

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

AĞIR KONJENİTAL NÖTROPENİ TANISIYLA İZLENEN
21 VAKANIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ, KLİNİK,
LABORATUAR BULGULARI VE
KLİNİK SEYİRLERİ

Dr. İbrahim Cemal MASLAK

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2012

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

AĞIR KONJENİTAL NÖTROPENİ TANISIYLA İZLENEN
21 VAKANIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ, KLİNİK,
LABORATUAR BULGULARI VE
KLİNİK SEYİRLERİ

Dr. İbrahim Cemal MASLAK

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof Dr. İlhan TEZCAN

ANKARA

2012

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında katkılarından dolayı tez danışmanım ve Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları İmmünoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. İlhan TEZCAN' a, Hematoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Fatma GÜMRÜK' e Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gülsev KALE' ye, tüm İmmünoloji ve Hematoloji çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.



ÖZET

MASLAK Cemal İ. Ağır konjenital nötropeni tanısıyla izlenen 21 vakanın klinik, laboratuvar özellikleri ve klinik seyirleri. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanlık Tezi. Ankara 2012. Ağır konjenital nötropeni total nötrofil sayısının $0,5 \times 10^9/L$ ’nin altında olduğu, erken infantil dönemde ağır sistemik enfeksiyonlara yol açan, ağır nötropeni ile karakterize hematolojik bir bozukluktur. 1987 yılından itibaren ‘granulocyte-colony stimulating factor’(G-CSF)’in kullanılmaya başlanması ağır konjenital nötropeni hastalarının prognozunu ve yaşam kalitesini dramatik olarak değiştirmiştir. Çalışmamızda kliniğimizde takip ettiğimiz 13 kız, 8 erkek, toplam 21 hastanın başvuru yakınmaları, demografik özellikleri, laboratuvar bulguları, genetik defektleri, tedavileri ve klinik seyirleri incelenmiştir. Tüm hastalarda tanı öncesi dönemde tekrarlayan oral aft ve cilt apsesi hikayesi vardı. Birçoğu ise pnömoni, sepsis, lenfadeniti içeren ağır sistemik bakteriyel enfeksiyon nedeni ile hospitalize edilmişti. Tüm hastalar G-CSF tedavisi alırken 10 hastanın (%47) tedavi dozu $8 \mu g/kg/gün$ ’ün üzerinde idi. 7 hastada (%41) altta yatan genetik defekt saptanırken en sık sorumlu gen 6 hasta ile (%35,2) HAX-1 geni idi. Sadece 1 hastada lösemik transformasyon gelişti. Gerek tanı anında gerekse hastalık seyrinde hiçbir hastada sitogenetik anomaliye rastlanmadı. 2 hastaya akraba içi tam uyumlu donörlerden başarılı bir şekilde periferik kök hücre nakli yapıldı. Düşük doz ve yüksek doz G-CSF tedavisi alan hastalar arasında lineer büyüme, osteopeni/osteoporoz ve malign transformasyon açısından anlamlı fark saptanmadı.

Sonuç olarak; ağır konjenital nötropeni hastaları mutlaka yılda iki kez kontrole gelmeli, 3 ayda bir tam kan ayımı ve periferik yayma ile beraber, boy ve kilo ölçümünü, dental muayeneyi (gingivit, periodontit) içeren fizik muayene yapılmalıdır. Malign transformasyon riski nedeni ile yılda 1 kez kemik iliği incelemesi tekrarlanarak, morfolojik ve sitogenetik anomaliler (özellikle monozomi 7) araştırılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Ağır konjenital nötropeni, granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), HAX-1

ABSTRACT

MASLAK Cemal İ. Clinical, laboratory findings and prognosis of 21 patients with severe congenital neutropenia. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Pediatrics. Ankara, 2012. Severe congenital neutropenia (SCN) includes a variety of hematologic disorders characterized by severe neutropenia, with absolute neutrophil counts below $0,5 \times 10^9/L$, and associated with severe systemic bacterial infections from early infancy. The availability of recombinant granulocyte colony stimulating factor in 1987 dramatically changed both the prognosis and quality of life of patients with SCN. In this study we evaluated symptoms, demographic features, laboratory findings, genetic defects, therapies and prognosis of 13 female and 8 male, total 21 patients with severe congenital neutropenia. We documented recurrent aphthous stomatitis and skin abscess from all of the patients. Many of them developed systemic bacterial infections, including sepsis, pneumonia, lymphadenitis before the diagnosis. The underlying genetic defects of 7 (%41) SCN patients were detected. The most responsible gene was HAX-1, 6 patients (%35,2), in our study. G-CSF was applied in all SCN patients. There were 10 patients (%47) who required G-CSF dose more than $8 \mu g/kg/day$, defined as less responsive patients. Leukemic transformation occurred in 1 patient. There were no cytogenetically anomaly in SCN patients either at diagnosis and duration of disease. Hematopoietic stem cell transplantation was successfully achieved in 2 SCN patients from matched related donors. There were no statistically significant difference in linear growth, malignant transformation and osteopenia/osteoporosis among patients that require low and high dose G-CSF therapy.

As a result, all patients should be seen by a physician at least twice yearly. Blood counts should be obtained and a physical examination performed at least every 3 months, including assesment for weight and height, dental problems (gingivitis, periodontitis) and documentation of intercurrent infections. Bone marrow examination (morphology plus cytogenetics) is required once per year to search for acquired cytogenetic abnormalities, such as monosomy 7.

Key words: Severe congenital neutropenia, HAX-1, Granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF)

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Nötrofil Gelişimi	2
2.2. Nötrofil Morfolojisindeki Anormallikler	8
2.3. Granül ve Granül Proteinlerinin Oluşumu	9
2.3.1. Primer(azurofilik) Granüller	9
2.3.2. Sekonder (peroksidaz(+), spesifik) Granüller	10
2.4. Nötrofil Hücre Yüzey Reseptörleri	11
2.5. Nötrofil Adezyonu ve Dokulara Göçü	11
2.6. Kemotaksis	15
2.7. Tanıma, Opsonizasyon ve Fagositoz	15
2.8. Öldürme ve Sindirme	16
2.8.1. Oksijen Bağımsız Toksisite	17
2.8.2. Oksijen Bağımlı Toksisite	18
2.9. Nötropeni	20

2.9.1. Nötropeni Semptomları	21
2.9.2. Nötrofil ve Öncüllerinin İntrinsik Defektlerine Bağlı Gelişen Nötropeni	22
2.9.3. Nötrofil ve Öncüllerinin Ekstrinsik Defektlerine Bağlı Gelişen Nötropeni	42
3. HASTALAR VE YÖNTEM	50
4. BULGULAR	52
4.1. G-CSF Dozu ile Osteoporoz Grubunun Karşılaştırılması	55
4.2. G-CSF Dozu ile Malignite Grubunun Karşılaştırılması	55
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
7. KAYNAKLAR	65
8. EKLER	79

SİMGELER VE KISALTMALAR

AIDS	Akkiz immün yetmezlik sendromu
AKN	Ağır konjenital nötropeni
AK2	Adenilat kinaz 2
ALL	Akut lenfoblastik lösemi
ALPS	‘Autoimmune lymphoproliferative syndrome’
AML	Akut myeloblastik lösemi
ANS	Absolü nötrofil sayısı
Arp 2/3	‘Actin- related peptid 2/3’
ATF-6	‘Transcription factor activating transcription factor 6’
BPI	Bacterial permeability increasing’
CHS:	‘Chediak- Higashi syndrome’
CMML	Kronik miyelomonositer lösemi
CMV	Sitomegalovirüs
CSF-1	‘Colony stimulating factor-1’
CXCL1	C-X-C kemokin ligandı tip1
CXCL2	C-X-C kemokin ligandı tip2
CXCL12	C-X-C kemokin ligandı tip12
CXCR2	C-X-C kemokin reseptörü tip2
CXCR4	C-X-C kemokin reseptörü tip4
C/EBP α	‘CCAAT/ enhancer binding protein alfa’
C/EBP β	‘CCAAT/ enhancer binding protein beta’
C/EBP γ	‘CCAAT/ enhancer binding protein gama’
C/EBP δ	‘CCAAT/ enhancer binding protein delta’
C/EBP ϵ	‘CCAAT/ enhancer binding protein epsilon’

C/EBP ζ	‘CCAAT/ enhancer binding protein zeta’
DAG	Diaçil gliserol
DEXA	‘Dual X-ray absorbtometry’
EBV	Epstein Barr Virüs
Egr-2	‘Early growth response-2’
ELANE	Nötrofil elastaz
ER	Endoplazmik retikulum
ESL-1	E- selektin ligand 1
FADD	‘Fas associated protein with death domain’
g	gram
GAT	Granülosit aglütinasyon test
Gfi-1	‘Growth factor independent-1’
GIFT	Granülosit immünofloresan test
GM-CSF	‘Granulocyte-macrophage colony stimulating factor’
G-CSF	‘Granulocyte colony stimulating factor’
G-CSFR	‘Granulocyte colony stimulating factor receptor’
G6PC1	Glukoz-6 fosfat katabolik subunit 1
G6PC2	Glukoz-6 fosfat katabolik subunit 2
G6PC3	Glukoz-6 fosfat katabolik subunit 3
G6PT	Glukoz-6 fosfat tranlokaz
Groß	‘Growth regulated oncogene beta’
HAX-1	‘HCLS-associated X 1’
HLA	‘Human leukocyte antigen’
Hox-A9	‘Homeobox-A9’
HSCT	‘Hematopoietic stem cell transplantation’

ICAM-1	İnterselüler adezyon molekülü-1
ICAM-2	İnterselüler adezyon molekülü-2
ICAMs	İnterselüler adezyon moleülleri
Ig A/G/M/E	İmmünglobulin A/G/M/E
IL-1	İnterlökin 1
IL-3	İnterlökin 3
IL-6	İnterlökin 6
IL-8	İnterlökin 8
IL-17A	İnterlökin 17A
IL-23	İnterlökin 23
IP ₃	İnozitol trifosfat
IRE-1	‘İnositol requiring kinase-1’
JAM-1	‘Junctional adesion molecule-1’
KC	‘Keratinocyte derived chemokine’
KGH:	Kronik granüloamatöz hastalık
L	Litre
LAD 1	Lökosit adezyon defekti tip 1
LAD 2	Lökosit adezyon defekti tip 2
LEF-1	‘Lymphoid enhancer binding factor-1’
LFA-1	‘Lymphocyte function antigen-1’
mg	Miligram
µg	Mikrogram
Mac-1	‘Macrophage-1 antigene’
MAPK	‘Mitogen-activated protein kinase ‘
MDS	Miyelodisplastik sendrom

Meis1	‘Meis homeobox-1’
miRNA	MikroRNA
miRNA21	MikroRNA 21
miRNA196b	MikroRNA 196b
miRNA223	MikroRNA223
MMP-25	Matriks metalloproteinaz-25
MPO	Miyeloperoksidaz
M-CSF	‘Macrophage colony stimulating factor’
NA	Nötrofil antijen A
NB	Nötrofil antijen B
ND	Nötrofil antijen D
NK	‘Natural killer’
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
OD	Otozomal dominant
OH ⁻	Hidroksil
OIN	Otoimmün nötropeni
OR	Otozomal resesif
QCT	‘Quantitative computer tomography’
Pbx 1	‘Pre-B-cell leukemia transcription factor’
PERK	‘Double stranded RNA activated protein kinase like ER kinase’
PIP ₂	Fosfatidil inozitol 4,5 bifosfat
PI3K	Fosfatidil inozitol 3’ kinaz
PKD2	‘Polycystic kidney disease protein 2’
PSGL-1	P-selektin glikoprotein ligand-1

