iliği yetmezliği: <i>FANCA</i>                                                                                                          | 2                        | -                    | -                     | -                   |

|    |                                                    |             |             |             |           |
|----|----------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-----------|
| 10 | Doğuştan gelen immünite kusurlarının fenokopileri: | -           | -           | -           | -         |
|    | -                                                  |             |             |             |           |
|    | Toplam (n: 50)                                     | 20<br>(%40) | 13<br>(%26) | 15<br>(%30) | 2<br>(%4) |

Çalışmamızda tespit edilen varyasyonlar, 19'u otozomal resesif (OR), 13'ü otozomal dominant (OD) ve 4'ü X kromozomu ilişkili resesif kalıtım (XLR) paternine sahip olan toplamda 35 gen ve (22) (q11.21q11.21) DiGeorge delesyon bölgesinde meydana gelmişti. Varyasyon tespit edilen genler ve DiGeorge bölgesine ait kalıtım paterni oransal dağılımı Şekil 10 da gösterilmiştir.



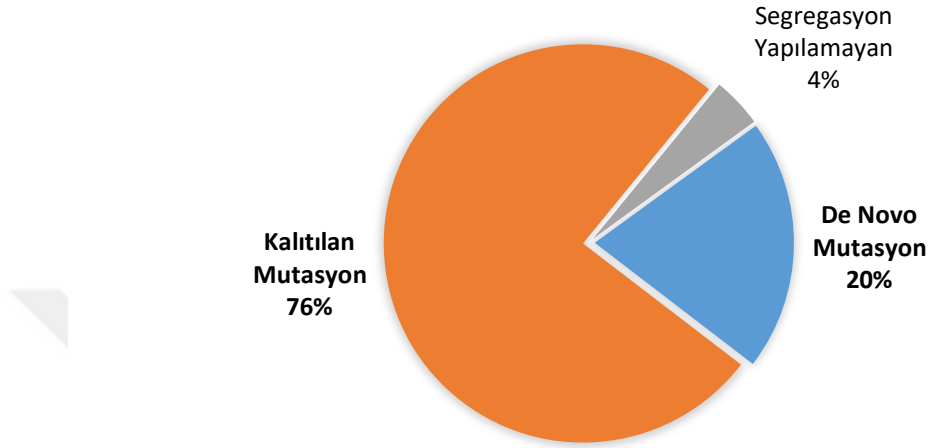
Şekil 10. Varyasyon Tespit Edilen Genlerin Kalıtım Paterni Dağılımı

#### 4.6. Tespit Edilen Varyantlara Ait Özellikler

##### 1. Segregasyon Özellikleri

Tespit edilen 50 varyasyon için ebeveyn taraması planlanmıştır. *RANBP2* geninde birbirinden farklı varyantlar tespit edilen 2 hastadan birisinin exitus olması sonrasında ailenin tekrar başvurması nedeniyle, diğerinin polikliniğimizde Gürcistan'dan gelerek başvurması fakat sonrasında tekrar merkezimize başvurması nedeniyle bu 2 hasta için segregasyon analizi yapılamamıştır. Böylece toplamda 48 varyant için segregasyon analizi yapılabilmiştir. Segregasyon analizi yapılan 48 varyantın 37'si ilgili hastanın anne ve babasından en az birisinde tespit edilmiştir. Geriye kalan 11 varyant ise ilgili hastanın annesinde ya da babasında tespit

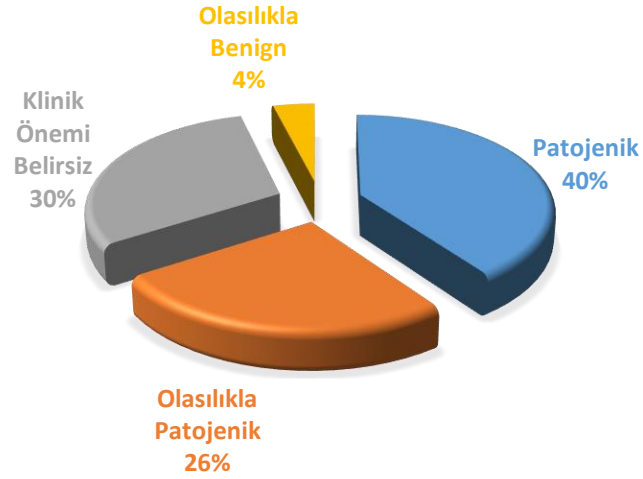
edilmemişti. De novo olarak tanımlanan bu varyantların oransal dağılımı Şekil 11 de gösterilmiştir. Yapılan aile taramalarında benzer klinik özellikleri olan 14 hastaya da tanı konulabilmiştir.



Şekil 11. De Novo Varyasyonların Tüm Varyasyonlar Arasındaki Oransal Dağılımı

## 2. ACMG kriterlerine göre patojenite özellikleri

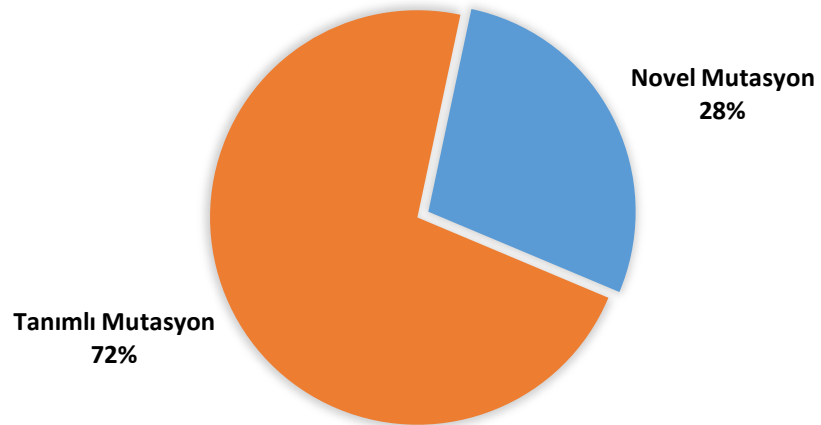
Bu çalışmada ACMG kriterlerine göre patojenik, olasılıkla patojenik, klinik önemi belirsiz ve klinikle uyumlu olduğu düşünülen olasılıkla benign varyantlar tespit edilmiştir. ACMG kriterleri Tablo 11’de gösterilmiştir. Çalışmada 35 gen ve bir kromozomal bölgede (22q11) birbirinden farklı 50 varyant tespit edilmiştir. Bunların 19’si patojenik, 13’si olasılıkla patojenik, 15’i klinik önemi belirsiz ve 3 tanesi ise olasılıkla benign varyasyonlardır. Bu varyasyonların oransal dağılımı Şekil 12 de gösterilmiştir.



Şekil 12. Tespit Edilen Varyasyonların ACMG Kriterlerine Göre Oransal Dağılımı

### 3. Varyantların literatür taraması sonuçları

Tespit edilen birbirinden farklı 50 varyasyon için literatür, HGMD ve ClinVar veritabanlarında tarama yapıldı. Toplam 50 varyantın 34'ü bu veritabanlarında daha önce benzer klinik özelliklerle bildirilmişti. Geriye kalan 16 tanesi daha önce rapor edilmemiş novel varyasyondur. Novel ve tanımlı varyasyonların oransal dağılımı Şekil 13'de gösterilmiştir.



Şekil 13. Tanımlı/Novel varyasyon dağılımı

## 5. TARTIŞMA

Daha çok erken çocukluk döneminde enfeksiyonlara yatkınlık şeklinde bulgu vermesiyle klasik olarak primer immün yetmezlikler olarak adlandırılan gelen immün sistemin doğuştan kusurları, immün sistemin gelişim- farklılaşmasındaki hücresel etkileşim ve hücresel fonksiyonlardaki bozukluklardan kaynaklanır. Geleneksel olarak primer immün yetmezlikler olarak adlandırılrsa da son yirmi yılda moleküler genetik tanı yöntemlerinde kaydedilen baş döndürücü gelişmelere paralel olarak, fonksiyon kaybettirerek enfeksiyonlara yatkınlık meydana getirenlerle birlikte immün sistemin disregülasyonu ile ilgili belirtiler içeren çok sayıda yeni immünite kusuru tanımlanması nedeniyle, bu hastalık grubu için daha kapsayıcı olan immün sistemin doğuştan kusurları (İSDK) isimlendirmesi daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

İSDK'nın prevalansı kesin bir şekilde bilinmemektedir. Toplumlar arasında farklılık gösterdiği öngörülmekle birlikte yaklaşık 10.000 canlı doğumda 1 olduğu değerlendirilse de (10,11), daha önceden tanımlanmamış immünite kusurlarının devam eden yeni keşfi ve klinik fenotiplerin tanımlanmasındaki ilerlemeler, İSDK'ların toplam sıklığının en az 10.000 canlı doğumda 2-10 (2-10/10.000) olduğunu göstermektedir (1). Batı toplumlarına göre akraba evlilik oranı nispeten yüksek olan ülkemizde ise otozomal resesif kalıtım paterni olan İSDK sıklığının daha fazla olduğu öngörülebilir.

İSDK tekrar eden enfeksiyonlar sonucu yoğun antibiyoterapi veya düzenli antikor tedavisi gerektirmesi, fiziksel gelişimi ve hayat kalitesini bozması, bazen de erken dönemde ağır klinik tablolarla hayati tehlike oluşturması nedeniyle klinik ve sosyal olarak önemli bir problem olarak karşılaşılmaktadır. Terapötik yaklaşımı uygun şekilde belirleyerek yaşam kalitesi ve sağ kalımı en iyi seviyede sağlayabilmek için hızlı bir şekilde doğru tanıyı koymak önemlidir (18-20).

Klinikte çok çeşitli semptomlarla birlikte olabilen İSDK, immün sisteminin farklı bölümlerini etkileyen germline mutasyonlar sonucunda ortaya çıkar. Heterojen klinik görünümü, farklı genlerdeki varyasyonların benzer klinik fenotipe yol açabilmesi ve aynı gen içerisindeki farklı pozisyon ve mekanizmalara sahip varyasyonların farklı klinik fenotipler ortaya çıkarabilmesi İSDK tanısını karmaşıklaştıran durumlardır. Giderek yaygınlaşan kullanımı ve azalan maliyetiyle

araştırma ve klinik laboratuvarlarında NGS teknolojisinin rutin olarak kullanılabilmesiyle klinik ve genetik heterojenitesi yüksek olan hastalıkların hızlı ve doğru tanısında çok önemli bir avantaj sağlanmıştır (96-98).

Aday genlerin belirlenmesinin yanı sıra İSDK tanısı koymada, protein kodlayan tüm ekzonları dizileyen NGS temelli WES analizinin giderek artan kullanımı kişiye özgü tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesini olanaklı hale getirerek klinik uygulamalarda değişikliklere bile yol açabilmesiyle moleküler tanıda devrim yaratmıştır (99-101). Özellikle son yıllarda tüm dünyada, klinik laboratuvarlarda hedefe yönelik panellerin yanı sıra İSDK tanısında giderek artan oranda WES uygulanmaktadır (96, 102-109).

Polikliniğimize 2015-2020 yılları arasında immün sistemin doğuştan kusurlarını (İSDK) akla getiren klinik özelliklerle başvuran ve lenfosit immüfenotipleme başta olmak üzere immünolojik ve temel laboratuvar parametrelerinin immünite kusurunu desteklediği 255 hastada çoğunluğunu NGS temelli dizilemelerin oluşturduğu genetik testler yapılmıştı. Tüm testler sonucunda tanı alan toplam 54 hastanın 22'sine WES analizi, 29'una hedef tek gen analizi ve 3 tanesine ise del22q11.2 (TUPLE1) FISH analizi ile tanı konmuştu.

Bu çalışmada, moleküler tanının İSDK hastalarında sağladığı sonuçların bilinciyle, heterojen klinik özelliklerle başvuran hastalarda saptadığımız birbirinden farklı genetik etyolojilerden öne çıkan bazı varyasyonları ve WES analizi sonuçlarımızı, İSDK tanısında uygulanan genetik test sonuçlarını bildiren literatür verileriyle kıyasladık. NGS çalışma süreçlerini, sonuçlarını ve analiz süreçlerini etkileyebilecek tüm olasılıkları değerlendirebilen genetik bakış açısıyla, İSDK tanısında ilk seçenek olarak hedeflenmiş gen panellerini ele alan bildirimlerin aksine, NGS teknolojisinin son 10 yılda sağladığı ve böylece vadettiği yeniliklerle dinamik bir veri ortaya çıkaran WES uygulamasının daha makul olduğunu tartışmayı amaçladık.

İSDK klinik tanısıyla genetik testler yapılan 255 hastamızdan 206'sında klinik ve dismorfik bulguları, laboratuvar parametreleri veya görüntüleme bulguları birlikte düşünüldüğünde etyolojide yer alabileceği öngörülen hedef genler ve 22q11.2 (TUPLE1) DiGeorge Sendromu (DG) delesyon bölgesi öncelikle analiz edilmişti. DG FISH analiziyle 3 hasta tanı alırken, hedef tek gen çalışılan 206 hastanın 29'unda

öngörülen genlerde varyasyonlar tespit edilmişti. Tek gen analizi yapılan hastalarda tanı koyma oranımız %14,07 idi.

### **Hedef gen dizileme çalışmalarıyla tanı koyulabilen hastalar**

Tek genler hedeflenerek tanı koyulabilen hastalardan, ilk ve en sık karşılaşılan monogenik İSDK olan X'e bağlı agamablobulinemi (XLA) ilişkili Bruton'un tirozin kinaz (BTK) geninde mutasyon tespit edilen H27 ve patogeneğinde farklı mekanizmalar öne sürülen özellikle viral enfeksiyonlarla indüklenen akut nekrotizan ensefalopati (ANEI: acute necrotizing encephalopathy, induced) yatkınlığı ilişkili *RANBP2* geninde mutasyon tespit edilen H36 ve H37'yi monogenik İSDK'ların heterojen genotip yelpazesini örneklendirmek için burada ayrıntılarıyla ele alıyoruz.

Tek gen analiziyle tanı koyulabilen hastalardan; 6.ayından itibaren kronik krutlu eritemli cilt lezyonları olan ve aşı yanıtları zayıf olan fakat bilinen aile öyküsü olmayan H27'ye, mükerrer ve şiddetli geçen solunum yolu ve gastrointestinal sistem enfeksiyonları ve hipogamaglobulinemisi olması nedeniyle 2,5 yaş civarında IVIG tedavisi başlanmıştı. Geçirdiği şiddetli enfeksiyonlara rağmen lenfadenopati gelişmemesi, lenfosit immünofenotiplemede aşıkâr B hücre eksikliğinin görülmesiyle XLA öntanısıyla *BTK* geni dizilenerek daha önce literatüre bildirilmemiş c.839+5G>T novel varyasyonu tespit edildi. Karşıladığı ACMG kriterleriyle klinik önemi belirsiz değişiklik olarak görünse de hasta klinik ve immünofenotipleme özellikleriyle XLA kliniğine tamamen uymaktaydı.

Tespit ettiğimiz novel varyantın yakın genomik bölgelerinde bildirilen varyantlar açısından literatüre bakıldığında Esenboğa ve ark nın aynı genomik bölgede fakat farklı bir baz değişimiyle (*BTK*: c.839+5G>A) XLA'lı bir hasta bildirdikleri görülmüştür (110). Splicing bölge varyasyonlarının proteinin primer yapısı üzerine olan etkisini tahmin etmek için kompütasyonel bir modelleme geliştiren Xiong ve ark ise, Esenboğan'ın bildirdiği CS951364 numarasıyla HGMD veritabanında kayıtlı olan c.839+5G>A varyasyonunu splicingi büyük çapta etkileyecek bir mutasyon olarak tahmin etmişlerdir (111). Bu bilgiler saptadığımız novel varyantın da patojenik olduğunu düşündürmektedir. Aile taramasında, immünofenotipleme sonucunda CD19+ lenfositleri olmayan ve Ig düzeyleri önemli ölçüde azalmış olan 0,74 yaşındaki erkek kardeşinde de aynı varyantı tespit etmemiz varyantın hastalık yapıcı



potansiyelini belirginleştirmiştir.

Esenboğa ve ark.'nın bildirdiği 32 hastalık XLA hasta serisinde sadece 2000 yılı ve sonrasında doğmuş olan ve bizim hastamızdaki gibi aile öyküsü olmayan hastalar tespit edilip ortalama tanı yaşı hesaplandığında 3,64 olduğunu gördük (110). Genetik testler yapıldığında 2,9 yaşında olan H27 için moleküler tanı yaşı bu ortalamanın altında olsa da aşikâr klinik-muayene bulguları, temel immünolojik parametreler ve varsa aile öyküsü birlikte değerlendirilerek daha erken aylarda moleküler tanının mümkün olduğu düşünülebilir. Günümüzde uygulanabilir tedavilerin sınırları ölçüsünde yaklaşıldığında klinik olarak tanı olgunlaştırılıp behemehal IVIg tedavisi başlanması hastalar için önemli olsa da, bu vakamızda olduğu gibi aile taramasında diğer hastaların erken tanısı ve tedavisinin başlanmasının yanında annedeki taşıyıcılığın tespit edilerek sonraki gebeliklerine yönelik önleyici preimplantasyon genetik tanı yöntemleri hakkında danışma verilebilmesi ve küratif potansiyeli olan yeni tedavi çalışmalarının var olması moleküler tanının da bir an önce koyulmasının önemini ortaya çıkarmaktadır (112).