PU.1	‘Transcriptional factor PU.1’
Rb	Retinoblastom
RSV	Respiratuar sinsityal virüs
SBDS	‘Shwachman-Bodian-Diamond syndrome’
SCNIR	‘Severe chronic neutropenia international registry’
SD	Standart sapma
SDF 1	‘Stromal derived factor 1’
SDS	‘Shwachman-Diamond syndrome’
SERCA2a	‘Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase’
SMARCAL	‘Swi/snf-related matrix-associated actin dependent regulator of chromatin, subfamily a-like protein’
SPA	‘Single photon absorbtometry’
STAT5	‘Signal transducer and activator of transcription 5A’
TLR	Toll-like reseptör
TNF- α	Tümör nekrozis faktör alfa
XIAP	‘X-linked inhibitor of apoptosis protein’
UPR	‘Unfolded protein response’
WAS	‘Wiscott-Aldrich syndrome’
WASP	‘Wiscott-Aldrich syndrome protein’
WHIM	Warts, hipogamaglobulinemi, immünyetmezlik, miyelokateksi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Nötrofil gelişimi	2
2.2. Dokularda nötrofil geçişi	4
2.3. Kemik iliğinde granülositopoez	6
2.4. Nötrofil diferansiasyonu ve granüller	11
2.5. Nötrofil yuvarlanma, adezyon ve migrasyon	14
2.6. Nötrofil tanıma, opsonizasyon, fagositoz ve lizis	19
2.7. ‘Unfolded protein response’	26
2.8. ‘HAX-1’	28
2.9. Glukoz-6-fosfataz enzim kompleksi	30
2.10. Miyeloid seride matürasyon arresti	33

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
2.1. Nötropeni sınıflandırması	21
2.2. Ağır konjenital nötropenide genetik defektler	24
4.1. Hastaların başvuru sırasında laboratuvar bulguları	53
4.2. Hastaların genetik özellikleri	53
4.3. G-CSF dozu ile osteopeni/osteoporoz, takip sonu büyüme geriliği ve malign transformasyon gruplarının karşılaştırılması	55

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nötrofiller bakteriyel enfeksiyonlara karşı konak savunmasında ve akut inflamatuvar yanıtta kritik rolü olan hücrelerdir. Kemik iliğinde hematopoetik kök hücrelerden köken alırlar. Periferik dolaşımında absölü nötrofil sayısının 1500 hücre/ μ L' nin altında olması nötropeni olarak tanımlanır. Ağır konjenital nötropeni (AKN) ise total nötrofil sayısının 500 hücre/ μ L' nin altında olup, hayatın ilk yıllarında ağır sistemik enfeksiyonlarla prezente olan en ağır nötropeni formlarından birisidir. Tam kan sayımı ve periferik yaymada ağır nötropeninin ve kemik iliğinde miyeloid seride matürasyonda duraklamanın gösterilmesi ile tanı konulur. Genetik açıdan heterojen bir hastalık olan AKN' de batı literatüründeki vakaların %60-80' inden ELANE genindeki mutasyonlar sorumlu tutulmaktadır.

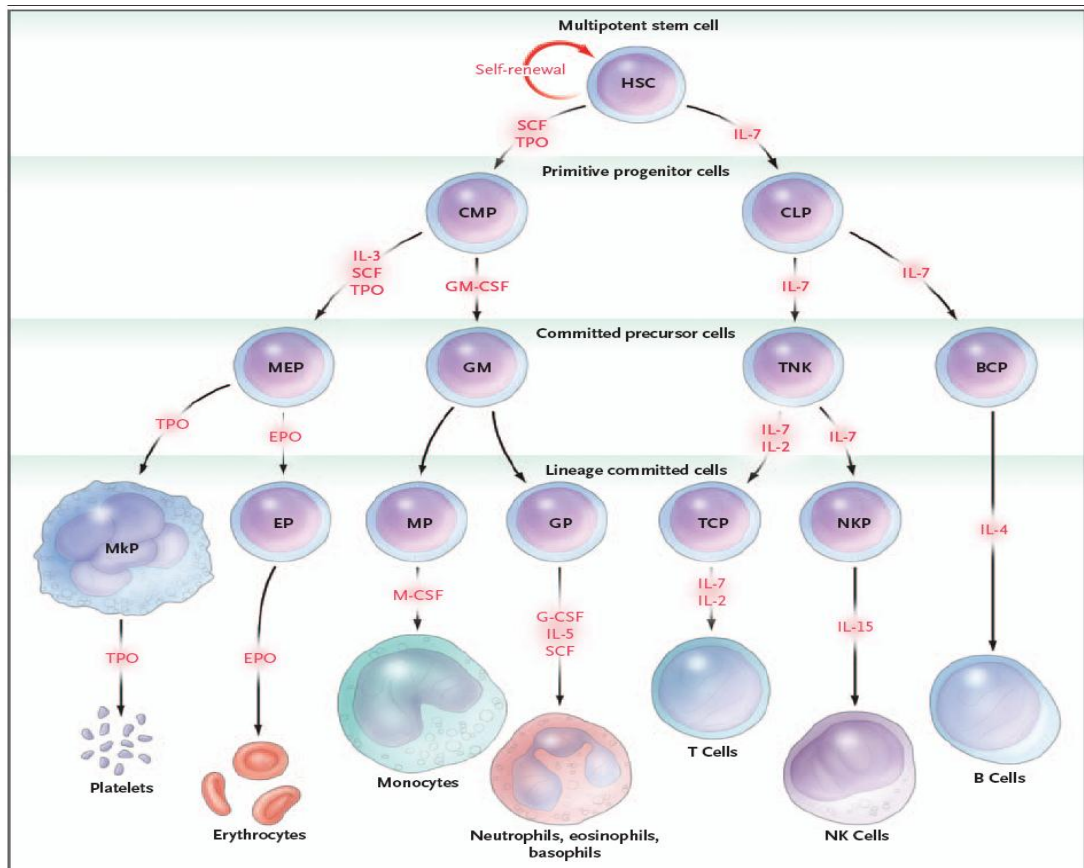
Morbidite ve mortalitesi yüksek olan bu hastalıkta G-CSF tedavisinin bulunması ile hastaların yaşam süreleri ve kaliteleri artmıştır. Daha önceleri ağır enfeksiyonlar nedeni ile kaybedilen hastalarda malign transformasyon gibi uzun dönem komplikasyonlar prognozu belirlemede ön plana çıkmıştır. Genetik defekten bağımsız olarak görülebilen lösemik transformasyon riski nedeniyle yıllık yapılan kemik iliği morfolojik ve sitogenetik analizi sayesinde MDS/AML erken dönemde tanınıp tedavi edilebilir. G-CSF tedavisine rağmen düzelmeyen gingival ve periodontal problemler düzenli ağız bakımı ve diş hekimi desteği ile en aza indirilebilir. Herhangi bir semptom olmaksızın ortaya çıkabilen ve mekanizması tam olarak bilinmeyen osteopeni/osteoporoz riski de hastalığın önemli bir komplikasyonu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışma ile; 1985-2012 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji Ünitesinde ağır konjenital nötropeni tanısı ile izlenmekte olan hastaların klinik, immünolojik, antropometrik ve tedavi yönüyle incelenerek yeni tanı almış ve izlenmekte olan olguların multidisipliner olarak değerlendirilmesini sağlayacak parametrelerin elde edilmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nötrofil Gelişimi

Nötrofiller; kemik iliğinde kök hücrelerden farklılaşarak çoğalan, mikroorganizmalara karşı savunma yönünden granüller içeren matür granülositlerdir. Dolaşımda serbest olarak dolaşırken, inflamasyon bölgesinde kapiller endotel hücreleri ile etkileşerek mikroorganizmalar ile karşılaşacağı dokuya yönelirler. Kemotaksis, fagositoz ile öldürme fonksiyonlarını gösterirler(1).(Şekil 2.1.)



Şekil 2. 1. Nötrofil gelişimi

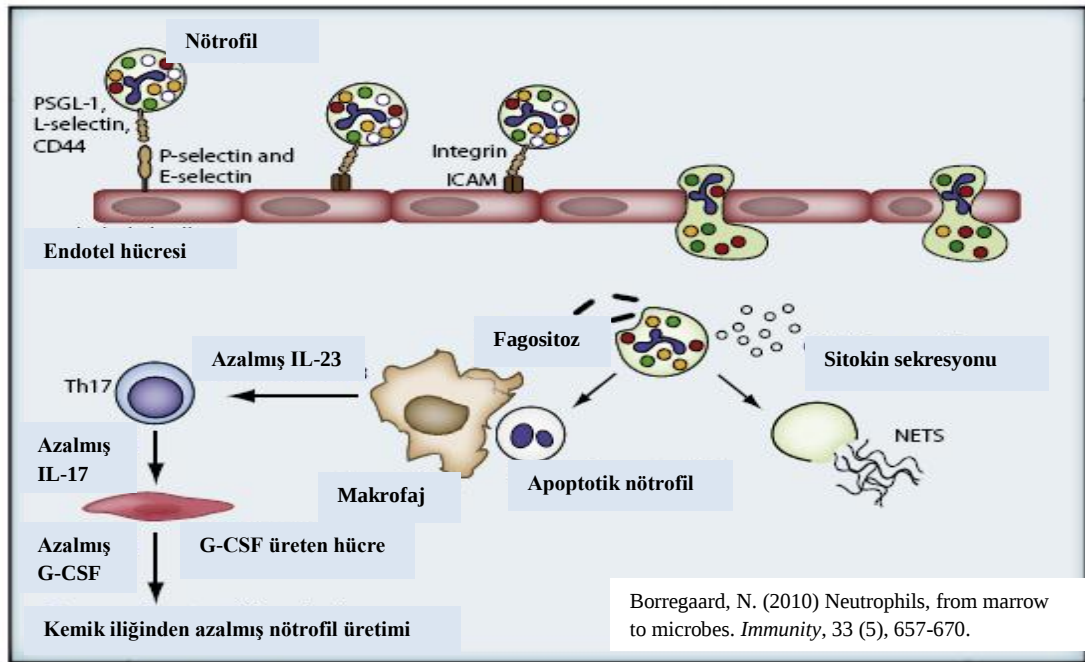
Nötrofillerin ve monositlerin kemik iliğindeki üretimi total hematopoezin üçte ikisini oluşturur. Bu son derece kompleks, düzenli ve dinamik olaylar spesifik hematopoetik büyüme faktörleri ve uygun mikroçevreyle ilişkili olaylar bütünüdür (2).