Başvuru öyküsü, klinik özellikleri, laboratuvar bulguları ve görüntüleme bulguları bütüncül yaklaşımla ele alınarak **H36 ve H37**'de, özellikle viral enfeksiyonlarla indüklenen akut nekrotizan ensefalopati (ANE1: acute necrotizing encephalopathy, tip 1) yatkınlığı ilişkili *RANBP2* hedef gen dizi analiziyle klinik özellikleri açıklayan mutasyonlar saptanmıştır.

*RANBP2* proteini, nükleer por kompleksinin bir bileşenidir ve protein import ve eksportunun kolaylaştırılmasında, kargo protein toplanmasında, hücre içi trafikte ve enerji üretiminde rol oynar. *RANBP2* mutasyonlarının klinik özelliklere nasıl yol açtığı aşikâr olmasa da virüsün hücreye invazyonu, antijen sunumu, sitokin sinyalizasyonu ve kan-beyin bariyerinin sürdürülebilmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (113). *RANBP2* proteini birkaç tane yapısal domain içerir. ANE1 kliniği ile sık bildirilen varyantlar (T585M (H37), T653I ve I656V) proteinin primer yapısındaki ilk 830 aminoasitin oluşturduğu N-terminal lösin zengini (LZ) bölgede bulunmaktadır. LZ bölgesi *RANBP2*'nin nükleer por komplekse (NPK) tutunmasını sağlarken aynı zamanda interfazda mikrotübüllerin tutunduğu ve onların hareketini düzenleyen bölgedir (114). Bu bölge, tek sarmallı RNA'yı bağlayabilmesi ile NPK'nın sitoplazmik yüzünde messenger ribonükleoprotein (mRNP) yeniden şekillenmesine

katkıda bulunduğu düşünölen üç merkezi tetratrikopeptit tekrarını barındıran bir alfa-sarmal alanı oluşturmaktadır (115).

Literatüre bakıldığında hastaların çoğunluğunda, H36 ve H37’de olduğu gibi, ANE1 kliniğinin ortaya çıkmasından önce başta influenza A olmak üzere, herpes simpleks virüsü ve insan herpesvirüs-6 gibi enfeksiyonlar olduğu ve etkilenen çocukların daha çok 2 yaşın altındaki çocuklar olduğu görülse de (116-118), H36 ve H37 (desimal yaşları sırasıyla 5,67 ve 4,42) gibi daha büyük çocuklarda da bildirilmiştir (119).

Çalışmamızda tek gen analizi ile tanı koyulan H37, basit üst solunum yolu enfeksiyonu geçirdikten sonra devam eden ateşin 5.gününde ortaya çıkan ani görme kaybı, yürüme güçlüğü, uyku hali ve morarmayla başvurduğunda beyin MR görüntöleme bulguları akut nekrotizan ensefalit ile uyumluydu. BOS proteini artmış, İnfluenza A (H1N1) PCR testi de pozitif olan H37’de dizilenen *RANBP2* geninde c.1754 C>T (p.T585M) varyasyonu tespit edilmişti. *RANBP2* geninde ANE1 ile ilişkilendirilmiş ilk varyant olan c.1754 C>T protein yapısındaki lösin açısından zengin domainde Thr585Met dönüşümüne neden olmaktadır. Literatüre bakıldığında ANE1 hastalarında bildirilen varyantların büyük çoğunluğunun T585M olduğu görölmektedir. Bu missense mutasyonu hastalarda ilk defa otozomal dominant akut nekrotizan ensefalopati tipi ile ilişkilendiren Neilson ve ark, mutasyonu taşıyan tek yumurta ikizi 2 hastada enfeksiyonların her zaman benzer şekilde ataklara yol açmadığını yani mutasyonun eksik penetransla olduğunu bildirmiştir (120).

*RANBP2* geninde mutasyon tespit ettiğimiz diğör hasta H36 idi. Son birkaç gün içinde geçirilmiş üst solunum yolu enfeksiyonu sonrasında ateş, aniden başlayan korkularla birlikte kasılmalar, çift görme ve uykuya meyil ile başvurmuştu. Nörolojik muayenesinde kerning bulgusu pozitif ve ense sertliğı olduğu saptanan hastanın artmış BOS proteini ile birlikte beyin MR görüntöleme sonucu ensefalit ile uyumluydu. İnfluenza A / H1N1 PCR testi de pozitif olan hasta H36’da dizilenen *RANBP2* geninde heterozigot novel c.2000 C>T varyasyonu tespit edildi. Mutasyon proteinin primer yapısında p. Ala667Val değışikliğine neden olmaktadır. A667V değışimi proteinin nükleus ve mikrotübüllerle olan etkileşim açısında öneme sahip olan LZ bölgesinde bulunmaktadır. Bildirilen diğör varyantlarla benzer şekilde A667V evrimsel korunmuş bölgede yer almaktadır. PolyPhen-2 in siliko tahmin aracı 1.00 skoru ile A667V

değişimini “muhtemelen patojenik” olarak değerlendirmiştir.

Son olarak ANE1 kliniğiyle bildirilen sık varyantların CADD skorları hesaplandığında T585M için 21,4, T653I için 22,8 ve I656V için 11,52 hesaplanırken A667V (c.2000 C>T) novel varyantımız için CADD skoru 26,8 olarak tespit edilmiştir. Bu bilgiler ışığında hasta kliniğini açıklayabileceği düşünülen bu novel varyant, çocukluk çağında akut ensefalopatinin ayırıcı tanısında önemli bir yer tutan ANE1'i hastalarında *RNABP2*'nin hotspot noktaları dışında da anlamlı varyantlarının tespit edilebileceğini göstermektedir. Bu hastalarda moleküler tanı koyulabilmesi, etkilenen bireyler için koruyucu aşılama, profilaktik antibiyoterapi, hastalığın erken evresinde hızlı müdahale ve çocuk planlamada önleyici genetik danışma verilmesi olanağını doğurmuştur.

### **Hedef gen dizileme çalışmalarıyla tanı koyulamayan hastalar**

Hedeflenen genler klinik ve laboratuvar bulgularının gösterdiği yönde belirlenmeye çalışılsa da uyguladığımız diğer testlere göre tek gen analizi ile tanı koyma oranı daha düşüktü. Yeni nesil dizileme çağında örnekleri giderek artan, farklı genlerdeki varyasyonların benzer klinik özellikleri ortaya çıkarabilmesi gerçeği tek gen analizi ile tanı koyulamayan bazı hastalardaki duruma ışık tutmaktadır. Tek gen analizleriyle tanı alamayan hastalardan H3, H20, H53, H55 ve H57'nin tanısal süreçleri bu durumu açık bir şekilde örneklendirebilir.

H3; gelişim geriliği, sık enfeksiyon geçirme öyküsüyle ve aktif şikayetlerle başvuran hastanın yapılan lenfosit alt grubu incelemesi sonucu düşük B hücre kaydedilmesi, Ig'lerinin düşük olması çerçevesinde *BTK* geni analizi yapılmış fakat mutasyon tespit edilmemişti. Sonrasında WES uygulanan hastada yine düşük B hücre ve Ig düzeyinin tabloda olduğu Roifman Sendromu ilişkili *RNU4ATAC* geninde homozigot novel bir varyant tespit edilmişti. Bu hasta WES analiz sonuçları altında ayrıntısıyla tartışılacaktır.

H53; Sık enfeksiyon geçirme öyküsü, lökopeni, nötropeni ve hipogammaglobulinemisi olması nedeniyle öncelikle konjenital nötropeni genleri olan *ELANE* ve *HAX1* çalışılmış olmasına rağmen tanı koyulamayınca hastaya uygulanan WES analizi sonucunda, nötropeni, hipogammaglobulinemi ve yaygın insan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonu ile karakterize bir immün yetmezlik hastalığı olan WHIM (The syndrome of warts, hypogammaglobulinemia, immunodeficiency, and

myelokathexis) sendromu ilişkili *CXCR4* geninde klinik özelliklerini açıklayabilen fonksiyon kazandıran heterozigot GOF c.1000C>T mutasyonu tespit edilmişti. Klinik özelliklerinin fonksiyon kazandıran GOF bir mutasyonla ortaya çıkması ve nötrofil matürasyon sürecinde negatif bir etkilenme olmadan nötrofil mobilizasyonunun etkilenmesiyle oluşan periferik nötropeni ile H53, “farklı gen-benzer klinik” tablosunu dikkat çekici şekilde örneklendirmektedir. *CXCR4* mutasyonları, klasik familial nötropeni genlerinin (*ELANE*, *HAX1*, *WAS* vb.) aksine, nötrofillerin kemik iliğindeki matürasyonunda aksama olmaksızın periferik dolaşıma çıkmasındaki bozuklukla oluşan periferik nötropeniye rağmen, etkilenen bireylerden alınan kemik iliği aspiratlarında miyelokateksis olarak adlandırılan çok miktarda olgun miyeloid hücre içermesiyle karakterize kliniğe neden olmaktadır (121).

H55; sık enfeksiyon geçirme, oral ülserler, pangastrit, kolit ve dirençli anemi şikayetleri ile başvuran hastada immün disregülasyon tablosu öncelikle düşünülerek tekrarlayan enfeksiyonlar, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve otoimmünite ile ilişkili *LRBA* geni çalışılmış, test sonucunun negatif gelmesi sonrası yapılan WES analizinde mutasyonları mukozal ülserler ve otoinflamatuvar klinik özelliklere neden olan *TNFAIP3* (OD) geninde heterozigot mutasyon tespit edilmişti.

H20; lenfoproliferatif sendrom (LS) klinik bulgularıyla başvuran hastaya sırasıyla LS ilişkili *CASP8* ve *CASP10* gen analizleri yapılmıştı. Bu genlerde mutasyon tespit edilemeyen hastaya yapılan WES sonucunda hastanın LS kliniğini açıklayan *STAT3* geninde GOF (gain of function: fonksiyon kazandırıcı) mutasyon tespit edildi. *STAT3* genindeki aktive edici (GOF) germline mutasyonların lenfoproliferasyon, solid organ otoimmünitesi ve sık enfeksiyonların olduğu erken başlangıçlı ve birçok organı etkileyebilecek otoimmün hastalığa neden olduğu Flanagan ve ark tarafından bildirilmiştir (122).

Klinik özelliklerin düşünülenden farklı moleküler temellerle ortaya çıkabilmesi hedef gen belirlemeyi karmaşıktırmaktadır. Geciken moleküler tanıyla birlikte tedavi yönetiminin ve prognoz belirlemenin güçleşmesi moleküler tanının koyulmasının zorunluluğunu ortaya çıkarmaktadır. Aynı fenotipin farklı genotiplerle ortaya çıkabilmesi gibi aynı gende meydana gelen farklı mutasyonlar birbirinden çok farklı klinik özelliklere yol açabilmektedir. Bu bakımdan genotip-fenotip eşleşmesi matematiksel olarak birebir fonksiyon şeklinde tanımlanamaz. *STAT3* gen aktivitesini

artırıcı GOF'a neden olarak lenfoproliferasyon ve otoimmüniteye neden olan H20'de tespit edilen c.2107G>A varyantından farklı olarak, aynı gende H21 ve H22'de fonksiyon kaybettiren, sırasıyla c.2117T>C ve c.1909G>A LOF mutasyonları saptanmıştır. H21 ve H22; sık enfeksiyon geçirme, bazı dismorfik bulgular ve egzama ile IgE ve eozonofil düzeyi artışı bulgularıyla polikliniğimize başvururken H20'de tiroidit, otoimmün enteropati, dermatit, tip 1 DM, supraklavikular LAP gibi baskın olarak solid organ otoimmünitesi, lenfoproliferasyonla başvurması aynı gen-farklı fenotip tablosunu açıkça örneklendirmektedir.

LOF ve GOF mutasyonları olabilen genler için tespit edilen varyantın hangi yönde etki edeceğini kesin bir şekilde belirlemek ancak fonksiyonel çalışmalar yapılarak ortaya konabilmektedir. H20'de tespit edilen c.2107G>A ile H21'de tespit edilen c.2117T>C varyantlarının genomik lokasyonlarının 10 baz kadar yakın olmasına rağmen etkilerinin bu denli farklı olması dikkat çekicidir. Fonksiyonel çalışmalarla protein fonksiyonuna ne yönde etki ettiği bildirilmiş varyantların genomik pozisyonu, neden oldukları aminoasit değişimi ve mutasyon türü gibi bilgileri kullanılarak varyantın ne yönde etki edeceğini belirlemeye yönelik yapılan bir çalışma da bu modelleme ile %70 civarında doğrulukla fonksiyon etkisi tahmin edilebileceği bildirilmiştir (123). İn siliko tahmin araçlarının ötesinde, daha önce GOF olarak bildirilmiş olması ve bizim hastamızdaki kliniğin de açık bir şekilde o yönde olması nedeniyle çalışmamızda WES analizi ile tanı konan H20'de tespit edilen STAT3 c.2107G>A varyantını fonksiyon artırıcı yönde olduğu görülmektedir.

#### **FANCA MLPA çalışmalarıyla Fankoni Anemisi tanısı koyulan hastalarımız**

Tek gen analizi yapılan hastaların 9'unda FANCA dizi analiziyle birlikte eş zamanlı olarak **MLPA analizi** de yapılmıştı. FANCA analizi yapılan hastalardan 4 tanesinde kliniği açıklayan homozigot mutasyonlar tespit edildi. Fankoni anemisi çoğunlukla FANCA genindeki nokta mutasyonlar, indeller ve splicing bölge mutasyonları ile ortaya çıkmaktadır (124). Çalışmamızdaysa tespit edilen tüm mutasyonlar homozigot geniş delesyonlardı. Tüm gen dizi analiziyle tanı koyulan hasta yoktu. Toksoy ve ark Fankoni anemili hasta serisinden oluşan çalışmalarında, FANCA mutasyonu saptanan 15 hastanın sadece 3'ünde geniş delesyon tespit ederken hastaların %80'inde tüm gen dizi analizi ile tespit edilebilen varyantlar bildirmişlerdi

(125). Sonuçlarımız, heterojen mutasyonlarla Fankoni anemisi kliniğine yol açtığı bilinen FANCA geni için yapısal mutasyonlar açısından MLPA analizinin de tüm hastalarda dizileme ile birlikte düşünülmesi gerekliliğini vurgulamaktadır.

### **WES Analizi Yapılan Hastalar**

İSDK tanısı, klinik özelliklerin ve genetik etyolojilerin heterojenitesi altında saklanmaktadır. Dizileme teknolojileri alanında yeni bir çağ başlatan NGS giderek azalan maliyetine paralel olarak yaygın kullanımı ile hem klinik hem de araştırma laboratuvarlarında yüksek verimli dizilemeyi olanaklı hale getirmiştir. Özellikle protein kodlayan tüm ekzonların dizilendiği, kalıtsal bozuklukların teşhisinde yaygın olarak kullanılan WES uygulaması ile İSDK ilişkili yeni genler tespit edilebilmiştir (96-98). İSDK'nın moleküler temellerini ortaya koyarak tedavi seçenekleri ve prognoz hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır (99,100,126).

Bu çalışmada doğuştan immünite kusuru olan toplam 71 hastaya WES uygulanmış olup analizler sonucunda 22 hastada kliniği açıklayan varyasyonlar tespit edilmiştir. **WES analiziyle hastaların %31'inde tanı koyulabilmiştir.** Literatüre bakıldığında, İSDK hastalarındaki WES tanı oranlarının %15 ile %70 arasında değiştiği görülmektedir (127-128). Vorstevelde ve ark, bu hasta grubu için 2021 yılına kadar bildirilmiş tüm NGS çalışmalarını derledikleri çalışmalarında İSDK kliniği olan hastalarda uygulanan WES analizlerinin tanı oranı ortalamasının %38 olduğunu belirtmişlerdir (129). Ortalamadan düşük görünen %31'lik tanı oranımızın anlaşılabilir ve bazı açılardan iyileştirilebilir olduğunu ortaya koymak için yüksek tanı oranı bildirmiş birkaç çalışmaya yakından bakmak yararlı olacaktır.

### **WES analiziyle İSDK tanısı koyma oranımızın literatürle kıyaslanması**

Simon ve ark, yaş ortalaması 3,4 olan, 6'sı 18 yaşından büyük toplam 106 İSDK ön tanı hastada yapılan WES analizleri sonucunda %70 tanı oranı bildirmişlerdir. Ebeveyn akrabalık oranı %80 olan hasta grubunun %74'ünde İSDK düşündürülen aile öyküsü de vardır (104). İSDK patogenezinde rol alan genlerin yaklaşık %70'i otozomal resesif kalıtım paternine sahiptir (1). Bu açıdan bakıldığında, aile öyküsünün çok az olduğu çalışmamızdaki akrabalık oranına (%45) kıyasla Simon'un çalışmasında daha fazla akrabalık oranı ve aile öyküsü bulunmasının ve bazı hastalar için sağlıklı aile bireylerinde eş zamanlı WES uygulamış olmalarının tanı

oranlarının yüksek olmasına katkı sağladığını düşündürmektedir.

Hasta popülasyonunun spesifik karakteristiklerinin neden olduğu farklı tanı oranlarını örneklendiren bir başka çalışmada Mukda ve ark., hemafagositik lenfhistiyositozlu (HLH) hasta grubunda gerçekleştirdikleri WES analizi ile hastaların %50'sine (12/24) tanı koyulabildiğini bildirmişlerdir (130). Klinik ve özellikle bazı laboratuvar parametrelerle iyi tanımlanabilen bir tablo oluşturan ve patogenezinde sınırlı sayıda gen olduğu bilinen HLH hasta grubunda WES yapmaları Mukda'nın çalışmasında tanı oranını yükseltmiştir. Çalışmamızda karakteristik özellikleriyle moleküler testler öncesi iyi tanımlanan HLH hastalarımızda, HLH etyolojisinde öne çıkan *STXBP2* (H30 ve H31) ve *UNC13D* (H32 ve H33) genlerinin dizilenmesiyle tanı konulabilmiştir. HLH ön tanısı olan bu hastalardaki gibi klinik olarak iyi tanımlanabilen hastalarımızda belirlenen tek genlerle (*ATM*, *BTK*, *RANBP2* ve *AIRE* gibi) tanı konulabilmiş olması ve fenotip-genotip heterojenitesinin daha fazla olduğu düşünülen hastalarda WES uygulamış olmamız %31'lik WES tanı oranımızın "saflığı" ölçüsünde makul olduğunu gösterebilir.

WES ile dizilenen genomik bölgelerin dizilenebilme kapsamının ve derinliğinin biyoinformatik araçlarla kıyaslanmasıyla gerçekleştirilen CNV (Copy Number Variant) analizi WES datasıyla ulaşılabilen tanı sayısını artırmaktadır. Stray-Pedersen ve ark., yaş ortalaması 14,7 olan pediatrik ve yetişkin toplam 278 İSDK'lı hasta grubunda gerçekleştirdikleri WES analizi sonucunda 110 (%40) hastaya tanı koyulduğunu bildirmişlerdir. Tanı koyulan toplam 110 hastanın 98'inde dizi analizi ile tanı koyulurken, 12 hastada WES datasının biyoinformatik yöntemlerle işlenmesiyle gerçekleştirilebilen kopya sayısı değişikliği; CNV analiziyle tanı koyulduğunu bildirilmiştir (103). Stray-Pedersen'in çalışmasında sadece WES analiziyle hastaların %35'ine tanı koyulurken, CNV analiziyle de hastaların yaklaşık %5'ine daha tanı koyulabilmiştir (103). Hasta seçim kriterleri ve özellikleri açıkça belirtilmiş olmasa da yaş ortalaması (desimal: 14,7) bizim hasta grubumuzun yaş ortalamasının (desimal: 7,4) önemli ölçüde üstünde olan Stray-Pedersen ve ark'nın İSDK hasta grubunda, WES tanı koyma oranının daha yüksek olmasından çalışmamızda CNV analizi yapılmamasının sorumlu olduğunu düşündük. Nitekim bir başka çalışmada İSDK ön tanısı olan 254 hastada yapılan tanısal çalışmalarıyla Arts ve ark, 62 (%24) hastada tanının WES analiziyle, ilave 10 (%4) hastada ise aynı WES datasından

gerçekleştirilen CNV analizleriyle koyulmasıyla toplam 72 (%28) hastaya tanı koyulabildiğini bildirmişlerdir (96). Literatürdeki bu bildirimler ışığında, hasta karakteristikleri dışında teknik bazı yaklaşımların da WES tanı oranımıza etki edebileceğini ve bu teknik yaklaşımların planlanmasıyla tanı oranımızın artırılabilceğini düşündük.

Son olarak, Rudilla ve ark, yaklaşık 4000 genden oluşan klinik ekzom paneli uygulanan İSDK hastalarında, tanı koyulamayan hastalardan array CGH yapılan hastalardan birinde haplo-yetersizlikle kliniğe yol açabilen *TNFAIP3* genini de içine alan 13 Mb'lık bir delesyon tespit etmişlerdir (102). Bu veriler ışığında çalışmamızdaki WES tanı oranımızın temel olarak kopya sayısı değişikliklerine yönelik çalışmaların yapılmaması nedeni ile literatürdeki bazı bildirimlerden düşük olduğu ve İSDK patogeneğinde yapısal mutasyonlarında olabileceği farkındalığıyla kopya sayısı değişikliklerine yönelik çalışmalarla (WES verisiyle CNV analizi ve array CGH) İSDK hastalarında moleküler tanı oranlarının artırılabilceği sonucuna varılmıştır (131).

#### **Klinik olarak iyi tanımlanamayan hastalarda WES analizini tercih etmemiz**

İSDK ön tanısı olan hastalarda belirlenmiş genlerden oluşan panellerle de tanısal çalışmalar yapılmaktadır. WES analizi kapsamında tartışılan akrabalık yüzdesi, aile öyküsünün olması, hastalığın klinik şiddeti gibi hasta karakteristikleri yanında yapısal mutasyonlar açısından ek olarak uygulanan CNV analizleri ölçüsünde, WES'te olduğu gibi, gen paneli tanı oranları %14- %70 gibi geniş bir aralıkta bildirilmiştir (132,133). Panel çalışmalarındaki tanı oranlarının heterojen dağılımına, WES'teki gerekçelere ek olarak, dahil edilen genlerin birbirinden farklı olabilmesi ve farklı sayıda genler içermeleri de katkı sağlamaktadır. Tanı oranlarının ötesinde, literatür verileri ve bu çalışmadaki İSDK moleküler tanısı koyulabilmiş hasta sonuçları bütüncül klinik yaklaşım ve genetik bakış açısıyla irdelenerek, İSDK ön tanı hastaların tanısında WES analizinin kısıtlı gen panellerine tercih edilmesi akla uygun bir şekilde gerekçelendirilebilir.



## **WES / Panel Maliyetleri**

**Maliyetleri** açısından panel çalışmalarıyla kıyaslanabilse de giderek azalan maliyetiyle WES analizi klinik tanı uygulamalarında yaygın olarak kullanıma girmiştir. Yeni nesil dizileme teknolojileriyle tanı alan hasta sayısı hızla artsa da literatür verileri ve çalışma sonuçlarımız hastaların yarısından fazlasının, WES analizlerine ilave edilen CNV analizleri, array CGH yöntemlerine rağmen hala tanı almamış olduğunu göstermektedir. Bu durum kısıtlı gen panelleriyle daha belirginleşirken tanı alamayan %70 hasta grubu için maliyetler öne sürülerek ilk etapta uygulanmamış olan WES analizi yapma gerekliliği toplam maliyeti artıran bir sonuç doğurmaktadır. Biyoinformatik işlemlerle NGS datasından elde edilebilen CNV analizi ve mozaiklik tespit edilmesinin gerektirdiği okuma sayısı ve derinliği panellerde daha fazla sağlanabilse de diğer tüm avantajlarının yanında WES ile elde edilen okuma sayıları ve kapsanmışlık oranları da CNV analizi yapma olanağı vermektedir.

## **WES analizinde güncel literatür verilerinin göz önüne alınabilmesi**

Erişilebilirliği ve maliyetindeki düşüşlerle, tek gen kusurlarından kaynaklandığı ön görülen tanı koyulamamış İSDK vakalarının moleküler etiyojisini açıklığa kavuşturmak için NGS teknolojisinin verimli bir şekilde uygulanmasıyla özellikle son on yılda İSDK ilişkili bilinen gen sayısı ikiye katlanmıştır (1, 134). Çalışmamızda olduğu kadar literatürdeki bildirimlerde de İSDK ön tanılı hastaların yarısından fazlasının henüz tanı alamamış olması, ileri dizileme teknolojileriyle novel genlerin ve bilinen genlerle ilişkilendirilecek yeni İSDK'ların artışı hızla devam ettireceğini düşündürmektedir. Heterojen fenotip ve genotip özellikleriyle birlikte patogenezdaki novel genlerin bu non-lineer artışı, kesin tanı koymada esas teşkil eden dinamik bir moleküler analizi de zorunlu kılmaktadır. Bu açıdan, yapılan analizlerle İSDK tanısının mümkün olan en fazla sayıda hastada konulabilmesi literatürdeki güncel çalışmalardan kaydedilen yeni tanımlanmış ilişkili tüm novel genlerin değerlendirilmesiyle sağlanabilir.

IUIS başta olmak üzere bazı kuruluşlar İSDK ile ilişkilendirilmiş genlerin fenotip ve genotip özelliklerini belirli aralıklarla yayınlamaktadır. Son kapsamlı bildirimini 2019'da yapan IUIS, 2021 Şubat ayında son 2 yıl içinde yeni keşfedilen gen veya mutasyon mekanizmalarını yayınlamıştır (134). Paneller bu bildirimler

kapsamında güncellenmeye çalışılsa da NGS sayesinde gün be gün keşfedilen yenilikler karşısında benzer hastalık grupları için bile birbirinden farklı içerik ve sayıdaki bilinen genlerden oluşturulan panellerinin bu dinamizmi yakalayamayacağı ön görülebilir.

### **Güncel literatür verileri ışığında WES analiziyle tanı koyulan Hasta H69**

Güncel bilimsel verileri analiz süreçlerinde değerlendirebilme fırsatı veren protein kodlayan tüm bölgeleri hedefleyen yaklaşımla, benzer klinik sonuçlar doğurabilen genotiplerin tamamının aynı zamanda kıyaslanarak değerlendirilebilmesiyle hasta kliniğini en fazla açıklayıcı olanın diğerlerinden ayırt edilmesi yani doğru moleküler tanının koyulması da sağlanabilmektedir. Bu çalışmada H69’da WES analizinde c.3350A>C novel varyasyonu tespit edilen *TET2* geni WES uygulamasının bu avantajlarını açık bir şekilde örneklendirebilir. 2020 yılında Spegarova ve ark tarafından İmmün Yetmezlik 75 ile ilişkilendirilen *TET2* geni 2021 IUSI kısıtlı güncellemesinde de yer almıştır (134,135). Ticari olarak sunulan ve henüz *TET2* genini içermeyen panellerle tespit edilemeyecek olan missense c.3350A>C mutasyonu WES uygulamasının kapsam alanı avantajı ve güncel literatür verilerinin takip edilmesiyle tespit edilebilmiştir.

Uzamış sarılık, sık enfeksiyon geçirme, ateş, kanlı ishal öyküsü olan 0,72 yaşındaki H69’un kilo alımının yetersiz olması ve 6.ay sonrası tekraren bakılan antikor düzeylerinde hipogamaglobulinemi tespit edilmesiyle İSDK ön tanısıyla uygulanan WES sonucunda Spegarova’nın tanımlamış olduğu lenfoproliferatif hastalık ilişkili *TET2* geninde homozigot novel c.3350A>C missense mutasyonu tespit edilmiştir. Sanger dizileme ile doğrulanan varyasyon, segregasyon analizi yapılarak hastanın anne ve babasında taşıyıcılık tespit edilmiştir.

Epigenetik düzenleyiciler ailesinin üyesi olan *TET2*’nin dahil olduğu TET (Ten-Eleven Translocation metilsitozin dioksijenaz) proteinleri genomda önemli bir epigenetik modifikasyon gerçekleştirir. Aktif DNA metilasyonu sürecinde 5-metilsitozini (5mC) 5-hidroksimetilsitozine (5hmC) ve oksidasyon ürünlerine dönüştürür. Histon modifiye edici enzimler ve transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girerek farklı epigenetik etkiler de oluşturur. *TET2* proteini böylece yerel kromatin ortamını şekillendirerek özellikle aktif “enhancer” ve hücre tipine özgü regülatör bölgelere, hematopoezde yer alan ana transkripsiyon faktörlerinin erişimini etkiler

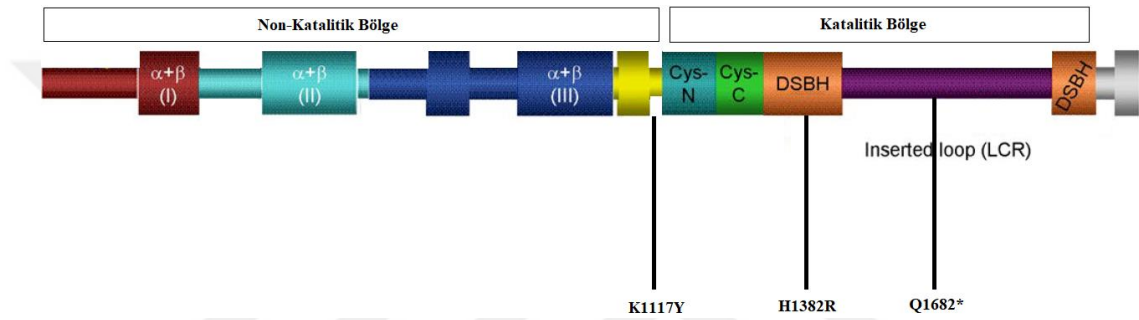
(136) Hematopoietik kök hücrelerde yüksek ekspresyon düzeyiyle kök hücrelerin kendini yenilemesi, dönüşümü ve monositlerin farklılaşmasının düzenlenmesinde görev alır (137). Hayvan deneylerinde bu proteinin inaktivasyonunun miyeloproliferasyon, monositoz, splenomegali, miyeloproliferatif hastalıklar ve lenfomaya neden olabileceği öngörülmüştür (138-139). Spegarova ve ark 2020’de yayınladıkları çalışmalarında ise farklı 2 aileden 3 hastada (P1-P3) uyguladıkları WES analizi sonucunda bir missense ve bir nonsense varyasyon tespit ettikleri epigenetik düzenleyici *TET2* geninde otozomal resesif kalıtım paterniyle lenfoproliferatif bir hastalık tanımlamışlardır. Daha önce myeloproliferatif hastalıklarla ilişkisi bildirilen *TET2* geninde meydana gelen fonksiyon kaybettiren biallelik mutasyonların hastalarındaki kombine immün yetmezlik, otoimmünite ve çocukluk lenfoması ile ilişkisini yaptıkları fonksiyonel çalışmalarla belirlemişlerdir (135).

Spegarova’nın bildirdiği hastalara (P1, P2, P3) benzer şekilde sık üst solunum yolu enfeksiyonu öyküsü olan H69, yüksek ateş ve kanlı ishal şikâyetiyle ilk defa klinik başvurusunu yaptığında öncelikle Meckel divertikülü dışlandıktan sonra tüm vücut sıvılarından alınan kültür sonuçları negatif gelmesiyle ampirik antibiyotik tedavisi uygulanmıştır. Taburculuk sonrası, Spegarova’nın hastalarında da bildirilen kilo alımında yetersizlik nedeniyle başlanan takviye edici mamaların kullanımı sonrası, P3’te bildirilmiş olan yumuşak gayta çıkarma şikâyetleriyle ara ara başvurmuştur. 6.ayı sonrasında yapılan aralıklı tetkiklerinde hipogamaglobulinemisi nedeniyle IVIg başlanmıştır. Spegarova’nın hasta grubuna benzer şekilde H69’da 6.ay sonrası IgM düşüklüğü başta olmak üzere IgG ve IgA düzeyleri de düşük tespit edilmiştir. Lenfosit alt gruplarına yönelik incelemeleri genel olarak normal görünen hastada genetik testler sonrasında tekrar bakılan lenfosit immünofenotiplemede, Spegarova’nın hastalarında da bildirilen, lenfoproliferatif hastalıklarda izlenen double negatif (CD3+CD4-CD8-) T hücre (%2,5) oranı artışı görülmüştür.

H69’un, Spegarova’nın çalışmasından farklı olarak, nötropenisi de varken hepatosplenomegali (HSM) ve lenfadenopati (LAP) gibi lenfoproliferasyonu gösteren bulgular henüz yoktu. Spegarova otoimmün ve lenfoproliferatif özelliklerin hastalarında yaklaşık 18.aydan itibaren başladığını bildirmiştir. H69’un şu anda 10 aylık olması bu bulguların henüz ortaya çıkmamış olabileceğini düşündürmektedir (135). *TET2* proteinin fonksiyonu, primer yapısı, tespit edilen varyantın yapı

üzerindeki lokalizasyonu, amino asit değişimiyle oluşan sekonder ve tersiyer yapıdaki farklılar açısından, H69'a ait klinik özellikler literatür verileriyle birlikte tartışılarak varyantın klinik özelliklerle nedenselliği belirlenmeye çalışılacaktır.

TET2 proteini enzimatik olarak aktif olan katalitik bölge ve enzim fonksiyonu olmayan non-katalitik bölgelerden oluşur (Şekil 14). C-terminal katalitik alanı 1129. ve 1936. amino asit rezidüleri arasında yer alır ve sistein açısından zengin çift sarmallı bir  $\beta$  sarmal, Fe (II) ve  $\alpha$ -ketoglutarat için bağlanma alanları ve daha az karmaşık yapıda bağlayıcı bölgelerden oluşur (140,141).



Şekil 14. TET2 Protein Yapısı (141)

Proteinin DNA'ya bağlanmasını sağlayan katalitik bölge 5mC'den 5hmC'ye oksidasyonu sağlamaktadır (142,143). Tespit edilen missense mutasyonlar ve inframe delesyonlar proteinin daha çok katalitik alanında, nonsense ve frameshift mutasyonlar ise daha çok non-katalitik alanda olmakla birlikte, tüm kodlama bölgesi boyunca meydana geldiği tespit edilmiştir (142,144-145).