Hematopoetik kök hücreler kemik iliğinde, özelleşmiş bir damar yatağının olduğu sinuzoidlerin yanında, kan akımının ve oksijen basıncının az olduğu, osteoblastların çevrelediği özel bir bölgede yer alırlar. Bu bölgede kök hücreleri yüzeylerinde $\beta 1$ integrin proteinlerini taşırlar, osteoblastlar ve ekstraselüler matriks ile devamlı ilişki halindedirler(3). Nötrofil ve öncülleri ile kök hücrelerinin kemik iliğindeki konuşlanması yüzeylerinde taşıdıkları kemokin reseptörleri olan CXCR4 ve CXCR2 arasındaki dengeye bağlıdır. CXCR4, osteoblast ve çevre endotel hücrelerinin yüzeylerinde eksprese ettikleri CXCL12, diğer adıyla ‘stromal derived factor 1’ (SDF1) ligandı ile bağlanarak nötrofil ve öncüllerinin kemik iliğinde kalmasını sağlarken, benzer şekilde CXCR4’ ün stromal hücre ligandlarından KC ve Gro β ile kenetlenmesi, hücrelerin kemik iliğinden, periferik dolaşıma göçüne neden olur. CXCR2 myeloid hücrelerde eksprese edilen başka bir kemokin reseptörüdür. Ligandları olan CXCL1 ve CXCL2 kemik iliği endotel hücreleri tarafından eksprese edilir. CXCR2 delesyon mutasyonları miyelokateksi denilen kemik iliğinde nötrofil retansiyonuna yol açan bir duruma neden olurken, hem CXCR2 hem de CXCR4’ ün birlikte olan delesyonları tıpkı CXCR4 izole delesyonunda olduğu gibi nötrofillerin kemik iliğinden periferik dolaşıma geçmesine neden olur. CXCR4 kemik iliğinde nötrofil havuzunun başlıca düzenleyicisidir. Bu düzene, özellikle nötrofil matürasyonunun ileri evrelerinde CXCR2 kemokin reseptörü, granülosit koloni stimüle edici faktör reseptörü (G-CSFR) ve Toll-like reseptörler (TLR) etki ederler. CXCR4 olmadan bu reseptörlerin uyarılması nötrofillerin göçünü başlatamaz. Tüm bunlar CXCR4’ ün immatür ve matür nötrofillerin kemik iliğindeki majör sinyal düzenleyici olduğunu gösterir (4).

CXCR4 kemokin reseptörü, nötrofillerin kemik iliğinde stabilizasyonunda kritik bir öneme sahiptir. CXCR4’ ü kodlayan gende ortaya çıkan delesyon, matür nötrofil havuzunun kemik iliğinden periferik dolaşıma kaymasına yol açar. Bu durum nötrofillerin yarı ömrünü etkilemez. Tam tersi; CXCR4 geninde ortaya çıkan aktive edici mutasyonlar; WHIM sendromu (warts, hipogamaglobulinemi, enfeksiyon, miyelokateksi) denilen, periferik dolaşımda nötrofil yokluğu, kemik iliğinde nötrofil akümüasyonu ile karakterize bir tabloya yol açar(5).

Normal bir erişkinde, kemik iliğinde günlük $1-2 \times 10^{11}$ nötrofil üretilir. Enfeksiyon dönemlerinde artmış ihtiyacı karşılamak için granülosit koloni stimüle edici faktör' e (G-CSF) ihtiyaç vardır. G-CSF null farelerde yapılan bir çalışmada granülositopoezin %25' lik bir aktivite ile devam ettiği gösterilmiştir(6).

Nötrofil üretimi, nötrofillerin dokulardaki apoptozis hızına da bağlıdır. Dokularda görevini tamamlamış ve apoptozise uğramış nötrofiller, makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından fagosite edilirler(7). Bu fagositer hücreler sentezledikleri IL-23 yoluyla, daha çok mezenterik lenf nodlarında bulunan ve nötrofil düzenleyici T hücre adı verilen, gama-delta T hücre ve NK benzeri T hücre yapısı gösteren özelleşmiş hücrelerden IL-17A üretimini tetiklerler. IL-17A, G-CSF üretimi için önemli bir uyarandır. Dokuda nötrofil sayısı azalırsa, G-CSF üretimi artarken, nötrofil sayısının arttığı durumlarda G-CSF üretimi azalır(8). (Şekil 2.2.)



Şekil 2. 2. Dokularda nötrofil geçişi

G-CSF, kemik iliğindeki endotel hücreleri ve osteoblastların SDF-1 ligand ekspresyonunu azaltırken, KC ve Gro beta ligand ekspresyonunu artırarak CXCR4-CXCR2 kemokin sinyal dengesinin CXCR2 lehine kaymasına ve sonuçta nötrofillerin periferik dolaşıma geçişine yol açar(9).

Terminal granülositopoez, progenitör hücrelerden bir dizi işlem sonrası matür granülosit üretim olayıdır. ‘CCAAT/ enhancer binding protein alfa’ (C/EBP α) ve PU.1 terminal granülopoez için vazgeçilmez transkripsiyon faktörleridir. Miyelopoez esnasında nötrofil ve monosit üretiminin yol ayrımında C/EBP α ve PU.1 transkripsiyon faktörleri arasındaki denge belirleyici rol oynar. Aşırı PU.1 ekspresyonu monositik farklılaşmaya yol açarken, C/EBP α artışı, bu farklılaşmayı granülosit yolağına kaydırır(10). C/EBP α olmayan farelerde, miyelopoezin C/EBP β , IL3 ve granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) varlığında sürdürülebileceği gösterilmiştir(11).

MikroRNA’ lar (miRNA) hücre çoğalma, farklılaşma, gelişim ve apoptozisinde biyolojik öneme sahip gen düzenleyicileridir. Granülopoezde mikroRNA-223 (miRNA-223) kritik öneme sahip miRNA’ lardan bir tanesidir. miRNA-223, C/EBP alfa ve PU.1’ in etkisi altındadır(12).

E2F1, E2F transkripsiyon düzenleyici faktör ailesinden hücre siklus düzenleyici proteinlerden bir tanesidir. C/EBP α , miRNA 223’ e bağlanarak promoter bölgesinin açığa çıkmasını sağlar, açığa çıkan miRNA promoter, E2F1 hücre siklus düzenleyici faktör düzeyini azaltarak granülositopoezin devamlılığını sağlar. C/EBP α , miRNA ve E2F1 arasındaki ilişkinin bozulması granülopoezin durmasını veya tam tersi akut miyeloid lösemi (AML) gibi kanser oluşumunu tetikler(13).

Lenfopoez esnasında eksprese edilen, bir transkripsiyon faktörü olan ‘lymphoid enhancer binding factor-1’ (lef-1) C/EBP α regülasyonunda rol alır ve lef-1 eksikliğinde ağır konjenital nötropeni oluşabilir(14).

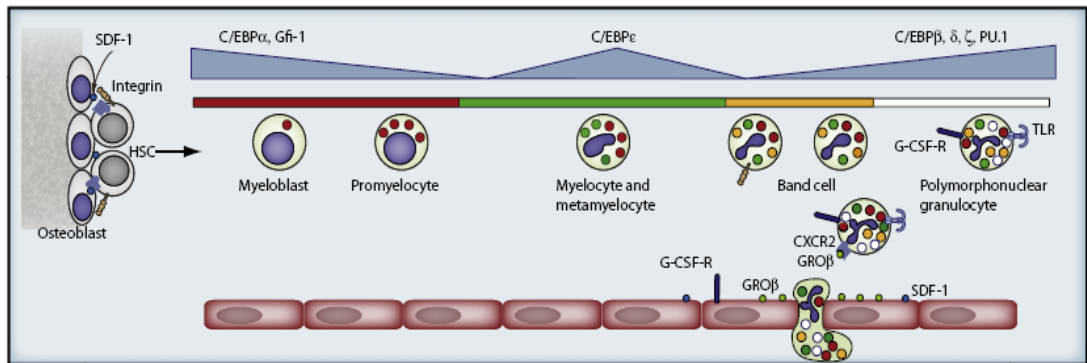
Nötrofil diferansiyasyonunu için gerekli diğer bir transkripsiyon faktörü de ‘growth factor independent-1’ (Gfi-1)’ dir. Gfi-1’ in upregülasyonu HoxA9, Meis1 ve Pbx1 gibi proteinleri kodlayan genlerin inaktivasyonuna yol açarak kök hücrelerin granülositopoez sürecine doğru farklılaşmasını sağlar(15). Gfi-1 ayrıca, bir monosit uyarıcı transkripsiyon faktörü olan ‘early growth response-2’ (Egr-2) ve bir monositopoez sitokini olan ‘colony stimulating factor-1’ (CSF-1)’ i kodlayan CSF1 genini baskı altında tutarak farklılaşma sürecinin granülositopoez yönüne kaymasını sağlar. Yine benzer şekilde monositopoetik ve antigranülositopoetik aktiviteleri olan

miRNA21 ve miRNA196b gibi gen düzenleyicilerini baskı altında tutarak granülositopoezi destekler(16). Gfi-1 transkripsiyon faktör proteininin DNA bağlayan bölgesini ilgilendiren mutasyonlar ağır konjenital nötroopeni vakalarının bir kısmından sorumludur. Gfi-1 genindeki mutasyon, CSF-1 geninin aktif hale geçmesini kolaylaştırır ve granülositopoez baskılanır(17).

Promiyelosit safhasından sonraki granülosit diferansiyasyonunda bir takım transkripsiyon faktörleri de devreye girer. C/EBP ϵ , miyelosit evresinde eksprese edilmeye başlar, Myelosit ve sonraki evrelerde granül proteinlerinin transkripsiyonunda C/EBP ϵ gereklidir. C/EBP ϵ mutasyonlarında nadir görülen spesifik granül eksikliği ile giden olgular bildirilmiştir(18). (Şekil 2.3.)

Promiyelosit evreden miyelosit evresine geçiş hücre siklusundan çıkma ile ilişkilidir. Promiyelosit evrede C/EBP ϵ ; Retinoblastom (Rb) proteinine ve E2F1' e bağlanarak bu proteinlerin genler üzerindeki etkilerini ortadan kaldırarak, miyelopoezin bu evresinde hücre siklusundan çıkışı sağlar. Bu olaya ayrıca miRNA 223' ün E2F1 üzerindeki baskılayıcı etkisi de katkı sağlar(19).

PU.1, miyelopoezin başından itibaren etkin bir transkripsiyon faktörüdür. Promiyelosit evresinden itibaren ekspresyonu giderek artar. PU.1 olmayan farelerde progenitor kök hücre gelişiminde ve terminal granülosit oluşumunda defekt vardır. Miyeloblast evre ve sonraki evrelerde C/EBP α giderek azalırken, C/EBP ϵ miyelosit ve metamiyelosit evrede zirve düzeye ulaşır. C/EBP β , C/EBP γ , C/EBP δ , C/EBP ζ metamiyelosit evreden itibaren giderek artar(20). (Şekil 2.3.)



Şekil 2. 3. Kemik iliğinde granülositopoez

Nötrofil ömrü; kemik iliği, periferik dolaşım ve doku evrelerine göre üçe bölünür. Yaklaşık olarak kemik iliği ömrü (proliferasyon ve matür nötrofil oluşumuna kadar geçen süre) 14 gündür. Matür nötrofiller doku ve dolaşımdaki miktarlarından çok daha fazla sayıda kemik iliği havuzunda depolanırlar. Bir kez periferik dolaşıma geçince yarı ömürleri 6-10 saat arasında değişir. Diapedez ile endotel hücrelerinin arasından dokuya, inflamasyon bölgesine geçince, görevini tamamlayıp apoptoza uğramadan önce 1-2 gün daha yaşayabilir(21).

Myeloblastlar morfolojik olarak kemik iliğinde ayırtedilebilen ilk nötrofil öncülleridir. Büyük, oval nükleus, belirgin birkaç nükleolus içeren, hiç granül içermeyen mavi sitoplazmalı hücrelerdir. Bu evreden sonra promiyelosit ve ardından miyelosit evreleri başlar. Bu evrelerde hücreler granülleri ile ayırtedilebilirler. Azurofilik veya primer granüller de denilen granül oluşumu promiyelosit evresinde olur. Bu granüller miyeloperoksidaz(MPO), bakterisidal peptidler ve lizozomal enzimler içerir. Miyelosit evresindeki hücreler ise, peroksidaz(-), spesifik veya sekonder granüller de denilen, başlıca laktoferrin içeren granül proteinlerini sentezlerler. Miyelosit evresinden sonra artık hücre bölünmesi olmaz, hücre siklusu dönemi sona ermiştir. Sonraki evrelerde, yani metamiyelosit, band ve matür nötrofil evrelerinde nükleer yoğunlaşma, glikojen depolanması, jelatinazdan zengin tersiyer granül ve sekretuar vezikül depolanma olayları gerçekleşir(22).