Spegarova, P1 ve P2 hastalarında bildirmiş olduğu c. 4145A>G missense varyantıyla ortaya çıkan p.H1382R değişimi ve P3'te tespit ettikleri erken stop kodon oluşturan nonsense c.4894C>T mutasyonu ile oluşan p.Q1632\* değişiminin TET2 proteinin yaklaşık olarak belirlenen katalitik bölgesinde gerçekleşmiş olmasıyla bu varyasyonların hastalığa neden olduğunu öngörmüştür. Bu öngörüsünü yaptıkları fonksiyonel çalışmalarla da doğrulandığını bildirmişlerdir (135). Çalışmamızda H69'da tespit edilen K1117Y değişimi, TET2'nin enzimatik etkinliği olmayan fakat önemli işlevlere sahip olduğu öngörülen non-katalitik alanda tespit edilmiştir. Literatüre bakıldığında bu öngörüü makul şekilde örneklendiren çalışmaların olduğu görülmüştür.

Bussaglia ve ark TET2 proteinin yapısal ve fonksiyonel özellikleriyle ilgili

çalışmalarında, enzimatik aktif bölgeyi oluşturan katalitik alanın hemen öncesinde K1117 bölgesini de içeren, evrimsel olarak nispeten korunmuş Ala1045-Pro1131 bölgesi ile katalitik alan sonrasını oluşturan Lys1924-Ile2002 non-katalitik protein bölgelerinin enzimatik aktiviteyle ilgili olabileceğini öngörmüşlerdir (169). Çalışmalarında E.coli bakterisinden yüksek verimlilikle rekombinant olarak ürettikleri bu bölgelerin fizyolojik şartlarda çözünebilir olduğunu tespit ederek bu bölgeleri degradasyona uğramadan bütünlük içinde pürifiye edebilmişlerdir. Bu özellikleriyle Ala1045-Pro1131 ile Lys1924-Ile2002 bölgelerinin, proteinin 3 boyutlu yapısında görev alan iyi katlanmış globuler yapılar oluşturabildikleri ve böylece protein fonksiyonlarında etkin olabilecekleri değerlendirilmiştir (141). Bussaglia'nın çalışmasıyla, H69'da tespit edilen K1117Y gibi nispeten korunmuş bölgelerin tersiyer protein yapısına etki ederek fonksiyonel sonuçlara neden olabileceği düşünülmüştür.

Ito ve ark, TET2 katalitik bölge mutasyonu olan farelerde enzimatik fonksiyon kaybı sonucunda genellikle myeloid hücre serisi aberasyonlarının ortaya çıktığını, katalitik ve non-katalitik tüm bölgelerle protein ekspresyonunu kaybeden knockout farelerdeyse myeloid hücrelerle birlikte lenfoid hücre serisi bozukluklarının da oluştuğunu bildirdikleri çalışmalarında, non-katalitik bölgenin lenfopoezis regülasyonu ve lenfomagenesis süpresyonundaki muhtemel fonksiyonunu öne sürmüşlerdir. Normal TET2 yapı ve fonksiyonları olan farelerde ortalama yaşam süresinin 2 yıldan fazla olduğu çalışmalarında, splenomegali ve lenfadenomegali gibi organomegali bulgularının yaşamın 10.ayından itibaren belirginleştiğini bildirmişlerdir (146). Bu veriler, Spegarova'nın çalışmasındaki hastalarda 18. ayından sonra belirginleşen hepatosplenomegali ve lenfadenopati mevcutken son değerlendirilmesinde 10 aylık olan H69'da henüz organomegali olmamasını anlamlandırmıştır. Ito'nun çalışmasında daha çok non-katalitik bölge mutasyonlarına atfedilen lenfoma ve lenforoliferatif hastalıkların H69'da henüz gelişmemesine rağmen Spegarova'nın katalitik bölge mutasyonlu hastalarında takiplerde tespit edilmesi hayvan çalışmaları sonuçlarıyla doğrudan analogi kurulamayabileceğini ama hastamızın lenfomagenesis riski açısından yine de sıkı takip edilmesi gerektiğini düşündürmüştür (135,141).

Ito çalışmasında hematopoietik hücrelerle ilişkili gen ekspresyonu düzeylerini

de karşılaştırmıştır. Katalitik bölge mutasyonlulara kıyasla TET2 proteinin hiç üretilmediği grupta, nötropeni dahil olmak üzere hematolojik hastalıklarla ilişkili *GATA2* gen ekspresyonu düşüklüğünü non-katalitik bölge fonksiyonu kaybıyla ilişkilendirmiştir. *GATA2* ekspresyon kaybının fenotipik özelliklerin ortaya çıkmasına olasılıkla katkı sağladığını da bildirmiştir (141). Ortaya çıkan bu sonuç, Spegarova'nın katalitik bölge mutasyonlu hastalarında nötropeni yokken, TET2 non-katalitik bölge mutasyonlu H69'da nötropeni olmasıyla korelasyon göstermektedir. H69'da nötropeniye neden olabilecek başka bir gende mutasyon olmaması bu korelasyonun nedensellik içerebileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmanın, katalitik alan dışında kalan bölgelerin yokluğunda farklı fenotipik özelliklerin meydana geldiğini ortaya koyması, proteinin tüm primer yapısı boyunca oluşacak mutasyonların hastalık yapabileceğini düşündürmüştür.

H69'da saptanan p.K1117T dönüşümünde, alfa heliks yapısı oluşturan ve beta sarmal kırıcı etkisi olan polar bazik lizin aminoasitinin yerini alfa yapıya karşı kayıtsız olmakla birlikte aksine beta sarmal yapısına katılma eğilimindeki nötral bir aminoasit olan tirozine bırakmış olmasıyla meydana gelebilecek sekonder yapı farklılıklarının da protein fonksiyonunu etkileyebileceği düşünülebilir. CADD skoru 24,5 olan novel c.3350A>C missense mutasyonunun neden olduğu K1117T değişimi in siliko tahmin araçlarından Polyphen-2 ile 0,997 ve HumVar ile 0,91 skoru ile muhtemelen patojenik olarak değerlendirilmiştir. H69'da saptanan c.3350A>C varyantı karşıladığı ACMG kriterleriyle klinik önemi belirsiz değişiklik olarak değerlendirilmişse de miyeloproliferatif hastalıklarda daha uzun süredir çalışılmakta olan *TET2* geni kodlayıcı alanlarındaki bildirilmiş mutasyonların türü ve pozisyonuna bakılmaksızın inaktive edici mutasyonlar olabildiği görülmektedir (142,144-145). Amino asit değişiminin oluşturduğu biyokimyasal farklılıklar ve in siliko tahmin araçlarının skorlarıyla hastalık yapıcı potansiyeli olabileceği anlaşılan novel K1117Y varyantının H69'un klinik özellikleriyle nedensellik durumu, Spegarova'nın bildirdiği hastalara ait klinik özellikler ve Ito'nun çalışma verileriyle birlikte değerlendirildiğinde, belirginleşmektedir.

Allojenik hematopoietik kök hücre nakli sonrası, Spegarova tüm hastalarda otolog T lenfosit rekonstitüsyonu sağlandığını bildirmiştir. Takipleri boyunca, P1'de EBV+ Hodgkin lenfoma benzeri polimorfik B hücreli lenfoproliferasyon, P2'de T

hücreli lenfoma ve P3'te ise mediastinal büyük B hücreli lenfoma tespit edilmiş olan Spegarova'nın hastalarından (135) farklı olarak henüz lenfoproliferasyon ve lenfoma tabloları gelişmemiş olan H69'da İSDK ilişkisi yeni tanımlanmış *TET2* genindeki novel bir mutasyonun WES analizi sayesinde tespit edilebilmesiyle gerekli tedavi ve takipler planlamaların yapılabilmiştir. Aynı zamanda monoalelik *TET2* değişikliklerinin sıklıkla miyeloproliferatif hastalarda pozitif korelasyonla çalışılmış olması nedeniyle taşıyıcı olan ebeveynler de gerekli takipler açısından bilgilendirilerek ilgili kliniklere yönlendirilmesi sağlanmıştır.

#### **Akraba evlilik oranı yüksek olan toplumlardaki hastalarda WES analizinin avantajı**

NGS analizi sonuçlarını derleyen bir çalışmada, kohort verileri birleştirildiğinde, tüm NGS yöntemleriyle tanı oranı, akrabalık oranı yüksek olan topluluklarda %55 civarındayken, akrabalık oranı düşük topluluklarda yapılan çalışmalarda %20 civarında olduğu bulunmuştur (147). **Çalışmamızda** ebeveyn akrabalığı olan hastalardaki WES tanı oranının %37, ebeveyn akrabalığı olmayan hastalardaki tanı oranının %26 olması ve derleme sonuçları akrabalık oranının yüksek olduğu toplumlarda daha yüksek WES tanı oranlarının elde edilebileceğini göstermektedir (1). Akraba ailelerde ulaşılan daha yüksek tanı oranının yanı sıra, WES ve WGS'nin tüm genom boyunca veri oluşturabilmeleri sayesinde homozigotluk haritalaması da yapılarak resesif paternli aday genlerin potansiyel lokasyonun belirlenebilmesi de sağlanabilmektedir. Tüm varyasyonların her iki alelde de eş olduğu bölgelerin tespit edilmesiyle bu bölgelerin homozigot olduğu tahminine dayanan homozigotluk haritalaması ile tüm genom boyunca resesif kalıtım paterniyle olan hastalık yapıcı aday bölgeler tespit edilebilmektedir (148). Bu bakış açısıyla özellikle akrabalık oranları yüksek popülasyonlarda tanı koyma ve bilimsel araştırmalar için kısıtlı bütçeler ayırabilen ülkemizde aday gen bulma çalışmalarına yön verebilme potansiyeliyle, klinik tanı laboratuvarlarında genom boyu veri sağlayan çalışmaları öne çıkartmaktadır.

#### **WES verilerinin tekrar analiz edilebilirliği ve kodlamayan genomik bölgelerin hastalık yapıcı potansiyeli; Hasta H3**

Tanı koyulamayan hastalarda WES verilerinin, güncellenmiş bir planla yeniden analiz edilmesiyle yeni tanılarının koyulabilmesini sağlanabilmektedir. Wright

ve ark nörogelişimsel bozuklukları olan çocuklarda uygulamış oldukları WES'in oluşturduğu verileri, geliştirilmiş varyant çağırma metodolojileri, yeni varyant algılama algoritmaları, güncellenmiş varyant anotasyonu, kanıta dayalı filtreleme stratejileri ve yeni keşfedilen hastalıklarla ilişkili genleri kullanarak yeniden analiz etmeleri sonucunda %27 olan tanı oranının %40'a yükseldiğini bildirmişlerdir (149). Yeni tanı alan 182 (%13) hastada tespit edilen mutasyonların %69'unun yeni tanımlanmış genlerde, %23'ünün ise güncellenmiş anotasyon ve varyant filtreleme eşikleri gibi iyileştirilmiş metodoloji sayesinde bilinen genlerde tespit edildiğini bildirmişlerdir (149). Bildirilen hasta grubu İSDK'dan farklı olsa da İSDK ile ilişkilendirilen novel genlerin de son on yılda yaklaşık 2 katına çıkarak 400'ü aşması ve yeni bildirilen genlerin özellikle son 5 yılda tespit edilmiş olması tüm ekzonik alanları dizileyerek tüm genom çerçevesinde analiz yapmanın sağlayacağı avantajı belirginleştirmektedir (1, 129).

WES uygulaması hastalarda moleküler tanı koyulma sürecini uygulama zamanından bağımsız umut veren prospektif bir sürece dönüştürmektedir. Tanı koyulamayan bir grup hastada yeniden analizler yaparak tanı koyulabilmesi WES'in klinik tanı laboratuvarlarındaki potansiyelini gösterirken hala tanı koyulamayan hastaların çoğunluğu oluşturması önümüzdeki yıllarda novel genlerin tespit edilmeye devam edeceğini düşündürmektedir. Öte yandan protein kodlamadığı için WES uygulamasının sınırları dışında kalan fakat regülatör etkileri olabilmesiyle monogenik hastalıklara yol açabilecek bazı genomik bölgelerin son yıllarda bildirilmesi (*RNU12*, *RNU4ATAC* vb.), maliyeti, analizini zorlaştıran veri miktarının fazlalığı ve WES'e göre şimdilik aşikâr tanısal oran artışı sağlamamış olmasının gölgesinde kalan, tüm genomik bölgeyi dizileyen WGS'nin klinik tanı laboratuvarlarında uygulanabilmesi beklentisi giderek artmaktadır (150).

Çalışmamızda WES verilerinin tekrar analizi edilmesiyle tanısı koyulan H3, mevcut WES verisinin yeniden analiz edilmesi ve kodlamayan regülatör bölgelerin monogenik hastalıklar açısından değerlendirilmesi hedeflerini çarpıcı bir şekilde örneklendirmektedir. Hedeflenmiş gen panellerinin ve WES kitlerinin önemli bir kısmının H3'te saptanan *RNU4ATAC* gibi protein kodlamayan istisnai genomik bölgeleri içermemesine rağmen kullandığımız WES kitinin bu bölgeyi kapsamıyla %54 genotip kalitesiyle varyasyon tespit edilebilmiştir. Literatüre baktığımızda



bildirilen vakaların çoğunun WGS analizi sonucunda geriye kalanlarınsa long-read dizileme ve bizim vakamızda olduğu gibi WES analizi sonucunda ortaya konduğu görülmüştür (150).

Hipogamaglobulinemisi ve B hücre düşüklüğü olması nedeniyle dizilenen *BTK* geni analizi normal sonuçlanan H3'te, IVIg tedavisiyle takipteyken sık enfeksiyon geçirmesi ve hipogamaglobulinemisinde düzelme olmaması nedeniyle İSDK ön tanısıyla WES analizi yapılmıştı. İlk analiz sonucunda kliniğini açıklayabilecek varyant tespit edilemeyen hastanın immünolojik özelliklerine eşlik eden dismorfik bulgularının ve konuşma geriliğinin belirginleşmesiyle mevcut verilerle WES analizinin tekrar yapılması planlanmıştır.

Bazı genlerdeki heterozigot nadir varyantların bileşik heterozigotluk oluşturduğu daha sık görülen bir diğer heterozigot varyantla klinik ortaya çıkarabilmesi nedeniyle (151), öncelikle popülasyon frekans eşikleri 0,01'den 0,1'e yükseltilerek belirlenen gen heterozigotlukları araştırılmış fakat anlamlı varyantalara ulaşamamasıyla popülasyon frekans eşiği tekrar 0,01'e getirilerek, nadir UTR bölgeleri ve noncoding ekzonik bölgeler analiz kapsamına dâhil edilmişti. Noncoding ekzonik bölgeler de dahil edilerek yapılan analizde, klinik, immünolojik ve dismorfik özellikleriyle klinik anotasyonu yapılarak, Roifman Sendromu ile ilişkili *RNU4ATAC* geninde daha önce bildirilmemiş homozigot novel n.6T>A (NR\_023343.1) varyantı tespit edilmiştir.

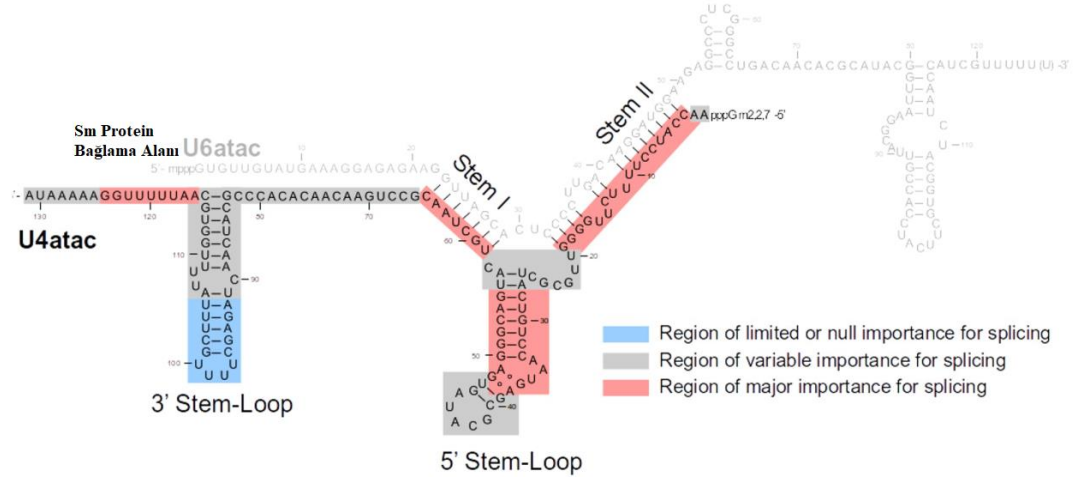
Sık enfeksiyon geçirme (otitis media/pnömoni), egzama, besin alerjisi ile başvuran ve bilişsel yetersizlik, gecikmiş konuşma, mikrosefali (baş çevre SDS:-2,28), retina distrofisi, kısa gövde (boy SDS: -0,98), uzun filtrum, uzun palpebral fissur, uzun ve belirgin kirpikler, topuz burun, ince üst dudak, hiperkonveks tırnaklar, proksimal femur displazisi, 1 cm sol bacak kısalığı ile arada sırada topallayarak yürüme öyküsü olan hastada uyguladığımız WES analizi sonucunda tespit edilen n.6T>A homozigot varyantı için hasta, anne-baba ve bir kız kardeşine Sanger dizileme yapılarak hastadaki varyant teyit edilirken anne, baba ve kardeşteki taşıyıcılık ortaya konmuştu.