Wright boyama ile yapılan bir periferik yaymada, matür nötrofiller 10-15 mm genişliğindedir. Yoğun kromatin ağı ile kaplı, multilobüle polimorfik bir nükleus ile granülleri ve glikojen kümelerini barındıran sarı pembe sitoplazma içerir. Ortalama nükleus lob sayısı üçtür. Dolaşımdaki nötrofiller genellikle yuvarlak şekillidir, bazen yüzeyleri kabarık olabilir. Hücre iskeleti büyük oranda aktin filamanları ve mikrotübüllerden oluşur. Bu yapı nötrofilin hareketinde, fagositozda ve ekzositozda anahtar rol oynar. Mikrotübüller golgi organelinin yakınında, perinükleer sitoplazmada ışınal biçimde dizilir. Aktin ise; organellerin dışında, daha periferik yerleşimli, ağ yapısını kurar. Aktin, aktin bağlayan proteinler sayesinde plazma membranına bağlanır ve hücrenin çatısını oluşturur(23).

Nötrofil farklılaşması esnasında görülen morfolojik değişiklikler gen ekspresyonu ve protein sentezi arasındaki sıkı ve koordine işbirliğine bağlıdır. MPO

ve katepsin gibi primer granüller için sentezlenen mRNA' nın transkripsiyonu ve translasyonu sadece miyeloblast ve promiyelosit evreye özgüdür. Laktoferrin ve transkobalamin 1 gibi sekonder granüllerin oluşumu ise miyelosit ve metamiyelosit safhada olur. Jelatinaz oluşumu ise band evresinde başlayıp matür nötrofillede de devam eder(24). Lökosit β integrin alt grubu olan CD11b ilk kez miyelosit evrede belirir. Respiratuvar oksidatif patlama kompleksi alt grup elemanı olan gp91^{phox} sentezi nötrofil matürasyonunun geç dönemlerinde olur. Metamiyelosit evreden önce respiratuvar oksidatif patlama etkinliği yoktur(25).

Matür nötrofiller kemik iliğinden ayrıldıktan sonra bile gen aktivitelerini ve protein sentez yeteneklerini kaybetmezler. Sitokinlerle indüklenen gen ekspresyonu, mRNA sentezi, oksidatif patlama kompleksi, Toll-like reseptör2 (TLR2) ve IL-8 oluşumu buna örnektir. Matür nötrofiller ayrıca IL-1, IL-6, TNF α , GM-CSF, M-CSF gibi inflamatuvar yanıtta rol alan birçok sitokin sentez ve sekresyonunu gerçekleştirebilir(26).

2.2. Nötrofil Morfolojisindeki Anormallikler

İnflamatuvar sinyaller sonucu nötrofiller aktive olur, granül füzyonu ile beraber vakuolizasyon ve toksik granülasyon meydana gelir. Bu durum inflamasyona spesifik olmayan morfolojik bir yanıttır ve bakteriyel enfeksiyon varlığını göstermez. Alder-Reilly anomalisinde de büyük azurofilik granüller vardır, otozomal resesif (OR) geçişlidir; ama nötrofil fonksiyonu etkilenmemiştir. Döhle cisimcikleri normal nötrofillede enfeksiyonun herhangi bir safhasında görülebilir. Bu cisimcikler immatür evreden kalma, şekilsiz endoplazmik retikulum varlığını gösterir, yüksek miktarda RNA ve ribozom varlığından dolayı maviye boyanırlar. May-Hegglin anomalisinde; granülosit ve monositlerde döhle cisimcikleri, lökopeni, dev plateletler ve değişik derecede trombositopeni vardır. Bu otozomal dominant (OD) geçişli sendrom, kas dışı miyozin ağır zincirini kodlayan genin mutasyonu sonucu olur(27).

Nötrofil hipersegmentasyonu (en az dört loblu), vitamin B12 ve folik asit eksikliğinin bir bulgusu olabilir; ayrıca hastalık dışında da otozomal dominant kalıtımla geçebilir. Nötrofil hiposegmentasyonu (iki lob veya daha az) ise Pelger-Huet anomalisinde görülür. Nükleer yapıda bulunan, bir integral proteini olan lamin

B' yi kodlayan genin mutasyonu sonucu oluşan, OD geçişli bir hastalıktır. Nükleus genellikle iki lobludur. Pelger-Hüet anomalisi band nötrofillerden ve miyeloproliferatif hastalıklarda görülebilen 'psödo Pelger-Hüet' anomalisinden ayırtedilmelidir. İki loblu nükleus ayrıca spesifik granül eksikliğinde de görülebilir. Burada periferik kan yaymasında pembe boyanan spesifik granüller yoktur(28).

2.3. Granül ve granül proteinlerinin oluşumu

Granüller, granülositlerin depo proteinleri olup, mikroorganizmaları yok etmede ve dokuları sindirmede görevlidirler. Granüllerin saptanması, miyeloblast evresinden itibaren başlar. Granül oluşumu matürasyonun son aşamasına kadar devam eder. Bazı granül proteinleri nötrofil ve öncülleri dışında karaciğer tarafından da üretilip, sekrete edilir. Haptoglobulin, alfa 1 asit glikoprotein ve alfa 1 antitripsin bu proteinlere birer örnektir(29). Tüm granül proteinleri eşit derecede depo edilmezler. Lizozim; promiyelosit evresinden itibaren üretilen antibakteriyel bir proteindir. Yeni üretilen lizozim hücre dışına salınırken, alfa defensin gibi proteinler promiyelositlerde oluştukları zaman depo edilir, matür miyelositlerde oluştuklarında ise hücre dışına salınırlar. Bu durum miyeloid seri elemanlarındaki granül depolanması ve sekresyonundaki dengeyi ve seçiciliği gösterir(30). Kemik iliğindeki miyeloid kompartmanın büyüklüğüne bakarak miyeloid seri elemanlarının hedefe yönelmemiş granül proteinleri ile dolu majör potansiyel organ olduğu söylenebilir(31).

Nötrofil granülleri karakteristik granül proteinlerinin varlığına göre başlıca üç alt gruba ayrılır.

2.3.1. Primer(azurofilik) granüller

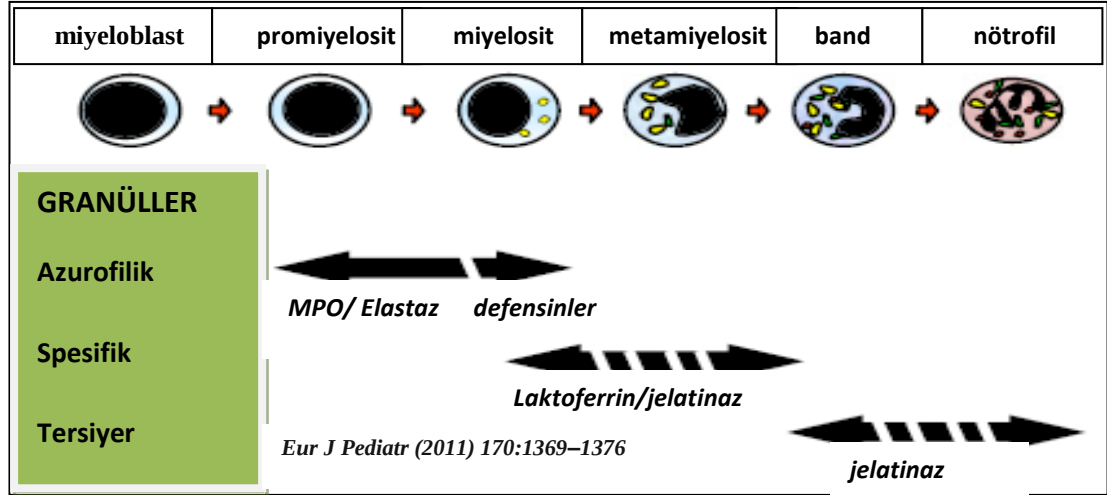
Azurofilik granüller histokimyasal olarak oksijen bağımlı öldürme yolağında yer alan MPO varlığına göre tanımlanır. Bu yeşil renkli hem(+) enzim, püye ve miyeloid lösemide kemik iliğine rengini verir. Azurofilik granüller ayrıca defensin, bakteridal permeabilite arttırıcı protein ve sitotoksik polipeptidler gibi oksijen bağımlı olmayan proteinler de içerir. Diğer azurofilik granül proteinleri ise nötral serin proteazlar (katepsin ve elastaz gibi.) ve sindirim enzimleridir(32). (Şekil 2.4.)

2.3.2. Sekonder (peroksidaz(+), spesifik) granüller

İçerdikleri laktoferrine göre tanımlanırlar ve nötrofillerde özelleşmiş olarak bulunurlar. Laktoferrin direkt bakterisidal aktivitesi de olan, demir bağlayan bir proteindir. Spesifik granüller; lizozim, lipokalinler, metalloproteinazlar, kollejenaz ve jelatinaz içerirler. (Şekil 2.4.) Sekonder granül membranları respiratuar oksidatif patlamada rol alan, elektron tanımada görevli, flavositokrom b558 proteinini barındırır. Ayrıca spesifik granül membranları adeziv proteinler, TNF ve kemotaktik peptidler için reseptör taşırlar(32).

Spesifik granüller kollajenaz ve jelatinaz içermesine rağmen, nötrofil jelatinaz deposu asıl olarak tersiyer bir granül alt grubunda bulunur. Bu granül ayrıca membran ilişkili metalloproteinaz lökolizin (MMP-25) de içerir. Tersiyer granüller nötrofil matürasyonunun geç evrelerinde oluşturulur, daha küçüktür ve ekzositoz ile hücre dışına salınımı daha kolaydır(32).

Sekretuar veziküller band ve matür nötrofillerde plazma membranının endositozu ile oluşturulur ve önemli bir lökolizin deposudur. Granül sınıflandırmasındaki ana tema granülopoez esnasında, farklı evrelerde üretilen granül proteinlerindeki çeşitlilikten kaynaklanır(33). Primer veya azurofilik granülleri oluşturan proteinler, miyeloblast ve promiyelosit evrelerinde; spesifik ve jelatinaz matriks proteinleri ise granülopoezin daha geç evrelerinde üretilir. Bu üretim için mutlaka bir transkripsiyon faktörü olan C/EBPε' a gereksinim vardır. C/EBPε null farelerde spesifik ve jelatinaz granüller bulunmaz(34).



Şekil 2. 4. Nötrofil diferansiasyonu ve granüller

2.4. Nötrofil Hücre Yüzey Reseptörleri

Matür nötrofillerin başlıca görevi; hedef dokuya hızla ulaşarak mikroorganizmaları yok etmek ve inflamatuvar debrisini temizlemektir. İnflamatuvar uyarıya hızlı bir yanıt için nötrofiller yüzeylerinde birçok reseptör eksprese ederler. Bu reseptörler yapılarına ve hücre içi sinyal yolağındaki görevlerine göre farklı gruplara ayrılırlar. Bu reseptörlerin birçoğu TLR ve formil peptid reseptörler gibi nötrofilin ‘innate immün sistem’ deki rolünü açıklayan, antijen bağlama ve tanıma özelliği olan reseptörlerdir(35).