Büyük bölümünü protein kodlamayan intronik alanların oluşturduğu genomik bilginin fonksiyonel etki gösteren proteinlere dönüşümü sırasında DNA'dan ilk etapta transkribe olan pre-mRNA'nın protein kodlamayan intronik bölgelerinin kesilerek

kodlayan ekzonik bölgelerin birleştirilmesi aşamasını tanımlayan splicing işlemi fonksiyonel açıdan büyük önem arz etmektedir. Protein kodlayan 20.000'den fazla genin yaklaşık olarak %97'sinin en az bir intron içermesi bunun kanıtı olarak düşünülebilir. Doğru yerden kesme işleminin yapılabilmesi için birçok proteinle birlikte intron-ekzon bileşkelerindeki splicing bölgeleriyle komplementer olmasıyla bu bölgeleri tanıyan 200 nükleotitten daha kısa diziye sahip RNA molekülleri görevlidir. Bu moleküller snRNA (small nuclear RNA; küçük nükleer RNA) olarak bilinirler ve U1, U2, U4, U5, U6, U11 ve U12 şeklinde isimlendirilen tipleri vardır. snRNA molekülleri en az 7 protein subünitle birleşerek splicing aracı diyebileceğimiz splicezom kompleksinin çekirdeği olan snRNP'leri (small nuclear ribonucleoprotein) oluştururlar (152-155).

Pre-mRNA intronlarının büyük çoğunluğu (majör grup) 5' ve 3' uçları için sırasıyla GT-AG nükleotid kuralına uyarken intronların çok az bir kısmı (minör grup) bu uçlar için splice hattında sırasıyla AT ve AC nükleotitlerini bulundurur. Aslında oldukça homolog olan, özgünlüklerini splicing bölgelerindeki bu dizi farklılıklarından ve farklı snRNA gruplarıyla çalışmasından alan iki tür splicezom vardır. Bunlar U1, U2, U4 ve U6 snRNA ile çalışan ve U1-tip majör intronlar için olan majör spliceozomlar ve U11, U12, **U4atac** ve **U6atac** snRNA ile çalışan ve U-12 tip minör intronlar için çalışan minör splicezomlardır. Toplam intron sayısının %1'inden daha azınının splicinginde yer alan minor splicezomlar, yaklaşık 700 gendeki 800 civarındaki minor intronunun splicinginde görevlidir (152,156).

Bazı snRNA molekülleri karşılıklı baz eşleşmesiyle sekonder yapı oluşturarak fonksiyonel splicezom yapısında bulunurlar. Vakamızda varyasyon tespit ettiğimiz **RNU4ATAC** geninin transkribe olduğu **U4atac** snRNA molekülü ile **RNU6ATAC** geninden transkribe olan **U6atac** snRNA molekülü baz eşleşmesiyle bimoleküler sekonder yapı oluşturarak splicezom yapısında bulunurlar. Bu yapı oluşurken U4atac snRNA bazlarının kendi içinde eşleşmesiyle 3'Stem loop ve 5'Stem Loop şeklinde 3' ve 5' uçlarında U4atac kıvrımları meydana gelir. Bu iki iç kıvrım U4atac yapısını 3 bölgeye ayırır (Şekil 15); Sm protein bağlayan bölge, Stem I ve Stem II bölgesi (157-158).



Şekil 15. U4atac ve U6atac moleküllerinin oluşturduğu bimoleküler spliceosome yapısı (158)

Protein kodlamayan tek ekzonunun transkribe olmasıyla minör splicezom bileşeni olan U4atac snRNA'yı oluşturan *RNU4ATAC* geni varyasyonları hem toplum frekansları açısından nadir hem de kodlamayan bir genle ortaya çıkması açısından istisnai olan otozomal resesif kalıtım paternine sahip monogenik hastalıklara yol açar. Bunlar farklı klinik özellikleri ve şiddetiyle birbirinden ayrılan MOPD1 (Mikrosefalik osteodisplastik primoriyal dwarfizm tip 1), Lowry-Wood Sendromu ve Roifman Sendromu'dur.

Literatüre bakıldığında U4atac/U6atac snRNP bimolekül yapısının esas olarak 3 önemli bölgedeki varyantların burada bahsedilen hastalıklara yol açtığı görülmektedir. Şimdiye dek hastalarda tespit edilen birbirinden farklı toplam 30 varyant (homozigot veya heterozigot) vardır. Bunlar, 5' Stem loop bölgesinde 12 varyant, Stem II bölgesinde 7 varyant, Sm protein bağlayan bölgede 7 varyant, Stem I bölgesinin 3'tarafında 3 varyant ve aslında herhangi bir proteinle etkileşime girdiği bilinmeyen 3' Stem loop bölgesinde 1 varyant olacak şekilde dağılmıştır. Bildirilen vakalarının klinik fenotipleriyle genotip lokasyonları karşılaştırıldığında 5'Stem Loop bölgesindeki varyasyonların esas olarak nörolojik bulgu ve şikâyetlerin daha fazla ve ağır seyretmesiyle RS ve LWS'den ayrılan MOPD1' e neden olduğu, **Stem II** bölgesindeki varyasyonların, **bizim vakamızda da olduğu üzere** immünolojik kusurların, dismorfik fasyal bulguların sıklıkla bulunduğu ve literatürde bildirilen vakalarla kıyaslandığında diğer bölgelerdeki varyantların ortaya çıkardığı klinikten daha hafif bir klinikle ilişkili olduğu görünen **Roifman Sendromuna** yol açtığı görülmektedir (150).

Sendrom ilk olarak 1999 yılında Roifman tarafından bildirilmiştir (159). Merico ve ark., 2015 yılında *RNU4ATAC*'daki patojenik tek nükleotid varyantlarının (SNV'ler) bileşik heterozigotluğunun Roifman Sendromuna neden olduğunu belirlemiştir (160). Bugüne kadar toplam 11 aileden 15 RS'li hasta bildirilmiştir (160-165). Bizim vakamızda olduğu gibi homozigot olarak bildirilen sadece 2 hasta olduğu ve onların da Stem II bölgesindeki birbiriyle aynı varyasyona (n.16 G>A) sahip olduğu görülmektedir (161-162). 16. vaka olarak tıp literatürüne bildirdiğimiz hastamızda RS hastalarının tamamında bildirilen fakat MOPD1 vakalarında neredeyse hiç bildirilmediği görülen immünolojik kusurların yanı sıra RS hastalarında sıklıkla bildirilen gelişim geriliği, mikrosefali (-2,28 SDS), gövde kısalığı (boy SDS:-0,98), uzun palpebral fissür, uzun belirgin kirpikler, dar burun, kalkık burun, uzun filtrum, ince üst dudak, hiperkonveks tırnaklar, brakidaktili, proksimal femur epifizer displazinin yanında önceki vakaların bazılarında bildirilmemiş olan retinal distrofi, egzama ve atopik dermatit mevcutken daha önce bildirilmiş vakaların yarısına yakınında bildirilen hepatosplenomegali hastamızda mevcut değildi (160-165). Günümüze kadar homozigot olarak birbirinden farklı merkezlerce n.16 G>A pozisyonuyla bildirilen bağımsız iki hastadan Schejter'in bildirdiği hastada HSM yokken, Heremans'ın aynı varyantla bildirdiği hastada HSM olması HSM'nin primer bulgulara sekonder olarak bazı hastalarda ortaya çıkabilen bir bulgu olduğunu düşündürtebilir (161-162).

Protein kodlayan genler için varyant sınıflandırması klasik olarak varyant türü, in siliko değerlendirme araçlarının tahminleri veya türler arası korunmuşluk gibi temel kriterlerle değerlendirilirken, *RNU4ATAC* gibi protein kodlamayan genlerdeki özellikle novel varyantlar için bu yaklaşım yetersiz kalmaktadır. Bu açıdan hastamızda saptanan novel varyantın hastalık yapıcı olup olmadığını değerlendirmek için literatürdeki yakın genomik lokasyonda bildirilen vakalar incelendiğinde, Stem II bölgesindeki homozigot n.16 G>A varyantının RS kliniğiyle bildirildiği görülmektedir (161-162). Schejter ve ark Stem II bölgesinde, birinde homozigot diğerinde bileşik heterozigot olarak bildirdikleri 2 vakada RNA sekanslamayla minör intron retansiyonunu (birikmesi) değerlendirmişlerdir. Bu değerlendirme sonucunda ulaşılan veriler için kümele analizi yaparak Stem II bölgesindeki homozigot veya bileşik heterozigot olarak gerçekleşecek tüm varyantların klasik RS kliniğine yol açacağını

öngörmüşleridir (161) Stem II bölgesinde homozigot novel n.6 T>A varyantı saptanan H3'ün fenotipik özelliklerinin de RS kliniğiyle uygunluk göstermesi Schejter'in ön görüşünü desteklemektedir.

*RNU4ATAC* varyantlarının yorumlanmasıyla ilgili çalışmalarında Benoit-Pilven ve ark, protein eksenli ve sinonim olmayan varyantların değerlendirilmesinde uygulanan diğer in siliko araçların aksine, hem protein kodlayan hem de kodlamayan varyantları değerlendirebilecek şekilde yapılandırılmış CADD (Combined Annotation Dependent Depletion) sisteminin, varyant grupları arasında puan dağılımlarının karşılaştırılmasında daha anlamlı sonuçlar sağlayan CADD raw C-skorlamasıyla hastalarda tespit edilen 30 varyantın skorlarının 1.60 ve 2.39 aralığında olduğunu göstermişlerdir (150). Hastamızda tespit edilen n.6T>A varyantı için CADD raw C-skoru 1.70 (>1.60) idi. Bu değer tüm hasta varyantlarının raw C-skorları aralığında olması da hastalık yapıcı olduğunu pekiştirmektedir.

Bütüncül klinik ve genomik bakış açısıyla, infant döneminden itibaren farklı kliniklerde heterojen bulgularla takip edilen 4 yaşındaki hastaya WES analiziyle kodlamayan bir bölgede tespit edilen mutasyonla tanı koyulabilmesi, hastanın takibi ve tedavi planının doğru şekilde yönetilmesini sağlamıştır. Hastamızda tespit edilen bu sonuç genom çapında bilgi sağlayan dizileme yöntemlerinin hem tanı koymada hem de aday genlerin belirlenmesindeki potansiyelini vurgulayarak, WES ve tüm genom bölgelerini dizilemesiyle özellikle WGS'nin mevcut tedavilerin, önleyici genetik danışmanlığın ve giderek artan olasılıkla gen terapilerinin uygulanabilmesi açısından insan sağlığına hiç olmadığı kadar büyük katkı sağlayacağını düşündürmektedir.

### **WES analizinde “sekonder bulgu” “riski” ya da “avantajı”: Hasta H29**

**Rastlantısal bulgularla** karşılaşma riskinin daha az olması ve daha kolay analiz edilebilir miktarlarda veri oluşturmalarıyla klinik tanı merkezlerinde gen panelleri uygulanabilmektedir. WES uygulamasıysa, genom çerçevesinde sağladığı kapsamlı veriyle tanı alan hasta sayısını artırmaktadır. Tüm ekzonik alanların dizilenmesiyle tespit edilen klinik önemi belirsiz varyantlarının sayısı ve başvuru nedeniyle ilişkisi olmayan ancak hastalık yapıcı etkileri olan rastlantısal bulguların tespit edilme riski de artmaktadır. Bu bulguların hastaya bildirilmesi ve raporlanması, etik, sosyal ve yasal olarak bağlayıcı bazı sorumluluklar da getirmektedir. American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), testin birincil tıbbi nedeni ile

ilgisi olmayan fakat tedavilerin ve koruyucu uygulamaların klinik prognozu önemli ölçüde etkileyebileceği belirlenebilen hastalıklarla ilişkili genlerde tespit edilen sekonder varyantlardan patojenik ve muhtemelen patojenik olanların rapor edilmesini önermektedir (166). Çalışmamızda da İSDK ön tanısıyla başvuran bazı hastalarda sekonder bulgular tespit edilmiştir. Bu hastalardan, yaygın değişken immün yetmezlik (CVID) ön tanısıyla başvuran **H29**'da yapılan analizler sonucunda başvuru nedeniyle ilişkili olduğu düşünülen **TNFRSF13B** geni varyantıyla birlikte serebrotendinöz ksantomatozis (Cerebrotendinous xanthomatosis: CTX) hastalığıyla ilişkili **CYP27A1** geninde ACMG kriterlerine göre patojenik **c.646G>C** varyantı saptanmıştır. ACMG'nin 2016 yılında güncellediği raporlanması önerilen genler listesinde olmayan CYP27A1 genindeki mutasyonların serebrotendinöz ksantomatozis vakalarının muhtemelen tamamından sorumlu olduğu bildirilmiştir (166,167).

Serebrotendinöz ksantomatoz (CTX), otozomal resesif kalıtım paterniyle CYP27A1 genindeki hastalık yapıcı mutasyonlarla oluşan lipid metabolizması bozukluğudur. Hastalığın ilerlemesi safra asidi replasman tedavisi ile önlenabilir ancak ilerlemiş hastalığı olan hastalar tedaviye rağmen klinik progresyon gösterebilmektedir. Tedavi etkinliğinin önündeki en büyük engel tanısal gecikmelerdir. Klinik özelliklerin ortaya çıkmasını engelleyen ve erişkin dönem öncesinde ortaya çıkan nörolojik semptomların bazılarının iyileşmesini sağlayabilen tedavisinin olması nedeniyle CTX için farklı yöntemlerle toplum taramaları önerilmektedir (168). Önleyici tedavi olanakları, WES analizinde rastlantısal olarak CTX'e neden olduğu daha önce bildirilmiş bir mutasyonun tespit edilmesi sonucunda bildirilmesini gerekli kılmıştır. Klinik tablo erken çocukluk dönemindeki neredeyse asemptomatik evre ve ilerleyen yaşlardaki önemli nörolojik problemlerin görüldüğü evreden oluşmaktadır. İnfantil başlangıçlı ishal ve juvenil başlangıçlı katarakt çocukluk çağının en erken semptomlarıdır (168). CTX hastalarının yaklaşık %50'sinde bildirilen kronik ishal **5,7 yaşındaki H29**'da mevcutken, daha çok 10 yaşından sonra belirginleşen katarakt mevcut değildi. Tedavisine başlanan H29'un WES analizi sonuçları, genom boyu bilgi sağlayan dizileme yöntemlerinin gen panellerine tercih edilmesini bir kez daha savunulabilir kılmıştır.

Kusurlu immünoglobulin üretimi ile karakterize olan CVID, otoimmün, lenfoproliferatif ve granümatöz hastalıkların eşlik edebildiği immünite

kusurlarından oluşur. Çalışmamızda **H29** kliniğimize **CVID** ön tanısıyla başvurmuştu. IgG ve IgA'sının düşük olması sonucu tekrar eden tonsillit, konjonktivit, otit, pnömoni, diare; bir kez geçirilmiş aseptik menenjit ve enfeksiyonları esnasında gelişen dirençli ateşlerine sekonder sık febril konvülzyon öyküsüyle birlikte antibiyoterapi ve IVIg tedavisine rağmen kaybolmayan servikal ve mandibular lenfadenopati ve geçirilmiş otoimmün hemolitik anemi (antikorlu, komplemanlı ve direk coombs +) gibi otoimmünite düşündüren şikâyetleri ve bulgularıyla başvurmuştu. Uygulanan WES analizi sonucunda transmembran aktivatör, kalsiyum modülatör ve siklofilin ligand intrektör (TACI) proteinini kodyalan **TNFRSF13B** geninde **c.515G>A varyantı tespit edilmiştir**. ACMG kriterlerine göre **muhtemelen patojenik** olarak değerlendirilen varyant protein primer dizisinde **C172Y** değişikliğine neden olmaktadır. TACI defekti olan hasta örneklerinden elde edilen B hücrelerinin izotip dönüşümünü gerçekleştirmediği için **TNFRSF13B** genindeki mutasyonların CVID ve IgA eksikliğinin patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (169). TACI proteini, tüm periferik B hücreler ve aktive T hücre yüzeyinde bulunur. Proteinin hücre dışı bölgesi CRD1 (cysteine-rich domain:CRD) (34-66 aa) ve CRD2'den (69-109 aa) oluşur. Hücre içi sinyal molekülü CAML bağlanma bölgesi olan transmembran (TM) bölge ise 162 ila 212. aminoasitler arasında bulunur. CVID kliniğiyle en sık bildirilen değişimler olan **C104R** ligand bağlayan CRD2'de, **A181E** ise TM'de bulunmaktadır (170-172). H29'daki C172Y değişikliği proteinin TM bölgesinde bulunmaktadır (173). **TNFRSF13B** genindeki C172Y varyantı Zhang ve ark tarafından CVID'lı bir hastada monoalelik olarak bildirilmişse de hastanın CVID ilişkili diğer genlerdeki varyantlar için taranıp taranmadığı bilinmemektedir (173). Benzer şekilde aynı varyantla literatüre monoalelik **TNFRSF13B** ile ilişkili hastalar bildirilmiş olmakla birlikte, en az bir homozigot birey dahil olmak üzere popülasyon veritabanlarında (rs751216929) olduğu görülmüştür. Fonksiyonel çalışmalar C172Y varyantının hücre dışı ligandların bağlanmasını engellememesine veya protein yapısını kesintiye uğratmamasına rağmen TM bölgede sinyalizasyonu bozmasıyla C172Y varyantının NF-kB ve NFAT transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu önemli ölçüde azalttığını göstermektedir (174). Sinyalizasyonu bozulması sistein (C) ve tirozin (Y) aminoasitlerinin polarite, yük ve boyut farklılıklarıyla meydana gelen sekonder protein yapısı değişikliklerine bağlı olabilir.

Yapılan bir çalışmada, monoalelik TNFRSF13B mutasyonu olan hastaların normal genotipe sahip CVID hastalarına göre daha fazla lenadenopati, özellikle sitopeniler olmak üzere otoimmünite klinik özellikleri taşıdıkları değerlendirilmiştir. Sitopenilerin, C104R heterozigotluğu için daha çok ITP, C104R dışında kalan TNFRSF13B heterozigot varyantları için ön planda otoimmün hemolitik anemi olduğu görülmektedir (175). Çalışmamızda H29’da tespit edilen kronik lenfadenopati ve otoimmün hemolitik anemi literatürdeki verilerle uygunluk göstermekle birlikte sağlıklı insanlarda da hastalarda tespit edilen bazı heterozigot varyantların bildirilmesi, *TNFRSF13B*’nin hastalık mekanizmasında henüz tam olarak bilinmeyen bir “nedenler bütünü” bir parçası olduğunu düşündürmektedir. CVID moleküler temelleri ve tanısı, genom boyu yüksek verimli dizileme yapan yöntemlerin avantajıyla yapılacak daha çok çalışmaya ihtiyaç duymaktadır.

H29’da rastlantısal olarak tespit edilen CYP27A1 varyantı ve başvuru nedeniyle uyumluluk gösteren TNFRSF13B varyantının literatür bilgileri ışığında tartışılması, beklenen ve beklenmeyen fakat bildirilmesi gereken moleküler sonuçları doğuran WES analizinin avantajını açığa vurmaktadır.

### **İSDK tanısında Genetik testlerin önemi ve fenotip-genotip karmaşası olan hastalarda WES tercih etmemenin savunulabilirliği**

İSDK’lar, immün yanıt moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasını sağlayarak immünite ve tolerans arasındaki denge ve çalışma prensipleriyle ilgili yollara ışık tutmuştur. Yeni nesil dizileme stratejileri ve verilerinin yorumlanmasındaki gelişmelerse, hastaların moleküler tanılarla doğru tanımlanmasını ve tedavi edilmesini sağlamasının yanında belirlediği genomik hedeflere yönelik potansiyel tedavilerin de geliştirilmesini sağlaması açısından hastaların tetkik ve tedavisinde benzersiz bir olanak sağlamaktadır. Maliyetleri, genom çerçevesinde bilgi sağlaması, sağladığı bilgilerin gerektiğinde güncel verilerle yorumlanabilmesi ve aynı zamanda olası tüm varyasyonları değerlendirebilmeyi sağlayarak en çok ilişkili olanı seçebilmeyi kolaylaştırabilmesiyle WES analizinin, klinik özelliklerin hedef bir gen belirlemeye yetmediği İSDK hastalarında uygulanması bütüncül ve güncel bir tanısal yaklaşım sağlamıştır.



## 6. SONUÇ

İSDK ön tanısıyla başvuran hastalarda yapılan genetik test sonuçlarının ele alındığı çalışmamızda toplam 255 hastaya ait genetik analiz sonuçları incelenmiştir. Hastalığın patogenezi ortaya koymasıyla doğru tanı, takip ve tedaviyi mümkün kılan genetik yöntemlerden özellikle yeni nesil dizileme prensibiyle çalışan WES başta olmak üzere, yapılan testler sonucunda elde edilen tanı oranları literatüre bildirilmiş oranlarla kıyaslanarak aşağıdaki sonuçlar ve çıkarımlar elde edilmiştir.

**1. İmmünite kusurlarıyla birlikte sendromik/dismorfik bulgularıyla DiGeorge Sendromu düşündüren 9 hastada yapılan FISH analizi ile 3 (%33) hastada ilgili bölgede delesyon tespit edilerek DiGeorge Sendromu tanısı koyulmuştur.**

-Yeni nesil dizileme çağında, öncelikle yapısal mutasyonlarla ortaya çıkan İSDK fenotipi de bulunan ve özellikle orta hat defektleri olan hastalarda DiGeorge Sendromu akılda tutularak, tanıya yönelik FISH veya array CGH yöntemi göz ardı edilmemelidir.

**2. 206 hastada uygulanan tek gen dizi ve MLPA analizleri sonucunda 29 hastaya (%14) tanı konabilmiştir.**

**a. 29 hastanın 25'inde hedef genlerin dizilenmesiyle tespit edilen mutasyonlar sonucunda tanı konmuştur.**

-Farklı genlerdeki mutasyonların benzer klinik sonuçlar doğurması ve bazen de aynı gendeki mutasyonların farklı klinik sonuçlara neden olabilmesi İSDK'nın klinik tanısını güçleştirmektedir. Bu çalışmalarda tanı oranlarının nispeten düşük olması fenotip-genotip ilişkisinin birebir fonksiyon özelliği taşımamasıyla açıklanabilir. Bu sebeple hedef genlere yönelik analiz çalışmaları, ancak klinik özellikleri ve immünolojik parametreleriyle iyi tanımlanabilen immünite kusuru düşünülen hastalarda planlanmalıdır.

**b. FANCA geni dizi analizi yapılan 9 hastada mutasyon tespit edilemezken, tanı konulan toplam 29 hastadan 4'ünde FANCA geninde MLPA analiziyle delesyonlar tespit edilerek Fankoni anemisi tanısı konmuştur.**

-Çoğunlukla tüm gen dizi analizi sonucunda tespit edilen mutasyonlarla klinik özellikler ortaya çıkardığı bilinen FANCA geninde MLPA çalışmalarıyla delesyon tespit ederek Fankoni anemisi tanısı koymamız, Fankoni patogenezi yapısal

mutasyonların ve bunları tespit eden MLPA yönteminin göz ardı edilmemesini bir kez daha vurgulamıştır.

**3. Tek gen analizleriyle tanı koyulamayan 31 hasta ve doğrudan WES yapmaya karar verilen 40 hasta olmak üzere toplam 71 hastada uygulanan WES analizlerinde 71 hastanın 22'sinde (%31) klinik özelliklerini açıklayan ilgili genlerde mutasyon tespit edildi.**

-WES analizi tanı oranımız %31'ken literatüre bildirilen oranların ortalaması yaklaşık %38 idi. Tanı oranımızın ortalamadan düşük olmasını, daha yüksek tanı oranı bildiren çalışmalarda WES uygulama verileri kullanılarak gerçekleştirilen CNV analizleriyle sağlanan ilave tanılara ve klinik olarak iyi tanımlanmış hasta gruplarıyla yapılan çalışmalardaki yüksek tanı oranlarına bağlı olduğunu düşündük. %5 civarında ek tanı avantajı sağlayan CNV analizinin, İSDK veya diğer kalıtsal hastalıklar için uygulanan WES analiziyle birlikte yapılması gerektiği görülmektedir.

-Literatüre bakıldığında, İSDK ön tanısı olan hastalarda WES veya diğer NGS temelli uygulamaların yanı sıra yapılan CNV analizleri dışında SNP array çalışmalarıyla da yapısal mutasyonlar tespit edilerek tanı konduğu görülmektedir. Bu açıdan bu çalışmadaki tanı koyulamayan hastalar ve bundan sonra başvuracak hastalarında yapısal mutasyonlara yönelik olarak WES analizi verilerinden CNV analizi ve array CGH yapmayı planladık.

**4. İSDK hastalarında, protein kodlayan tüm ekzonların analiz edildiği WES'i tercih etmemizle, 2019'daki son IUIS sınıflamasında yer almayan, 2020 yılında "İmmün Yetmezlik 75" ile ilişkilendirilen *TET2* geninde klinikle ilişkili olduğunu düşündüğümüz bir varyant tespit ettik.**

-Genom boyu veri sağlayan WES/WGS uygulamaları sayesinde her geçen gün İSDK ve diğer kalıtsal hastalıklarla ilişkili yeni genlerin keşfedilmesi, bu hastalıkların moleküler tanısını test uygulanan dönemle kısıtlı statik bir uygulama olmaktan çıkartarak bütüncül klinik bakış açısı ve güncel literatür bilgilerinin takibini gerektiren dinamik ve prospektif bir süreç haline getirmiştir.

-Her geçen gün novel genlerin eklendiği İSDK patogenezi düşünüldüğünde, kısıtlı panellerin bu dinamizmi sağlayabilmesi mümkün görünmemektedir. Öte yandan maliyetleri açısından tercih edilebilen kısıtlı gen panelleriyle daha az oranda tanı

sağlanması sonucu tanı alamayan hastalar için WES planlanıyor olması ve giderek WES maliyetlerinin azalması da düşünüldüğünde hedef genlerin belirlenemediği İSDK hastalarında WES analizi yapmamızı makul şekilde gerekçelendirmiştir.

-Araştırma çalışmalarına kısıtlı bütçeler ayrılabilen ülkemizde, klinik tanı yanında yine biyoinformatik yazılımlarla homozigotluk haritalaması ve benzer klinik özellikleri olan hastaların verilerinin karşılaştırılması gibi analizlerin yapılabilmesini sağlayarak aday gen bulma çalışmaları için genom boyu veri sağlayabilen WES uygulaması tercih edilmelidir.

-Varyant analizi dizileme analizlerinin hız kısıtlayıcı basamağını oluşturmaktadır. Kliniği açıkladığı düşünülen bir varyantın hastalık yapıcı potansiyeli değerlendirilirken aynı zamanda hastalık açısından diğer tüm olası varyasyonların değerlendirilerek ekarte edilmesi genom boyu veri sağlayan WES/WGS gibi uygulamalarla sağlanabileceğinden, klinik tanı laboratuvarlarında kısıtlı paneller yerine WES uygulamasının seçilmesi daha makul görünmektedir.

**5. WES analizi sonucunda, şaşırtıcı bir şekilde, protein kodlamayan fakat bazı genlerin splicing aşamasında önemli fonksiyonu bulunan *RNU4ATAC* geninde homozigot patojenik bir mutasyon tespit ettik.**

- Kodlamayan bölgede Roifman sendromu ile ilişkili varyant tespit etmemiz, monogenik hastalıklara neden olabilecek daha başka kodlamayan genlerin de olabileceğini düşündürmüştür. WGS uygulamasının bu bölgelerde de monogenik hastalıklarla ilişkili aberasyonları keşfedebilme potansiyeli, henüz tanı koyulamayan hastalar için moleküler tanı beklentisini somutlaştırmaktadır. Bildirilen ilave tanı oranları çok yüksek olmayan ve yüksek maliyetleri açısından daha çok araştırma çalışmalarında tercih edilen WGS yerine, analiz edilebilir boyutta veri sağlayan ve daha düşük maliyetli olan WES uygulamasının güncel kodlamayan bölge primerleriyle genişletilerek klinik tanı laboratuvarlarında kullanılması daha makul görünmektedir.

**6. WES analizi sonucunda bir hastamızda kliniği ile ilişkili *TNFRSF13B* geninde varyant tespit edilirken aynı zamanda başvuru nedeniyle ilişkili olmayan, Serebrotendinöz Ksantomatoz (CTX) ilişkili *CYP27A1* geninde patojenik bir mutasyon tespit ettik. CTX'in erken tanı sonrası etkin ve önleyici tedavisinin olması nedeniyle hastaya ve ailesine genetik danışma verilerek tespit edilen mutasyon bildirildi.**

-Sağladığı verinin çokluğu ölçüsünde tanı oranını artıran WES uygulaması, aynı zamanda ACMG tarafından “sekonder bulgu” olarak adlandırılan esas klinik başvurusu ile ilişkisi olmayan varyantların tespit edilme “riskini” de artırmaktadır. Bu “sekonder bulguların” ACMG önerileri doğrultusunda değerlendirilmesi gerekmektedir. ACMG’nin 2016 yılında yayınladığı öneri listesinde bulunmayan fakat son birkaç yıldır etkin tedavisi bulunması nedeniyle, Serebrotendinöz Ksantomatozis ile ilişkili *CYP27A1* geninde tespit edilen patojenik varyantı raporladık. Son dönemde sosyoekonomik parametreler ve ulaşılabilir tedavileri ölçüsünde yenidoğan taramalarına alınması değerlendirilen genetik hastalıklar düşünüldüğünde, WES uygulanmasıyla tespit edilme olasılığı artan sekonder bulguların, etik tartışmaların ötesinde önleyici sağlık hizmetleri kapsamında “avantaja” dönüştürülebileceği savunulabilir.

**Sonuç:** Yeni nesil dizileme stratejileri ve verilerinin yorumlanmasındaki gelişmeler, hastaların moleküler tanımlarla doğru tanımlanmasını ve tedavi edilmesini sağlamasının yanında belirlediği genomik hedeflere yönelik potansiyel tedavilerin geliştirilmesini sağlaması açısından hastaların tetkik ve tedavisinde benzersiz bir olanak sağlamaktadır. Maliyetleri, genom çerçevesinde bilgi sağlaması, sağladığı bilgilerin gerektiğinde güncel verilerle yorumlanabilmesi ve aynı zamanda olası tüm varyasyonları değerlendirebilmeyi sağlayarak en çok ilişkili olanı seçebilmeyi kolaylaştırabilmesiyle WES analizi, klinik özellikleriyle hedef bir gen belirlenemeyen İSDK hastalarında uygulanması bütüncül ve güncel bir tanısal yaklaşım sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Chatila T, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, vd. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*. 17 Ocak 2020;40(1):24–64.
2. Altare F, Durandy A, Lammas D, Emile JF, Lamhamedi S, Le Deist F, vd. Impairment of mycobacterial immunity in human interleukin-12 receptor deficiency. *Science*. 29 Mayıs 1998;280(5368):1432–5.
3. Bonilla FA, Geha RS. 12. Primary immunodeficiency diseases. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. Şubat 2003;111(2 Suppl): S571-81.
4. Cooper MD, Lanier LL, Conley ME, Puck JM. Immunodeficiency disorders. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr* [Internet]. 2003;314–30.
5. Roberts I. Nelson’s textbook of pediatrics (20th edn.), by R. Kliegman, B. Stanton, J. St. Geme, N. Schor (eds). *Pediatr Radiol* [Internet]. 11 Eylül 2017;47(10):1364–5.
6. Syllaba L, Henner K. Contribution a l’indépendance de l’athetose double idiopathique et congenitale: atteinte familiale, syndrome dystrophique, signe du reseau vasculaire conjonctival, integrite psychique. *Rev Neurol (Paris)*. 1926; 1:541–62
7. Corbellini G, Ribatti D. [History of immunologic deficiency]. *Recenti Prog Med* [Internet]. Kasım 1991;82(11):611–7.
8. Wiskott A. Familiarer, angeborener Morbus Werihofii? *Aschr Kinderheilk*. 1937; 68:212–6
9. Glanzmann E, Riniker P. [Essential lymphocytophthisis; new clinical aspect of infant pathology]. *Ann Paediatr* [Internet]. 175(1–2):1–32.
10. Bousfiha AA, Jeddane L, Ailal F, Benhsaien I, Mahlaoui N, Casanova J-L, vd. Primary Immunodeficiency Diseases Worldwide: More Common than Generally Thought. *J Clin Immunol* [Internet]. 31 Ocak 2013;33(1):1–7.
11. van Zelm MC, Condino-Neto A, Barbouche M-R. Editorial: Primary Immunodeficiencies Worldwide. *Front Immunol* [Internet]. 22 Ocak 2020;10.

12. Geha RS, Notarangelo LD, Casanova J-L, Chapel H, Conley ME, Fischer A, vd. Primary immunodeficiency diseases: an update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. Ekim 2007;120(4):776–94.
13. Bonilla FA, Bernstein IL, Khan DA et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 94: 1-63.
14. A. Yorulmaz, H. Artaç, R. Kara, S. Keleş, İ. Reisli. Primer İmmün Yetmezlikli 1054 Olgunun Retrospektif Değerlendirilmesi. *Astım Allerji İmmünoloji* 2008;6(3):127-134
15. McCusker C, Upton J, Warrington R. Primary immunodeficiency. *Allergy, Asthma Clin Immunol*. 12 Eylül 2018;14(S2):61.
16. Chinn IK, Chan AY, Chen K, Chou J, Dorsey MJ, Hajjar J, vd. Diagnostic interpretation of genetic studies in patients with primary immunodeficiency diseases: A working group report of the Primary Immunodeficiency Diseases Committee of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2020;145(1):46–69.
17. Picard C, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova J-L, Chatila T, vd. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol* [Internet]. 2018;38(1):96–128.
18. Notarangelo LD. Primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. Şubat 2010;125(2 Suppl 2): S182-94.
19. Bonilla FA, Khan DA Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, Hsu JT, vd. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. Kasım 2015;136(5):1186-1205.e78.
20. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, vd. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 05 Mayıs 2015;17(5):405–23.
21. Smith W. *A Dictionary of Greek and Roman Antiquities*. London: John Murray 1875; p. 628.