Ligand; nötrofil reseptörüne bağlandıktan sonra, fosfolipaz C’ yi aktive ederek membran fosfolipidi olan fosfatidil inozitol 4,5 bifosfat (PIP₂)’ı iki önemli ikincil mesajcı olan diaçilgliserol (DAG) ve 1,4,5 inozitol trifosfat (IP₃)’a dönüştürür. Oluşan bu moleküller intraselüler kalsiyum depolarının serbestleşmesine neden olurlar. İntraselüler kalsiyum konsantrasyonundaki değişiklikler, nötrofil degranülasyonu, sekresyonu ve fagositozu esnasında fagolizozom oluşumu için son derecede önemlidir. PIP₂’ i katalize eden diğer bir enzim de fosfatidilinozitol 3’ kinaz (PI3K)’ dır(36).

2.5. Nötrofil Adezyonu ve Dokulara Göçü

İlk defa 1867 yılında Cohnheim tarafından lökositlerin, kan dolaşımından dokulara, inflamasyon bölgesine göç ettiği tanımlanmıştır. Conheim, bu deney için

intravital mikroskop altında doku hasarı sonrası kurbağa dili ve mezenter mikrovasküler yapılarını incelemiştir. Bu çalışmada ayrıca inflamatuvar bir uyarı sonrasında damar duvarı yapısındaki değişiklikleri saptamış, lökositlerin damar duvarına artmış tutunma özelliğini de göstermiştir(37).

Kan dolaşımından inflamasyon bölgesine geçmek için lökositler mutlaka damar endoteline yapışmalı ve endotel hücreleri arasında diapedez denilen olayla hedef dokuya ulaşmalıdır. Tüm bu olaylar, inflamatuvar moleküller ve kemoatraktanlar ile aktive olmuş lökositler ve endotel hücreleri arasındaki bir seri, muntazam olaylar bütünüyle gerçekleşmektedir(38).

İlk basamak, postkapiller venüllerde gerçekleşen, ‘yuvarlanma’ (rolling) denilen nötrofiller ile endotel hücreleri arasındaki düşük afiniteli bağlanma olayıdır. Bu geçici bağlanma endotel hücreleri tarafından sentezleri arttırılan selektinler sayesinde olur. Bu selektin ailesi, Lewis X, sialil-Lewis X gibi fukozile moleküllere bağlanan glikoprotein yapıdaki adezyon molekülleridir(39). P-selektin nötrofil adezyonunun birinci basamağında önemli bir selektindir. Endotel hücresinin Weibel-Palade cisimciklerinde ve plateletlerin alfa granüllerinde depolanır. Endotel hücresinin histamin, trombin ve diğer inflamatuvar moleküller ile aktivasyonu sonrası P-selektin molekülleri depolardan salınarak hücre yüzeyinde eksprese edilirler(40). E-selektin ise endotel hücrelerinde az miktarda eksprese edilir, inflamatuvar moleküller ile de novo olarak sentezi artar. E- selektin nötrofil yüzeyinde bulunan 3 farklı liganda bağlanabilir. Bunlar P-selektin glikoprotein ligand 1 (PSGL-1), E-selektin ligand 1 (ESL-1) ve CD44’ tür. Bu ligandlar sırasıyla tutunma, yuvarlanma ve hız azaltma yoluyla nötrofillerin endotel hücreleri tarafından yakalanmasını sağlarlar(41).(Şekil 2.5.) L-selektin nötrofillerde, mononükleer fagositlerde ve lenfositlerde eksprese edilir, lökosit aktivasyonundan kısa bir süre sonra, bir dizi enzimatik olaylar sonunda yüzeyden dökülür. Lökosit adezyonunun modülasyonunda görevli bir reseptördür(42).

Yuvarlanan nötrofiller endotel yüzeyinden koparak tekrar dolaşıma dönebilirler. Bazıları sıkı sıkıya damar duvarına yapışır. Bu sıkı sıkıya tutunma lökosit integrin adezyon reseptörleri ile endotelyumdaki interselüler adezyon molekülleri (ICAMs) arasındaki bağlanma ile olur(39). (Şekil 2.5.)

Birbirlerine non-kovalan bağlarla bağlanan, glikolize alfa ve beta zincir heterodimerleri içeren büyük adezyon protein ailesi olan integrinler, içerdikleri beta zincir alt grubuna göre sınıflandırılırlar. Çoğu integrin proteini ekstraselüler matrikste proteinlerin tutunması için bir reseptör görevi görür. Bazıları glikoprotein 2b/3a gibi hemostazda görev alır. Nötrofil $\beta 1$ integrinler, nötrofillerin kemik iliği havuzunda retansiyonunun sağlarken, $\beta 2$ integrinler ise inflamasyon esnasında lökositler ile endotel hücreleri arasındaki bağlanma fonksiyonu ve ayrıca kompleman partikülleri için opsonik reseptör görevini üstlenirler. Dört farklı lökosit $\beta 2$ integrin alt grubu vardır. Hepsinde aynı 95-kd beta (CD18) altgrubu varken, alfa altgrupları birbirinden farklıdır. Bunlar, CD11a (177kd), CD11b (165kd), CD 11c (150 kd), CD 11d (160kd)' dir. Lenfosit fonksiyon antijen 1 (LFA-1), tüm lökositlerde eksprese edilir. Mac-1 (CR3) ve p150,95 granüositlerde, mononükleer fagositlerde, bazı aktive T lenfositlerde ve büyük granüllü lenfositlerde eksprese edilir. Mac-1 nötrofillerin başlıca $\beta 2$ integrini iken, $\alpha_d\beta 2$ özellikle doku makrofajlarının $\beta 2$ integrinidir(43) . Ortak $\beta 2$ integrin alt grubu CD18' in mutasyonu lökosit adezyon defekti tip1 (LAD 1) denilen fagosit fonksiyon bozukluğuna yol açar. LAD 1 de hiçbir $\beta 2$ integrin bulunmaz. Tek başına alfa alt grubu $\beta 2$ integrin fonksiyonunu yerine getiremez. Beta altgrubunun büyük glikolize bir ekstraselüler domaini, tek bir transmembran domaini ve kısa bir sitoplazmik kuyruğu vardır. Alfa altgrubunun ise glikolize bir integral membran domaini, transmembran segmenti ve kısa bir sitoplazmik kuyruğu vardır. Tüm bu integrin segmentlerinin hepsinin ayrı ayrı fonksiyonları vardır(44).

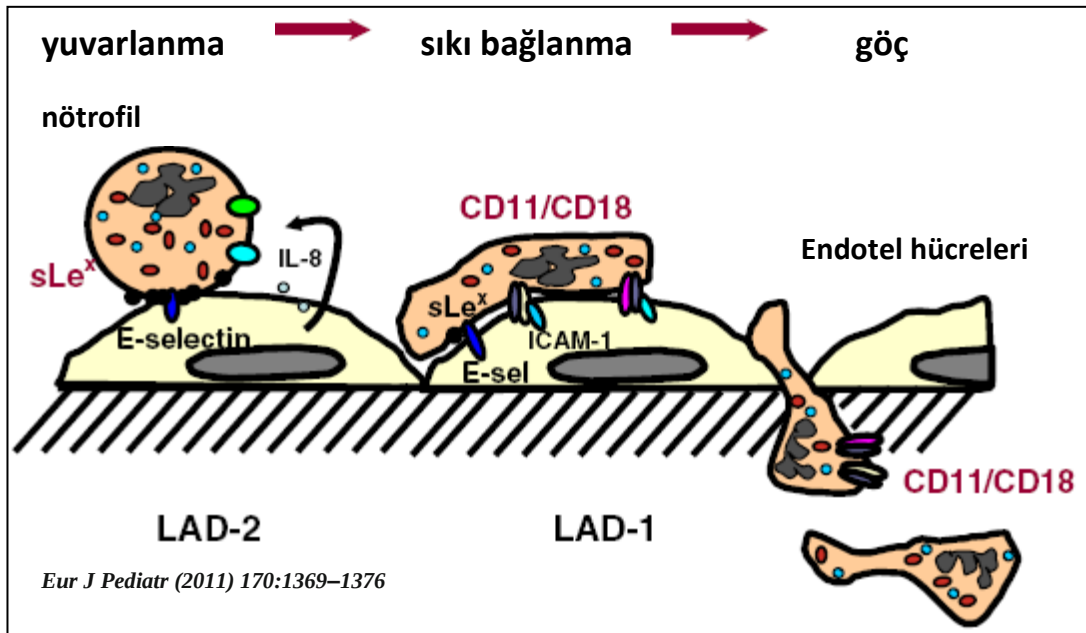
$\beta 2$ integrinler nötrofil hücre yüzeylerinde eksprese edilmelerine rağmen, çoğu intraselüler sekretuar veziküllerde depolanırlar. Nötrofillerin inflamatuvar sitokinler ve kemoatraktanlarla aktivasyonu sonunda sekretuar veziküller hücre membranı ile füzyona uğrar ve normalin 10 katı kadar $\beta 2$ integrin nötrofil yüzeyinde eksprese edilir(45).

$\beta 2$ integrinler için ligand görevini ICAM' ler oluşturur. Bu transmembran proteinleri, iki ile altı arasında immünglobulin domaininden oluşur ve endotel hücreleri, T lenfositler ve daha birçok hücrede eksprese edilirler. Özellikle ICAM-1 ve ICAM-2 nötrofil ve diğer lökositlerin endotele bağlanmasında asıl fonksiyonu

üstlenir. İnflamasyon bölgesinde sitokinlerin yardımıyla endotel hücrelerinde ICAM-1 ekspresyonu arttırılır. Vasküler endotelial hücre adezyon molekülü 1 (VCAM-1) yine immunglobulin yapı taşları içeren, endotel hücrelerince eksprese edilen adezyon moleküllerinden bir tanesidir(46).

$\beta 2$ integrinler adezyonun yanı sıra lökosit aktivasyonunda da çok önemli rol oynarlar. Ligandlarla bağlanma sonucu tirozin kinaz ve diğer sinyal yollarındaki molekülleri aktive ederek, migrasyon, oksidatif patlama, Fc γ -aracılı fagositoz ve degranülasyon gibi birçok nötrofil fonksiyonunun gerçekleşebilmesi için kostimulatuar sinyal oluşumunu sağlarlar(47).

Migrasyonun son basamağında damar içindeki nötrofiller yapışmış olduğu endotel hücreleri arasında sıkışır ve bazal membranı geçer. Bu geçiş olayına diapedez denir. Diapedez için $\beta 2$ integrinler ile ICAM-1 arasında adezyon olmalıdır. (Şekil 2.5.) İmmunglobulin ailesinden olan, endotel ve epitelyum hücrelerinin özellikle sıkı bağlantı noktalarında eksprese edilen, ‘junctional adezyon molekül 1’ (JAM-1), transmigrasyon esnasında LFA-1 (CD11a/CD18)’e bağlanarak transmigrasyona katkıda bulunur. Göç eden nötrofiller bu esnada endotel hücrelerinde hücre içi kalsiyum artışını stimüle ederek endotel hücrelerinin aktin iskelet çatısını değiştirirler. Bu sayede tranmigrasyon daha da kolaylaşır(48).



Şekil 2.5. Nötrofil yuvarlanma, adezyon ve migrasyonu

2.6. Kemotaksis

Kemotaksis, bir hücrenin konsantrasyon gradienti doğrultusundaki hareketidir. Nötrofil hücresel hareket kabiliyetindeki ve kemotaksin diğer basamaklarındaki sorunlar bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara yatkınlığa neden olur. Nötrofil yüzeyinde taşıdığı özelleşmiş reseptörler sayesinde kemotaktik uyarıyı algılar. Nötrofil, ön kısmında aktin tübüllerinden zengin, çekirdek ve organellerin hücrenin arka kısmına yeniden konuşlandırıldığı bir yapı ve yalancı ayakları çıkıntılar oluşturarak hareket eder(49).