22. Igea J. From the Old Immunitas to the Modern Immunity: Do We Need a New Name for the Immune System? *Curr Immunol Rev* [Internet]. 17 Nisan 2015;11(1):55–65.
23. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 9th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2018.
24. Chaplin DD. Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Feb;125(2): S3–23.
25. Rosenzweig SD, Holland SM. Recent Insights into the Pathobiology of Innate Immune Deficiencies. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2011 Oct 4;11(5):369–77.
26. O’Keefe A, Halbrich M, Ben-Shoshan M, McCusker C. Primary immunodeficiency for the primary care provider. *Paediatr Child Health*. 2016 Mar;21(2): e10–4.
27. Deshmukh A, Deshmukh AS, Dighe PR, Tiwari KJ, Garud ST. Precipitation Reactions in Immunology. *Precip React Immunol Artic Eur J Pharm Med Res*. 2020;214(June).
28. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins & Cotran Pathologic Basis of D. Diseases of the Immune System*. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2020. Chapter 6: In *Pathologic Basis of Disease*; p. 189–266.
29. Carroll MC. The complement system in regulation of adaptive immunity. *Nat Immunol* 2004; 5:981–986. [PubMed: 15454921]
30. Longhi MP, Harris CL, Morgan BP, Gallimore A. Holding T cells in check--a new role for complement regulators? *Trends Immunol* 2006; 27:102–108. [PubMed: 16406700]
31. Doan T, Melvold R, Viselli S, Waltenbaugh C. *Lippincott’s Illustrated Reviews: Immunology*. 2nd ed. Edited by Susan Rhyner. Lippincott Williams & Wilkins;2013
32. Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Schroeder HW, Frew AJ, Weyand CM. *Clinical Immunology: Principles and Practice*. 5th ed. Edited by Robert R. Rich. Amsterdam: Elsevier; 2019
33. de Bont CM, Boelens WC, Pruijn GJM. NETosis, complement, and coagulation: a triangular relationship. *Cell Mol Immunol*. 2019 Jan 23;16(1):19–27.
34. Brinkmann V. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science* (80- ). 2004 Mar 5;303(5663):1532–5.

35. Klimov VV. From Basic to Clinical Immunology. The Netherlands: Springer; 2019
36. Mohanty SK, Leela KS. Textbook of Immunology. 2nd ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2014
37. Li Y, Sun R. Tumor immunotherapy: New aspects of natural killer cells. *Chinese J Cancer Res.* 2018;30(2):173–96.
38. Franco R, Martínez-Pinilla E, Lanciego JL, Navarro G. Basic Pharmacological and Structural Evidence for Class A G-Protein-Coupled Receptor Heteromerization. *Front Pharmacol.* 31 Mart 2016;7.
39. Moutsianas L, Gutierrez-Achury J. Genetic Association in the HLA Region. *Methods Mol Biol.* 2018; 1793:111–34.
40. Zakharova MY, Belyanina TA, Sokolov A V., Kiselev IS, Mamedov AE. The Contribution of Major Histocompatibility Complex Class II Genes to an Association with Autoimmune Diseases. *Acta Naturae* [Internet]. 15 Aralık 2019;11(4):4–12.
41. Actor JK. Introductory Immunology Basic Concepts for Interdisciplinary Applications. 2nd ed. Edited by Jeffrey K. Actor. Cambridge: Academic Press; 2019.
42. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Ağustos* 2000;118(2):503–8.
43. Peiser L, de Winther MPJ, Makepeace K, Hollinshead M, Coull P, Plested J, et al. The Class A Macrophage Scavenger Receptor Is a Major Pattern Recognition Receptor for *Neisseria meningitidis* Which Is Independent of Lipopolysaccharide and Not Required for Secretory Responses. *Infect Immun.* 2002 Oct;70(10):5346–54.
44. Holers VM. Complement and Its Receptors: New Insights into Human Disease. *Annu Rev Immunol.* 2014 Mar 21;32(1):433–59.
45. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD, Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol.* 2010;11(9):785–797.
46. Sun P. Structural Recognition of Immunoglobulins by Fcγ Receptors. In: Ackerman ME, Nimmerjahn F, eds. *Antibody Fc: Linking Adaptive and Innate Immunity.* 1st ed. Cambridge: Academic Press, 2014. P 131-144.
47. Virella G. Immunoglobulins: Structure and diversity. In: Virella G ed. *Medical Immunology.* 7th ed. Boca Raton: CRC Press,2020. p.55-64
48. Backhaus O. Generation of Antibody Diversity. İçinde: *Antibody Engineering.* InTech; 2018.
49. McHugh RS, Shevach EM. The role of suppressor T cells in regulation of immune responses. *J Allergy Clin Immunol.* 2002 Nov;110(5):693–702.



50. Holland SM. Chronic Granulomatous Disease. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2013 Feb;27(1):89–99.
51. 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*. 2013;33(1):74–83.
52. Rezaei N, de Vries E, Gambineri E, Meyts I, Haddad E. Common presentations and diagnostic approaches. In: Sullivan KE, Stiehm ER. *Stiehm's Immune Deficiencies Inborn Errors of Immunity*. 2nd ed. Cambridge: Academic Publisher; 2020. p. 3-59.
53. Ishimura M, Takada H, Doi T, Imai K, Sasahara Y, Kanegane H, et al. Nationwide Survey of Patients with Primary Immunodeficiency Diseases in Japan. *J Clin Immunol*. 2011 Dec 29;31(6):968–76.
54. Abolhassani H, Kiaee F, Tavakol M, Chavoshzadeh Z, Mahdavian SA, Momen T, et al. Fourth Update on the Iranian National Registry of Primary Immunodeficiencies: Integration of Molecular Diagnosis. *J Clin Immunol*. 2018 Oct 9;38(7):816–32.
55. Kirkpatrick P, Riminton S. Primary Immunodeficiency Diseases in Australia and New Zealand. *J Clin Immunol*. 2007 Aug 23;27(5):517–24.
56. Seidel MG, Kindle G, Gathmann B, Quinti I, Buckland M, van Montfrans J, et al. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry Working Definitions for the Clinical Diagnosis of Inborn Errors of Immunity. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019 Jul;7(6):1763–70.
57. Ryser O, Morell A, Hitzig WH. Primary immunodeficiencies in Switzerland: First report of the national registry in adults and children. *J Clin Immunol*. 1988 Nov;8(6):479–85.
58. Seidel MG. Autoimmune and other cytopenias in primary immunodeficiencies: pathomechanisms, novel differential diagnoses, and treatment. *Blood*. 2014 Oct 9;124(15):2337–44.
59. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. The Ever-Increasing Array of Novel Inborn Errors of Immunity: an Interim Update by the IUIS Committee. *J Clin Immunol*. 2021 Apr 18;41(3):666–79.
60. Candotti F. Immune Deficiency: Combined T Cell and B Cell Deficiency – SCID Forms: T-B+. In: Cavazzana M, Cooke A, Ratcliffe MJH eds. *Encyclopedia of Immunology Volume 5 Physiology and Immune System Dysfunction*. Oxford: Academic Press; 2016. p.360-368.

61. de Villartay J-P, Moshous D. Immune Deficiency: Severe Combined Immune Deficiency with Absence of B and T Lymphocytes (T-B-NK-SCIDs): The Key Function of V(D)J Recombination for Lymphocyte Development: T-B+. In: Cavazzana M, Cooke A, Ratcliffe MJH eds. *Encyclopedia of Immunology Volume 5 Physiology and Immune System Dysfunction*. Oxford: Academic Press; 2016. p.369-377
62. Schatz DG, Swanson PC. V(D)J Recombination: Mechanisms of Initiation. *Annu Rev Genet*. 2011 Dec 15;45(1):167–202.
63. Sullivan KE, Stiehm ER. *Stiehm's immune deficiencies inborn errors of immunity*. London: Elsevier, Academic Press; 2020.
64. Sleasman JW, Virella G. Primary immune deficiency diseases. In: Virella G ed. *Medical Immunology*. 7th ed. Boca Raton: CRC Press,2020. p.401-415
65. Jyonouchi S, Jr Graham JM, Ming JE. Genetic syndromes with evidence of Immune deficiency. In: Sullivan KE, Stiehm ER. *Stiehm's Immune Deficiencies Inborn Errors of Immunity*. 2nd ed. Cambridge: Academic Publisher; 2020. p. 61-97.
66. Park JH, Resnick ES, Cunningham-Rundles C. Perspectives on common variable immune deficiency. *Ann N Y Acad Sci*. 2011 Dec;1246(1):41–9
67. Grimaldi CM, Hicks R, Diamond B. B Cell Selection and Susceptibility to Autoimmunity. *J Immunol*. 2005 Feb 15;174(4):1775–81.
68. Smith T, Cunningham-Rundles C. Primary B-cell immunodeficiencies. *Hum Immunol*. 2019 Jun;80(6):351–62.
69. Fleisher TA. Immune Dysregulation Disorders. In: Elzouki AY, Harfi HA, Nazer HM, Stapleton FB, Oh W, Whitley RJ eds. *Textbook of Clinical Pediatrics*. 2nd ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2012. p. 1307-1313
70. Raje N, Dinakar C. Overview of Immunodeficiency Disorders. *Immunol Allergy Clin North Am* . 2015 Nov;35(4):599–623.
71. El Solh H, Al-Nasser A, Al-Muhsen S. The Phagocytic System. In: Elzouki AY, Harfi HA, Nazer HM, Stapleton FB, Oh W, Whitley RJ eds. *Textbook of Clinical Pediatrics*. 2nd ed. Verlag Berlin Heidelberg: Springer; 2012. p. 3079-3089
72. a-Himes JA, Gallin JI. Immunodeficiency Diseases Caused by Defects in Phagocytes. Mackay IR, Rosen FS, editors. *N Engl J Med*. 2000 Dec 7;343(23):1703–14.
73. Errante PR, Condino-Neto A. Congenital defects of phagocytes. In: Henderson GI, Adams PM eds. *Leukocytes: Biology, Classification and Role in Disease*. Hauppauge, New York: Nova Science Publisher; 2013. p. 49-70.

74. Fischer A, Rausell A. Primary immunodeficiencies suggest redundancy within the human immune system. *Sci Immunol*. 2016 Dec 23;1(6):eaah5861.
75. Casanova J-L. Severe infectious diseases of childhood as monogenic inborn errors of immunity. *Proc Natl Acad Sci*. 2015 Dec 22;112(51): E7128–37.
76. Picard C, Bustamante J, Puel A, Zhang SY. Immune Deficiency: Mendelian Susceptibility to Infections with Viruses, Mycobacteria, Bacteria, and Candida. In: Cavazzana M, Cooke A, Ratcliffe MJH eds. *Encyclopedia of Immunology Volume 5 Physiology and Immune System Dysfunction*. Oxford: Academic Press; 2016. p.407-415.
77. McDermott MF, Aksentijevich I, Galon J, McDermott EM, Ogunkolade BW, Centola M, et al. Germline Mutations in the Extracellular Domains of the 55 kDa TNF Receptor, TNFR1, Define a Family of Dominantly Inherited Autoinflammatory Syndromes. *Cell*. 1999 Apr;97(1):133–44.
78. Havnaer A, Han G. Autoinflammatory Disorders: A Review and Update on Pathogenesis and Treatment. *Am J Clin Dermatol*. 2019 Aug 17;20(4):539–64.
79. Masters SL, Simon A, Aksentijevich I, Kastner DL. Horror Autoinflammaticus: The Molecular Pathophysiology of Autoinflammatory Disease. *Annu Rev Immunol* . 2009 Apr;27(1):621–68.
80. Ryan JG, Kastner DI. Fevers, Genes, and Innate Immunity. In: Beutler B ed. *Immunology, Phenotype First: How Mutations Have Established New Principles and Pathways in Immunology*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag; 2008. p.169-184
81. Touitou I, Koné-Paut I. Autoinflammatory diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2008 Oct;22(5):811–29.
82. Bodar EJ, Drenth JPH, van der Meer JWM, Simon A. Dysregulation of innate immunity: hereditary periodic fever syndromes. *Br J Haematol* . 2009 Feb;144(3):279–302.
83. Dedeoglu F, Kim S. Autoinflammatory Disorders. In: Leung DYM, Akdis CA, Szefer SJ, Bonilla FA, Sampson HA eds. *Pediatric Allergy: Principles and Practice*. 3th ed. New York: Elsevier; 2016. p. 133-142.
84. Schröder-Braunstein J, Kirschfink M. Complement deficiencies and dysregulation: Pathophysiological consequences, modern analysis, and clinical management. *Mol Immunol*. 2019 Oct;114(July):299–311.
85. Sjöholm AG, Kuijper EJ, Tijssen CC, Jansz A, Bol P, Spanjaard L, et al. Dysfunctional Properdin in a Dutch Family with Meningococcal Disease. *N Engl J Med*. 1988 Jul 7;319(1):33–7.

86. Liesmaa I, Paakkanen R, Järvinen A, Valtonen V, Lokki M-L. Clinical features of patients with homozygous complement C4A or C4B deficiency. Garcia de Frutos P, editor. PLoS One. 2018 Jun 21;13(6): e0199305.
87. Lipsker D, Hauptmann G. Cutaneous manifestations of complement deficiencies. *Lupus*. 2010;19(9):1096–106.
88. Truedsson L. Classical pathway deficiencies – A short analytical review. *Mol Immunol*. 2015 Nov;68(1):14–9.
89. Cantu C, Proytcheva MA. Bone marrow failure syndromes, a practical approach to diagnosis. *J Hematop*. 2015 Sep 6;8(3):101–12.
90. Giri N, Alter BP, Penrose K, Falk RT, Pan Y, Savage SA, et al. Immune status of patients with inherited bone marrow failure syndromes. *Am J Hematol*. 2015 Aug;90(8):702–8.
91. Shimamura A, Alter BP. Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood Rev*. 2010 May;24(3):101–22.
92. Dokal I. Dyskeratosis congenita in all its forms. *Br J Haematol*. 2000 Sep;110(4):768–79.
93. Fagerlie SR, Bagby GC. Immune Defects in Fanconi Anemia. *Crit Rev Immunol*. 2006;26(1):81–96.
94. Singh A, Jindal AK, Joshi V, Anjani G, Rawat A. An updated review on phenocopies of primary immunodeficiency diseases. *Genes Dis*. 2020 Mar;7(1):12–25.
95. Ku C-L, Chi C-Y, von Bernuth H, Doffinger R. Autoantibodies against cytokines: phenocopies of primary immunodeficiencies? *Hum Genet*. 2020 Jun 17;139(6–7):783–94.
96. Arts P, Simons A, AlZahrani MS, Yilmaz E, AlIdrissi E, van Aerde KJ, et al. Exome sequencing in routine diagnostics: a generic test for 254 patients with primary immunodeficiencies. *Genome Med*. 2019 Dec 17;11(1):38.
97. Gilissen C, Hoischen A, Brunner HG, Veltman JA. Disease gene identification strategies for exome sequencing. *Eur J Hum Genet*. 2012 May 18;20(5):490–7.
98. Ameratunga R, Lehnert K, Woon S-T, Gillis D, Bryant VL, Slade CA, et al. Review: Diagnosing Common Variable Immunodeficiency Disorder in the Era of Genome Sequencing. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2018 Apr 14;54(2):261–8.
99. Rabbani B, Tekin M, Mahdih N. The promise of whole-exome sequencing in medical genetics. *J Hum Genet*. 2014;59(1):5–15.

100. Yska HAF, Elsink K, Kuijpers TW, Frederix GWJ, van Gijn ME, van Montfrans JM. Diagnostic Yield of Next Generation Sequencing in Genetically Undiagnosed Patients with Primary Immunodeficiencies: a Systematic Review. *J Clin Immunol*. 2019 Aug 28;39(6):577–91.
101. Picard C, Fischer A. Contribution of high-throughput DNA sequencing to the study of primary immunodeficiencies. *Eur J Immunol*. 2014 Oct;44(10):2854–61.
102. Rudilla F, Franco-Jarava C, Martínez-Gallo M, Garcia-Prat M, Martín-Nalda A, Rivière J, et al. Expanding the Clinical and Genetic Spectra of Primary Immunodeficiency-Related Disorders With Clinical Exome Sequencing: Expected and Unexpected Findings. *Front Immunol* . 2019 Oct 1;10(October).
103. Stray-Pedersen A, Sorte HS, Samarakoon P, Gambin T, Chinn IK, Coban Akdemir ZH, et al. Primary immunodeficiency diseases: Genomic approaches delineate heterogeneous Mendelian disorders. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Jan;139(1):232–45.
104. Simon AJ, Golan AC, Lev A, Stauber T, Barel O, Somekh I, et al. Whole exome sequencing (WES) approach for diagnosing primary immunodeficiencies (PIDs) in a highly consanguineous community. *Clin Immunol*. 2020 May;214(October 2019):108376.
105. Bucciol G, Van Nieuwenhove E, Moens L, Itan Y, Meyts I. Whole exome sequencing in inborn errors of immunity: use the power but mind the limits. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. Aralık 2017;17(6):421–30.
106. Okano T, Imai K, Naruto T, Okada S, Yamashita M, Yeh T wen, et al. Whole-Exome Sequencing-Based Approach for Germline Mutations in Patients with Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2020;40(5):729–40.
107. Maffucci P, Filion CA, Boisson B, Itan Y, Shang L, Casanova JL, et al. Genetic diagnosis using whole exome sequencing in common variable immunodeficiency. *Front Immunol*. 2016;7(JUN).
108. Borghesi A, Trück J, Asgari S, Sancho-Shimizu V, Agyeman PKA, Bellos E, et al. Whole-exome Sequencing for the Identification of Rare Variants in Primary Immunodeficiency Genes in Children With Sepsis: A Prospective, Population-based Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2020 Dec 17;71(10): e614–23.
109. de Valles-Ibáñez G, Esteve-Solé A, Piquer M, González-Navarro EA, Hernandez-Rodriguez J, Laayouni H, et al. Evaluating the Genetics of Common Variable Immunodeficiency: Monogenetic Model and Beyond. *Front Immunol*. 2018 May 14;9(MAY):1–15.
110. Esenboga S, Cagdas D, Ozgur TT, Gur Cetinkaya P, Turkdemir LM, Sanal O, vd. Clinical and genetic features of the patients with X-Linked agammaglobulinemia

from Turkey: Single-centre experience. *Scand J Immunol* [Internet]. Mar 2018;87(3):e12647.