Nötrofil hareketi esas olarak aktin filamentinin koordineli bir şekilde organize ve deorganize olması ile ilgili dinamik bir süreçtir. Bu süreçte aktin bağlayıcı proteinler, hücre içi ikincil ileti sistemini oluşturan moleküller gibi birçok düzenleyici molekül katılır. Örneğin, hücre içi kalsiyum artışı, bir aktin düzenleyici protein olan gelsolini aktive ederek aktin filament yapısını deorganize eder. Membran fosfolipidlerinden olan fosfoinositollerin hücre içindeki artışı ise aktin monomerlerini bir araya toplayarak organize bir aktin filament yapısı oluşumunu sağlar(50).

2.7. Tanıma, Opsonizasyon ve Fagositoz

Nötrofilin tanıma fonksiyonu için, mikroorganizma, yabancı partiküller ve zedelenmiş hücrenin; opsonin denilen, kompleman sisteminin proteolitik fragmanlarının ve bazı spesifik immünglobulinlerin oluşturduğu moleküller ile kaplanması gerekir. Opsonizasyon Yunancada ‘yemek için hazırlamak’ manasına gelir. Kompleman kaskadından C3(C3b ve C3bi) ve opsonik antikorlar da denilen IgM, IgG1 ve IgG3 temel opsoninlerdir. Hedef bu opsoninler ile işaretlenerek nötrofil yüzeyinde bulunan spesifik reseptörler yardımıyla tanınır. Bu reseptörler immünglobulin yapısındaki opsoninler için Fcγ reseptörü, kompleman yapısındaki opsoninler için CR olarak isimlendirilir. (Şekil 2.6.) Gerek opsonin moleküllerinin gerekse nötrofil spesifik opsonin reseptörlerinin yokluğu ile giden tablolar enfeksiyonlara duyarlılıkta artış ile karakterizedir(51).

Nötrofillerin opsonin olmasa dahi hedefi tanımasını sağlayan ‘ pattern recognition receptor’ denilen geniş bir makromolekül tanıma yelpazesi sağlayan

yüzey reseptörleri vardır. Bu ailede en önemli grubu ‘Toll-like receptors’ (TLRs) denilen ve yaklaşık insanda 10 tane alt grubu tanımlanmış reseptör ailesi oluşturur. Bunlar farklı mikroorganizmalar tarafından eksprese edilen peptid, lipid, karbonhidrat ve nükleik asit yapıları gibi birçok molekülü tanıyabilirler(52).

Opsonize partikülün reseptör ile etkileşimi sonucu fagositik vakuol oluşur. Vakuol oluşum mekanizmaları net değildir, ama tıpkı nötrofil kemotaksisi gibi bu süreçte de aktin filamanlarının organizasyonunun başlıca mekanizmayı oluşturduğu düşünülmektedir. FcγR aracılı fagositozda nötrofil yalancı-ayaksı çıkıntıları bir fermuar gibi kapanarak partikülü çevreler ve fagozom denilen yapı oluşur. Kompleman aracılı fagositozda, opsonin-partikül bileşkesi nötrofil hücre yüzeyinde ancak belli başlı yerlere yapışır ve o noktalarda sitoplazma içine doğru batar. Bu süreçte yalancı-ayaksı çıkıntı oluşmaz. Her iki süreçte de farklı biyokimyasal yollar rol oynar(53).

2.8. Öldürme ve Sindirme

Ligandların, nötrofil kemoatraktan ve opsonin reseptörlerine bağlanması, sitotoksik ve hidrofilik proteinler içeren fagosit granüllerinin mobilizasyonuna yol açar. Ayrıca oksijen metabolitlerinin oluşumunu sağlayan enzimatik reaksiyonların uyarılmasını sağlar. Hedefi yok etmeye yönelik tasarlanmış bu sistem başlıca oksijen bağımlı ve oksijenden bağımsız öldürme olmak üzere ikiye ayrılır(54).

Degranülasyon, granül membranı ile plasma veya fagozom membranının füzyona uğrayarak, granül proteinlerinin bu yeni füzyon membranı üzerinden ekstraselüler alana veya fagozom içine transfer edilmesi olayıdır. Granül translokasyonunda mikrotübüller ve mikrofilamanlar rol oynar. Hücre içi kalsiyum artışı degranülasyonu tetikler. Farklı granül proteinleri değişik derecede füzyon proteini eksprese eder. En fazla sekretuar granüllerde, en az ise spesifik granüllerde füzyon proteini eksprese olur. Yine farklı granüller değişik miktarlarda kalsiyum artışına duyarlıdır(54).

Bazı mikroorganizmalar, granül ve fagositik membran arasındaki füzyonu önleyerek hücre içinde yaşayabilirler. Örneğin, mikobakteri fagozom içine alınsa dahi, salgıladığı bazı moleküllerin yardımı ile füzyon oluşumunu inhibe eder ve bu

sayede hayatta kalır. Bazı virülen salmonella türleri de oksidatif patlama sonucu oluşan oksijen metabolitlerinin fagozom membranına translokasyonunu engeller. *Helicobacter*, *Ehrlichia*, *Francisella* ve *Yersinia* gibi bazı bakteriler de benzer mekanizmalar ile konak savunmasından, fagositer sistemden kurtulurlar(55).

2.8.1. Oksijen Bağımsız Toksisite

Nötrofil granülleri oksijenden bağımsız öldürmede anahtar molekülleri ihtiva eder. Esas olarak azurofilik (primer) ve spesifik (sekonder) granüller depoyu oluşturur. Oksijen bağımsız öldürme mekanizması lokalize enfeksiyonda, hipoksi ve asidozun hakim olduğu durumlarda antimikrobiyal aktiviteyi gerçekleştirir(56).

Nötrofil azurofilik granüller birçok katyonik antimikrobiyal protein içerir. Defensinler, total nötrofil hücresel proteinlerinin %5' inden daha fazlasını içeren küçük peptidlerdir. Bu peptidler birçok gram(+) ve gram(-) bakteriler, funguslar, mikobakteri türleri ve virüsler olmak üzere geniş bir antimikrobiyal kapasiteye sahiptirler. Defensinler hücre içine girerek, voltaj bağımlı kanallar oluşturup lizise yol açarlar(57). BPI (bacterial permeability increasing) protein özellikle gram(-) bakteriler üzerinde etkilidir. Serposidinler, serin proteaz süperfamilyasının üyelerindendir, azurosidin ve 3 adet daha serin proteaz (katepsin G, elastaz, proteinaz-3) içerir. Serposidinler, insan nötrofillerinde defensinden daha geniş bir sitotoksik ve antimikrobiyal spektrumu olan granül proteinleridir(58).

Gerek azurofilik gerekse spesifik granüller saprofitik gram (+) bakteri duvarını hidrolize eden lizozim içerirler. Spesifik granüller demir bağlayan bir glikoprotein olan laktoferrin sayesinde hedef mikroorganizmada demir metabolizması üzerinden sitotoksik etki gösterir. Laktoferrin ayrıca non-enzimatik bir reaksiyonla respiratuar patlama esnasında hidroksil (OH-) radikallerin oluşumunu katalize ederek oksijen bağımlı toksisitede de rol alır(54).

Azurofilik granüller asidik pH' da fonksiyon gören bir grup hidrolaz içerir. Biyokimyasal yöntemlerle ve indikatör boyalarla yapılan çalışmalar, nötrofil öldürme fonksiyonu esnasında pH' daki geçici bir yükselmenin, yerini daha kalıcı olan asidik bir ortama bıraktığını göstermiştir. Bu hidrolazlar asidik ortamda fonksiyon görerek, antimikrobiyal aktiviteden ziyade sindirim görevini üstlenirler(59).

Nötrofil granül proteinlerinin eksikliği ile giden hastalıklar enfeksiyonlara artmış duyarlılık ile karakterizedir. MPO' nun parsiyel ve tam eksikliği genel popülasyonda % 0,05 oranında görülür. Diğer nötrofil granül proteinlerinin eksikliği şu ana kadar henüz tanımlanmamıştır. Nötrofil serin proteinazları kodlayan gen bölgesi fare deneylerinde delesyona uğratıldığında artmış gram(-) sepsis ve fungal enfeksiyon tabloları gelişmiştir(60).

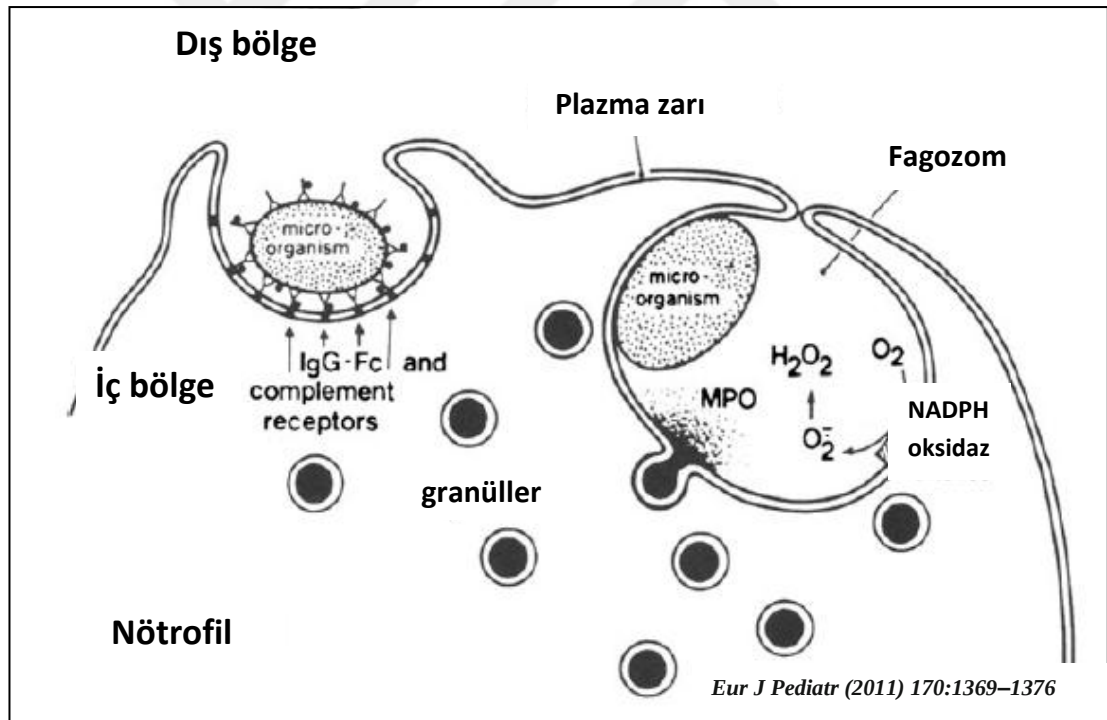
2.8.2. Oksijen Bağımlı Toksisite

İstirahat halindeki nötrofilin başlıca enerji kaynağı glikolizdir. Çok az miktarda oksijen kullanır. Ancak opsonize mikroorganizma ile temas sonrası veya ortamda artmış kemoatraktan varlığında oksijen tüketimi saniyeler içinde normalin 100 katı kadar artar. Fagositik sistemdeki bu oksidatif mekanizma ilk defa 1933 yılında tanımlanmıştır; fakat daha detaylı bilgiler son 30 yılda tarif edilmeye başlanmıştır. Bu fenomenden sorumlu enzim kompleksi NADPH oksidaz olarak isimlendirilir. Plasma ve fagolizozomal membranlarda gerçekleşen bu olayda NADPH molekülünden oksijen molekülüne elektron transferi gerçekleştirilir. Bu sayede süperoksid (O_2^-) radikali oluşturulur. (Şekil 2.6.) Süperoksidin kendisi zayıf antimikrobial etkinlik gösterir; fakat daha potent oksijen radikalleri için prekürsördür. Oksidatif patlama sisteminin genetik olarak bozukluğu ile giden kronik granümatöz hastalık (KGH)' ta tekrarlayan ve hayatı tehdit eden enfeksiyonlar görülür(61).

Oksidatif patlamadan sorumlu oksidaz enzim kompleksi, membrana bağlı ve solubl protein alt ünitelerinden oluşur. Bu enzim kompleksi, KGH hastalarının biyokimyasal ve moleküler çalışmaları sonucu tanımlanmıştır. Oksidatif patlama fonksiyonunda görev alan dört tane polipeptid vardır, gp91^{phox}, p22^{phox}, p47^{phox} ve p67^{phox}. Bu proteinleri kodlayan genlerle ilgili mutasyonlar 4 farklı KGH alt grubuna yol açar. Bu proteinleri isimlendirmede kullanılan 'phox' kelimesi '**ph**agocyte **ox**idase' kelimelerinin ilk iki harflerinin birleşmesinden oluşturulmuştur. Beşinci bir phox proteini olan p40^{phox}; p47^{phox} ve p67^{phox} ile kompleks oluşturur, ama enzim aktivitesi için gerekli değildir, fagositoz esnasında yüksek miktarda süperoksit oluşumuna katkıda bulunur. Gp91^{phox} ve p22^{phox} alt grupları birlikte plasma veya granül membranına lokalizedir ve elektron transportundan asıl sorumlu olan

flavositokrom b_{558} heterodimerini oluşturur. KGH, ilk kez $gp91^{phox}$ subunitini kodlayan gendeki mutasyonların saptanması ile tanımlanmış olup, bu hastalık alt grubu X'e bağlı bir genetik geçiş gösterir. $Gp91^{phox}$, oksidaz enzim sisteminin redox merkezini oluşturur. $p22^{phox}$ de bir integral membran proteinidir ve NADPH oksidaz kompleksi oluşumunda bir sitozolik phox proteini olan $p47^{phox}$ 'a tutunarak enzim kompleksinde iskelet görevi görür. Flavositokrom b_{558} 'in redox aktivite özelliği sonucunda NADPH' dan O_2 molekülüne elektron aktarılır (62).

L-arjinin ve L-sitrulin aminoasitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan nitrik oksit (NO), antimikrobal etkinlik gösteren bir diğer oksijen bağımlı toksisite yolak ürünüdür. Nitrik oksit sentaz (NOS) bu tepkimeyi katalizler. Üç tip NOS izoformu vardır, bunlar endotel, beyin ve nötrofil hücrelerinde bulunur. İnflamatuar bir uyarı sonrası özellikle üçüncü tip izoformun sentezi makrofaj ve nötrofiller başta olmak üzere artar. Oluşan NO antimikrobal ve antitümöral etkinlik gösterir(63).



Şekil 2. 6. Nötrofil tanıma, opsonizasyon, fagositoz ve lizis

2.9. Nötropeni

Nötropeni; dolaşımdaki total nötrofil sayısının, yaş, ırk gibi faktörlere bağlı olarak olması gerekenden sayıca az olması durumudur. Beyaz ırkta nötrofil sayısının alt limiti iki hafta ile bir yaş arasında 1000 hücre/ μ L iken; 1 yaşından sonra alt limit 1500 hücre/ μ L' ye yükselir. 1994-2004 yılları arasında A.B.D' de yapılan bir ulusal sağlık ve beslenme araştırma surveyi; sağlıklı siyah ırkın %4,5 oranında, total nötrofil sayılarının mikrolitrede 1500 hücreden daha az olduğunu göstermiştir. Bu durum beyazlara göre 200-600 hücre/ μ L daha az nötrofil sayısı demektir. Bu farklılık muhtemelen nötrofillerin kemik iliğinden göreceli olarak daha az salınımından kaynaklanmaktadır(64).

Nötropeni; üretim yetersizliğine, dolaşımdan dokuya olan şift sonucu artmış periferik yıkıma ve bu iki durumun kombinasyonuna bağlı olarak gelişebilir. Genel olarak nötropeni; intrinsik ya da miyelopoezdeki eksiklik sonucu oluşan nötropeni ve ekstrinsik veya kazanılmış da denilen; ilaçlar, enfeksiyonlar veya otoantikorlara ikincil olarak gelişen nötropeni olarak sınıflandırılır. (Tablo 2.1.) Nötropenin klinik önemi total nötrofil sayısındaki düşüklüğün derecesine bağlıdır. Hafif nötropenide absolü nötrofil sayısı (ANS) 1000-1500 hücre/ μ L, orta derecede 500-1000 hücre/ μ L, ağır nötropenide ise <500 hücre/ μ L' dir. Agranülositoz ise ANS' nin <200 hücre/ μ L olması durumudur. Hafif ve orta dereceli nötropenide genel olarak klinik bulgu gözlenmez; fakat etyoloji mutlaka araştırılmalıdır(65).

Tablo 2. 1. Nötropeni sınıflandırması

Nötrofil ve Öncüllerinin İntrensik Defektlerine Bağlı Gelişen Nötropeni

Retiküler disgenezi
 Siklik nötropeni
 Ağır konjenital nötropeni
 Miyelokateksi/WHIM sendromu
 Shwachman-Diamond sendromu
 Albinizm-nötropeni sendromları
 Familial benign nötropeni
 Kemik iliği yetmezlik sendromları

Nötrofil ve Öncüllerinin Ekstrinsik Defektlerine Bağlı Gelişen Nötropeni

Enfeksiyon
 İlaça bağlı nötropeni
 Otoimmün nötropeni
 Kronik benign nötropeni (Çocukluk çağının kronik otoimmün nötropenisi dahil)
 Neonatal immün nötropeni
 İmmün disfonksiyonla ilişkili nötropeni
 Metabolik hastalıklarla ilişkili nötropeni
 Nutrisyonel eksikliklere bağlı gelişen nötropeni
 Retiküloendotelial sekestrasyon
 Kemik iliği infiltrasyonu

2.9.1. Nötropeni Semptomları

Nötropeni, bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara karşı duyarlılığın artmasına neden olurken; virüs ve paraziter enfeksiyonlara karşı olan konak direncini etkilemez. Belirgin nötropenik hastalarda en sık görülen püyen zayıf piyojenik

enfeksiyonlar, selülit, fronkül, yüzeysel ve derin cilt apseleri, pnömoni ve sepsisemidir. Stomatit, gingivit ve periodontit kronik tabloyu gösterir ve bazen nötropenin ilk bulguları olabilir. Perirektal enflamasyon ve orta kulak iltihabı da diğer önemli hastalık tablolarıdır. Enfeksiyonların asıl kaynağı endojen bakterilerdir; ama nozokomiyal fırsatçı mikroorganizmalar da enfeksiyona yol açabilir. Nötropenik hastalardan en sık izole edilen organizmalar *Staphylococcus aureus* ve gram (-) bakterilerdir. Özellikle de hastanede yatan veya uzun süre antibiyotik tedavisi alan hastalarda olduğu gibi, her türlü mikroorganizma enfeksiyon etkeni olabilir. Lokal enflamasyonun klasik semptom ve bulguları olan eksuda, fluktuasyon, ülserasyon ve bölgesel lenfadenopati normal bireylere göre nötropenik hastalarda daha az görülür ve yol gösterici olmaz(66).

Bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık altta yatan nedene bağlı olarak, ağır nötropenide bile oldukça değişkendir. Örneğin, otoantikorlara bağlı gelişen kronik nötropenide ANS <200 hücre/ μ L olsa dahi bu hastalar yıllarca enfeksiyona yakalanmazlar; çünkü bu hastalarda hızlı nötrofil üretimi ve transitisi sayesinde dokulara nötrofil dağıtımı görece korunabilmiştir(67).

Birçok kronik nötropeni hastasında normal veya artmış sayıda kan monositi vardır. Bu durum alternatif fagositoz kaynağı sağlar. Ancak monositlerin inflamasyon bölgesine ulaşması ve bakterisidal etkinliği nötrofillere göre daha azdır. Bu nedenle monositler ağır nötropenik hastalarda sadece sınırlı oranda koruma sağlayabilirler. Ayrıca bu hastalarda hümmoral, hüccresel ve doku makrofajlarını da içeren immün sistem elemanları, enfeksiyonlara karşı alternatif veya kompensatuar bir koruma sağlar(68).

2.9.2. Nötrofil ve Öncüllerinin İntrinsik Defektlerine Bağlı Gelişen

Nötropeniler

Ağır konjenital nötropeni

Giriş

Ağır konjenital nötropeni (AKN), ilk kez İsveç' in kuzey kesiminde yaşayan bir toplulukta, 1956 yılında, İsveç' li bir doktor olan Rolf Kostman tarafından

otozomal resesif yolla kalıtılan bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Hastalar hayatın erken döneminde ağır bakteriyel enfeksiyonlara yakalanıyor ve antibiyotik tedavisi ile tam düzelmiyorlardı. Total nötrofil sayıları <200 hücre/ μL idi. Daha sonra tanımlanan bu hastalık literatürde ‘HCLS-associated X1’ (HAX-1) genindeki mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkan otozomal resesif geçişli ağır konjenital nötropeni subtipi olan ‘Kostmann Sendromu’ olarak adlandırıldı(69).

Patofizyoloji

Ağır konjenital nötropeni genetik olarak heterojen bir hastalıktır. Batı literatüründe vakaların %60-80’ inden nötrofil elastaz proteinini kodlayan ELANE genindeki mutasyonlar sorumludur. ELANE ilişkili hastalık sporadik veya mendelian patern ile otozomal dominant yolla kalıtılır. ELANE genindeki mutasyonlar ilk olarak siklik nötropeni etyolojisinde saptanıp daha sonra yapılan çalışmalarda aynı genin heterozigot mutasyonlarının ağır konjenital nötropeni hastalarının yarısından fazlasında da saptandığı görüldü. ELANE geninin aynı bölgesini ilgilendiren mutasyonlar siklik veya ağır konjenital nötropeniye yol açabilir. Farklı fenotipik durumun patofizyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır. ELANE geni ile ilgili şu ana kadar 50’ den fazla mutasyon tanımlanmıştır. Diğer genetik defektler; otozomal resesif ağır konjenital nötropeniye yol açan, sinyal iletiminde ve hücre iskelet yapısının kontrolünden sorumlu mitokondial bir protein olan HAX-1, nötrofil matürasyonunda ELANE geni dahil bir çok gen üzerinde transkripsiyonel represör görevi olan ‘growth factor independence 1’ (Gfi1), X’ e bağlı ağır konjenital nötropeniye yol açan ve gene özel bir fonksiyon kazandıran ‘Wiscott-Aldrich syndrome’ (WAS), retiküler disgeneziye yol açan ‘adenilat kinaz 2’ (AK2), glikojen depo hastalığı tip 1b ve ‘glukoz 6 fosfat katabolik subunit 3’ (G6PC3)’ e bağlı nötropeniye yol açan glukoz-6 fosfataz enzim kompleksi ve akkiz olarak ortaya çıkan G-CSF reseptör (GCSFR) genleri ile ilişkili mutasyonlardır(70). (Tablo 2.2.)