111. Xiong HY, Alipanahi B, Lee LJ, Bretschneider H, Merico D, Yuen RKC, vd. The human splicing code reveals new insights into the genetic determinants of disease. *Science* (80- ) [Internet]. 09 Ocak 2015;347(6218):1254806–1254806.

112. Bestas B, Turunen JJ, Blomberg KEM, Wang Q, Månsson R, EL Andaloussi S, et al. Splice-Correction Strategies for Treatment of X-Linked Agammaglobulinemia. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015 Mar 1;15(3):4.

113. Singh RR, Sedani S, Lim M, et al. RanBP2 mutation and acute necrotizing encephalopathy: 2 cases and a literature review of the expanding clinico-radiological phenotype. *Eur J Paediatr Neurol* 2015; 19:106–13.

114. Joseph J, Dasso M. The nucleoporin Nup358 associates with and regulates interphase microtubules. *FEBS Lett*. 2008 Jan 23;582(2):190–6.

115. Kassube SA, Stuwe T, Lin DH, Antonuk CD, Napetschnig J, Blobel G, et al. Crystal structure of the N-terminal domain of Nup358/RanBP2. *J Mol Biol*. 2012 Nov 9;423(5):752–65.

116. Skelton BW, Hollingshead MC, Sledd AT, Phillips CD, Castillo M. Acute necrotizing encephalopathy of childhood: typical findings in an atypical disease. *Pediatr Radiol*. 2008 Jul 16;38(7):810–3

117. Anand G, Visagan R, Chandratre S, Segal S, Nemeth AH, Squier W, et al. H1N1 Triggered Recurrent Acute Necrotizing Encephalopathy in a Family With a T653I Mutation in the RANBP2 Gene. *Pediatr Infect Dis J*. 2015 Mar;34(3):318–20.

118. Huang S-M, Chen C-C, Chiu P-C, Cheng M-F, Lai P-H, Hsieh K-S. Acute Necrotizing Encephalopathy of Childhood Associated With Influenza Type B Virus Infection in a 3-Year-Old Girl. *J Child Neurol*. 2004 Jan 2;19(1):64–7.

119. Bashiri FA, Al Johani S, Hamad MH, Kentab AY, Alwadei AH, Hundallah K, et al. Acute Necrotizing Encephalopathy of Childhood: A Multicenter Experience in Saudi Arabia. *Front Pediatr*. 2020 Oct 9;8.

120. Neilson DE, Adams MD, Orr CMD, Schelling DK, Eiben RM, Kerr DS, et al. Infection-triggered familial or recurrent cases of acute necrotizing encephalopathy caused by mutations in a component of the nuclear pore, RANBP2. *Am J Hum Genet*. 2009 Jan;84(1):44–51.

121. Heusinkveld LE, Majumdar S, Gao J-L, McDermott DH, Murphy PM. WHIM Syndrome: from Pathogenesis Towards Personalized Medicine and Cure. *J Clin Immunol*. 16 Ağustos 2019;39(6):532–56.

122. Flanagan, S. E., Haapaniemi, E., Russell, M. A., Caswell, R., Allen, H. L., De Franco, E., McDonald, T. J., Rajala, H., Ramelius, A., Barton, J., Heiskanen, K., Heiskanen-Kosma, T., and 11 others. Activating germline mutations in STAT3 cause early-onset multi-organ autoimmune disease. *Nature Genet.* 46: 812-814, 2014. [PubMed: 25038750, related citations]
123. Jung S, Lee S, Kim S, Nam H. Identification of genomic features in the classification of loss- and gain-of-function mutation. *BMC Med Inform Decis Mak.* 2015 Dec 20;15(S1): S6.
124. Castella M, Pujol R, Callén E, Trujillo JP, Casado JA, Gille H, et al. Origin, functional role, and clinical impact of Fanconi anemia FANCA mutations. *Blood.* 2011 Apr 7;117(14):3759–69.
125. Toksoy G, Uludağ Alkaya D, Bagirova G, Avcı Ş, Aghayev A, Günes N, et al. Clinical and Molecular Characterization of Fanconi Anemia Patients in Turkey. *Mol Syndromol.* 2020;11(4):183–96.
126. Seleman M, Hoyos-Bachiloglu R, Geha RS, Chou J. Uses of next-generation sequencing technologies for the diagnosis of primary immunodeficiencies. *Front Immunol.* 2017;8(JUL):1–8.
127. Thaventhiran JED, Lango Allen H, Burren OS, Rae W, Greene D, Staples E, et al. Whole-genome sequencing of a sporadic primary immunodeficiency cohort. *Nature.* 2020 Jul 2;583(7814):90–5.
128. Abolhassani H, Chou J, Bainter W, Platt CD, Tavassoli M, Momen T, et al. Clinical, immunologic, and genetic spectrum of 696 patients with combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2018 Apr;141(4):1450–8.
129. Vorsteveld EE, Hoischen A, van der Made CI. Next-Generation Sequencing in the Field of Primary Immunodeficiencies: Current Yield, Challenges, and Future Perspectives. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2021 Mar 5;(0123456789).
130. Mukda E, Trachoo O, Pasomsub E, Tiyasirichokchai R, Iemwimangsa N, Sosothikul D, et al. Exome sequencing for simultaneous mutation screening in children with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Int J Hematol.* 2017 Aug 28;106(2):282–90.
131. Pfundt R, del Rosario M, Vissers LELM, Kwint MP, Janssen IM de Leeuw N, et al. Detection of clinically relevant copy-number variants by exome sequencing in a large cohort of genetic disorders. *Genet Med.* 2017 Jun 27;19(6):667–75.
132. Kojima D, Wang X, Muramatsu H, Okuno Y, Nishio N, Hama A, et al. Application of extensively targeted next-generation sequencing for the diagnosis of primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Jul;138(1):303-305.e3

133. Yu H, Zhang VW, Stray-Pedersen A, Hanson IC, Forbes LR, de la Morena MT, et al. Rapid molecular diagnostics of severe primary immunodeficiency determined by using targeted next-generation sequencing. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(4):1142-1151.e2.
134. Turro E, Astle WJ, Megy K, Gräf S, Greene D, Shamardina O, vd. Whole-genome sequencing of patients with rare diseases in a national health system. *Nature* [Internet]. 02 Temmuz 2020;583(7814):96–102.
135. Stremenova Spegarova J, Lawless D, Mohamad SMB, Engelhardt KR, Doody G, Shrimpton J, et al. Germline TET2 loss of function causes childhood immunodeficiency and lymphoma. *Blood*. 2020 Aug 27;136(9):1055–66.
136. Ito S, Shen L, Dai Q, Wu SC, Collins LB, Swenberg JA, et al. Tet Proteins Can Convert 5-Methylcytosine to 5-Formylcytosine and 5-Carboxylcytosine. *Science* (80-). 2011 Sep 2;333(6047):1300–3.
137. Pronier E, Almire C, Mokrani H, Vasanthakumar A, Simon A, da Costa Reis Monte Mor B, et al. Inhibition of TET2-mediated conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine disturbs erythroid and granulomonocytic differentiation of human hematopoietic progenitors. *Blood*. 2011 Sep 1;118(9):2551–5.
138. Cimmino L, Dolgalev I, Wang Y, Yoshimi A, Mart'in GH, Wang J, et al. Restoration of TET2 Function Blocks Aberrant Self-Renewal and Leukemia Progression. *Cell*. 2017 Sep;170(6):1079-1095.e20.
139. Pan F, Wingo TS, Zhao Z, Gao R, Makishima H, Qu G, et al. Tet2 loss leads to hypermutagenicity in haematopoietic stem/progenitor cells. *Nat Commun*. 2017 Apr 25;8(1):15102.
140. Ferrone CK, Blydt-Hansen M, Rauh MJ. Age-Associated TET2 Mutations: Common Drivers of Myeloid Dysfunction, Cancer and Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci*. 2020 Jan 17;21(2):626.
141. Bussaglia E, Antón R, Nomdedéu JF, Fuentes-Prior P. TET2 missense variants in human neoplasia. A proposal of structural and functional classification. *Mol Genet Genomic Med*. 11 Temmuz 2019;7(7).
142. Hu L, Li Z, Cheng J, Rao Q, Gong W, Liu M, et al. Crystal Structure of TET2-DNA Complex: Insight into TET-Mediated 5mC Oxidation. *Cell*. 2013 Dec;155(7):1545–55.
143. Feng S, Jacobsen SE, Reik W. Epigenetic reprogramming in plant and animal development. *Science*. 2010 Oct;330(6004):622–7.



144. Delhommeau F, Dupont S, Valle V Della, James C, Trannoy S, Massé A, et al. Mutation in TET2 in Myeloid Cancers. *N Engl J Med*. 2009 May 28;360(22):2289–301.
145. Langemeijer SMC, Kuiper RP, Berends M, Knops R, Aslanyan MG, Massop M, et al. Acquired mutations in TET2 are common in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet*. 2009 Jul 31;41(7):838–42.
146. Ito K, Lee J, Chrysanthou S, Zhao Y, Josephs K, Sato H, vd. Non-catalytic Roles of Tet2 Are Essential to Regulate Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Homeostasis. *Cell Rep*. Eylül 2019;28(10):2480-2490.e4.
147. Chinn IK, Orange JS. A 2020 update on the use of genetic testing for patients with primary immunodeficiency. *Expert Rev Clin Immunol*. 2020 Sep 1;16(9):897–909.
148. Wakeling MN, Laver TW, Wright CF, De Franco E, Stals KL, Patch A-M, et al. Homozygosity mapping provides supporting evidence of pathogenicity in recessive Mendelian disease. *Genet Med*. 2019 Apr 3;21(4):982–6.
149. Wright CF, McRae JF, Clayton S, Gallone G, Aitken S, FitzGerald TW, et al. Making new genetic diagnoses with old data: iterative reanalysis and reporting from genome-wide data in 1,133 families with developmental disorders. *Genet Med*. 2018 Oct 11;20(10):1216–23
150. Benoit-Pilven C, Besson A, Putoux A, Benetollo C, Saccaro C, Guguin J, vd. Clinical interpretation of variants identified in RNU4ATAC, a non-coding spliceosomal gene. Brusgaard K, editör. *PLoS One*. 06 Temmuz 2020;15(7): e0235655.
151. Runhart EH, Sangermano R, Cornelis SS, Verheij JBGM, Plomp AS, Boon CJF, et al. The Common ABCA4 Variant p. Asn1868Ile Shows Nonpenetrance and Variable Expression of Stargardt Disease When Present in trans With Severe Variants. *Investig Ophthalmology Vis Sci*. 2018 Jul 2;59(8):3220.
152. Turunen JJ, Niemelä EH, Verma B, Frilander MJ. The significant other: splicing by the minor spliceosome. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 4(1):61–76.
153. Alioto TS. U12DB: a database of orthologous U12-type spliceosomal introns. *Nucleic Acids Res*. Ocak 2007;35(Database issue): D110-5.
154. Cologne A, Benoit-Pilven C, Besson A, Putoux A, Campan-Fournier A, Bober MB, vd. New insights into minor splicing-a transcriptomic analysis of cells derived from TALS patients. *RNA*. 2019;25(9):1130–49.
155. Olthof AM, Hyatt KC, Kanadia RN. Minor intron splicing revisited: identification of new minor intron-containing genes and tissue-dependent retention and alternative splicing of minor introns. *BMC Genomics*. 30 Aralık 2019;20(1):686.

156. Jafarifar F, Dietrich RC, Hiznay JM, Padgett RA. Biochemical defects in minor spliceosome function in the developmental disorder MOPD I. RNA [Internet]. Temmuz 2014;20(7):1078–89.
157. Schneider C, Will CL, Makarova O V, Makarov EM, Lührmann R. Human U4/U6.U5 and U4atac/U6atac.U5 tri-snRNPs exhibit similar protein compositions. Mol Cell Biol [Internet]. Mayıs 2002;22(10):3219–29.
158. Liu S, Ghalei H, Lührmann R, Wahl MC. Structural basis for the dual U4 and U4atac snRNA-binding specificity of spliceosomal protein hPrp31. RNA [Internet]. Eylül 2011;17(9):1655–63.
159. Roifman CM. Antibody deficiency, growth retardation, spondyloepiphyseal dysplasia and retinal dystrophy: a novel syndrome. Clin Genet. Şubat 1999;55(2):103–9.
160. Merico D, Roifman M, Braunschweig U, Yuen RKC, Alexandrova R, Bates A, vd. Compound heterozygous mutations in the noncoding RNU4ATAC cause Roifman Syndrome by disrupting minor intron splicing. Nat Commun. 02 Aralık 2015;6(1):8718.
161. Dinur Schejter Y, Ovadia A, Alexandrova R, Thiruvahindrapuram B, Pereira SL, Manson DE, vd. A homozygous mutation in the stem II domain of RNU4ATAC causes typical Roifman syndrome. npj Genomic Med . 10 Aralık 2017;2(1):23.
162. Heremans J, Garcia-Perez JE, Turro E, Schlenner SM, Casteels I, Collin R, vd. Abnormal differentiation of B cells and megakaryocytes in patients with Roifman syndrome. J Allergy Clin Immunol. Ağustos 2018;142(2):630–46.
163. Lionel AC, Costain G, Monfared N, Walker S, Reuter MS, Hosseini SM, vd. Improved diagnostic yield compared with targeted gene sequencing panels suggests a role for whole-genome sequencing as a first-tier genetic test. Genet Med. 03 Nisan 2018;20(4):435–43.
164. Bogaert DJ, Dullaers M, Kuehn HS, Leroy BP, Niemela JE De Wilde H, vd. Early-onset primary antibody deficiency resembling common variable immunodeficiency challenges the diagnosis of Wiedeman-Steiner and Roifman syndromes. Sci Rep. 16 Aralık 2017;7(1):3702.
165. Hallermayr A, Graf J, Koehler U, Laner A, Schönfeld B, Benet-Pagès A, vd. Extending the critical regions for mutations in the non-coding gene RNU4ATAC in another patient with Roifman Syndrome. Clin Case Reports. Kasım 2018;6(11):2224–8.
166. Kalia SS, Adelman K, Bale SJ, Chung WK, Eng C, Evans JP, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome

sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*. 2017 Feb 17;19(2):249–55.

167. Jiao H, Olin M, Hansson M, Eggertsen G, Eriksson M, Angelin B, et al. Unique case of cerebrotendinous xanthomatosis revisited: All the mutations responsible for this disease are present in the CYP27A1 gene. *J Intern Med*. 2018 Jun;283(6):604–6.

168. DeBarber AE, Duell PB. Update on cerebrotendinous xanthomatosis. *Curr Opin Lipidol*. Nisan 2021;32(2):123–31.

169. Castigli E, Wilson SA, Garibyan L, Rachid R, Bonilla F, Schneider L, et al. TACI is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency. *Nat Genet*. 2005 Aug;37(8):829–34.

170. Castigli E, Wilson SA, Garibyan L, Rachid R, Bonilla F, Schneider L, et al. TACI is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency. *Nat Genet*. 2005 Aug 10;37(8):829–34.

171. Salzer U, Chapel HM, Webster ADB, Pan-Hammarström Q, Schmitt-Graeff A, Schlesier M, et al. Mutations in TNFRSF13B encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. *Nat Genet*. 2005 Aug;37(8):820–8.

172. Salzer U, Bacchelli C, Buckridge S, Pan-Hammarström Q, Jennings S, Lougaris V, et al. Relevance of biallelic versus monoallelic TNFRSF13B mutations in distinguishing disease-causing from risk-increasing TNFRSF13B variants in antibody deficiency syndromes. *Blood*. 2009 Feb 26;113(9):1967–76.

173. Zhang L, Radigan L, Salzer U, Behrens TW, Grimbacher B, Diaz G, et al. Transmembrane activator and calcium-modulating cyclophilin ligand interactor mutations in common variable immunodeficiency: clinical and immunologic outcomes in heterozygotes. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Nov;120(5):1178–85.

174. Fried AJ, Rauter I, Dillon SR, Jabara HH, Geha RS. Functional analysis of transmembrane activator and calcium-modulating cyclophilin ligand interactor (TACI) mutations associated with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Jul;128(1):226–228.e1.

175. Pulvirenti F, Zuntini R, Milito C, Specchia F, Spadaro G, Danieli MG, et al. Clinical Associations of Biallelic and Monoallelic TNFRSF13B Variants in Italian Primary Antibody Deficiency Syndromes. *J Immunol Res*. 2016; 2016:1–14.