Tablo 2. 2. Ağır konjenital nötropenide genetik defektler

	Gen
ELANE eksikliği	ELANE
HAX-1 eksikliği	HAX-1
GFI1 eksikliği	GFI1
X'e bağlı AKN	WAS
G6PC3 eksikliği	G6PC3
AK2 eksikliği	AK2

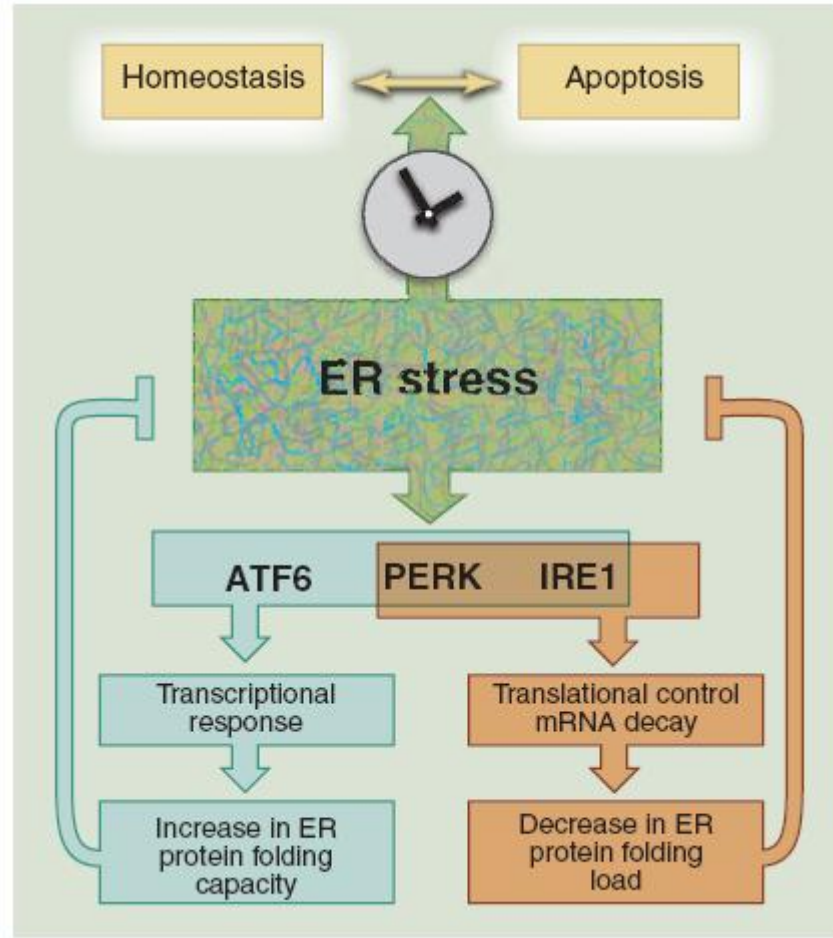
‘ELANE’ (Nötrofil Elastaz Geni)

Nötrofil elastaz, azurofilik granüllerde depolanan ve inflamatuvar uyarı ile salgılanan bir serin proteazdır. Nötrofil matürasyonunun promiyelositer evresinde sentezlenen, monomerik, 218 aminoasitlik bir enzimdir. ELANE genindeki mutasyonlar AKN etyolojisinde ilk tanımlanan mutasyonlar olmasına rağmen altta yatan moleküler patogenez halen tartışmalıdır. Nötrofil elastaz’ ın proteolitik aktivitesinin korunmuş olması bu hastalarda primer patogeneze fonksiyon kaybının sorumlu olmadığını göstermiştir. Yapılan son çalışmalarda patogeneze en çok üzerinde durulan mekanizma ‘ unfolded protein response (UPR)’ denilen hücresel stres esnasında endoplazmik retikulum (ER) homeostazının bozularak hücrenin apoptotik sürece girmesidir(71).

‘Unfolded Protein Response’ (Katlanmamış Protein Yanıtı)

ER, sekretuar bir hücrede membran içeriğinin %50’ sini içeren, büyük, hücre içi organellerinden biridir. Başlıca görevi yeni sentezlenmiş proteinleri uygun bir yapıda sekretuar sürece sokmaktır. Proteinler katlanmamış halde ER lümenine girerler ve burada şaperonlar ve katalizörler yardımıyla uygun üç boyutlu yapılarına kavuşurlar. Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinler olması halinde bu hatalı proteinler sekretuar yolağa giremeyip yıkım sürecine yönlendirilirler. Hatalı proteinlerin ER lümeninde birikmesini engellemeye yönelik olan bu koruyucu mekanizma ‘Unfolded protein response’ (UPR) olarak isimlendirilir(72).

ER lümeninde hatalı protein birikmesi durumunda adaptif UPR mekanizması devreye girer. 3 adet ER transmembran sinyal alıcısı aktive olur. Bu sinyal alıcıları; ‘inositol requiring kinase 1’ (IRE-1), ‘double stranded RNA activated protein kinase like ER kinase’ (PERK) ve ‘transcription factor activating transcription factor 6’ (ATF-6)’ dır. IRE-1, UPR sinyal ileti sisteminin ilk tanımlanan molekülüdür. Bu 3 sinyal alıcısının aktivasyonu ER’ nin protein katlama kapasitesini arttıran genlerin aktivasyonunu sağlayan transkripsiyon faktör üretimini tetikler. IRE-1 ve PERK aynı zamanda ER lümenine giren protein miktarını da azaltır. Tüm bu mekanizmaların amacı ER stresini azaltmaktır. Eğer homeostaz sağlanamaz ve stres durumu uzarsa hücre apoptoza gider. ELANE gen mutasyonları nötrofil elastaz proteinin yapısal açıdan ER’ de yanlış katlanmasına yol açar. Hatalı nötrofil elastaz proteinlerinin ER lümeninde birikmesi; ER’ nin UPR yanıtına neden olur(73). (Şekil 2.7.)



Walter, P., Ron, D. (2011) *The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. Science, 334 (6059), 1081-1086*

Şekil 2. 7. ‘Unfolded protein response’ (Katlanmamış Protein Yanıtı)

HAX-1 (HCLS-associated X-1)

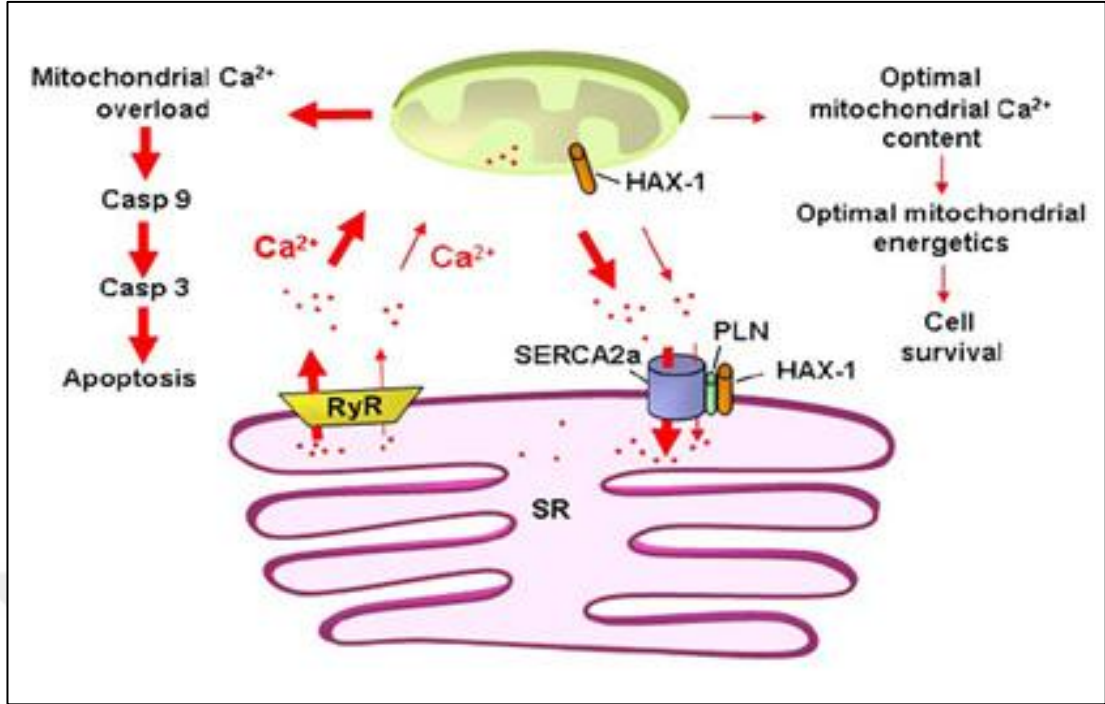
HAX-1 mutasyonları ilk kez AKN tanısı almış akraba aile bireylerinde ‘genome wide linkage study’ ve ‘ aday gen sekanslama’ yöntemleri kullanılarak tanımlanmıştır. HAX-1; 35 kDa ağırlığında olup, birçok hücrede bulunan intraselüler bir proteindir. Asıl olarak mitokondride lokalize olmasına rağmen ER ve nükleer zarda da bulunabilir. ‘Contractin’, ‘polikistik kidney disease protein 2 (PKD2)’, IL-1 α , Ga13 ve integrin $\alpha\beta$ 6 gibi sitozolik proteinlerle etkileşerek, direkt veya indirekt olarak hücre migrasyonu ve intraselüler taşıyıcı molekül trafiğinde önemli rol oynar(74). Ayrıca HAX-1; bir kardiyak protein olan fosfolamban ile de etkileşerek sarkoplasmik retikulum Ca^{2+} -ATPaz (SERCA2a) pompasını inhibe eder. Yapılan son çalışmalarda HAX-1’in SERCA2a’ ya direkt bağlanarak SERCA2a

ekspresyonunu azalttığı ve bu sayede ER Ca^{2+} düzeyini düşürdüğünü göstermiştir. Bu durum apoptotik süreç için hassas olan ER Ca^{2+} homeostazında HAX-1' in önemini göstermektedir(75). (Şekil 2.8.)

HAX-1' in hücresel canlılığın idamesinde de rolü vardır. Aktif iyon gradienti sağlayarak mitokondi iç membran potansiyelini düzenler. Bu potansiyelin bozulması hücreyi geri dönüşümü olmayan apoptotik sürece yönlendirir. HAX-1 eksikliğinde hem hematopoetik hem non-hematopoetik hücrelerde mitokondri iç membran potansiyeli bozulur(69). (Şekil 2.8.)

HAX-1, antiapoptotik fonksiyonlarından birini de 'X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP)' aracılığı ile gerçekleştirir. XIAP ile etkileşerek bu proteini stabilize eder ve hücre apoptozdan kurtulur(76). HAX-1 ayrıca kardiyomiyositlerde 'caspase-9' aktivasyonunu inhibe ederek hipoksi-reoksijenizasyon mekanizmasının tetiklediği apoptozu engeller(77).

Daha ileri çalışmalar HAX-1' in izoform A ve B olmak üzere 2 varyantının olduğunu, izoform B' nin nöronal hücrelerde eksprese edildiğini göstermiştir. Sadece izoform A' yı ilgilendiren mutasyonların konjenital nötrojeni fenotipi ile sınırlı kalıp, hem izoform A hem de B' yi birlikte ilgilendiren mutasyonların ise konjenital nötrojeni ve değişik derecelerde nörolojik etkilenme ile giden bir fenotipe yol açtığı görülmüştür(78).



Department of Pharmacology & Cell Biophysics - Cardiovascular Center of Excellence
Dr. Evangelia Kranias Lab, University of Cincinnati College of Medicine

Şekil 2. 8. HAX-1 (HCLS-associated X-1)

‘AK2’ (Adenilat kinaz 2)

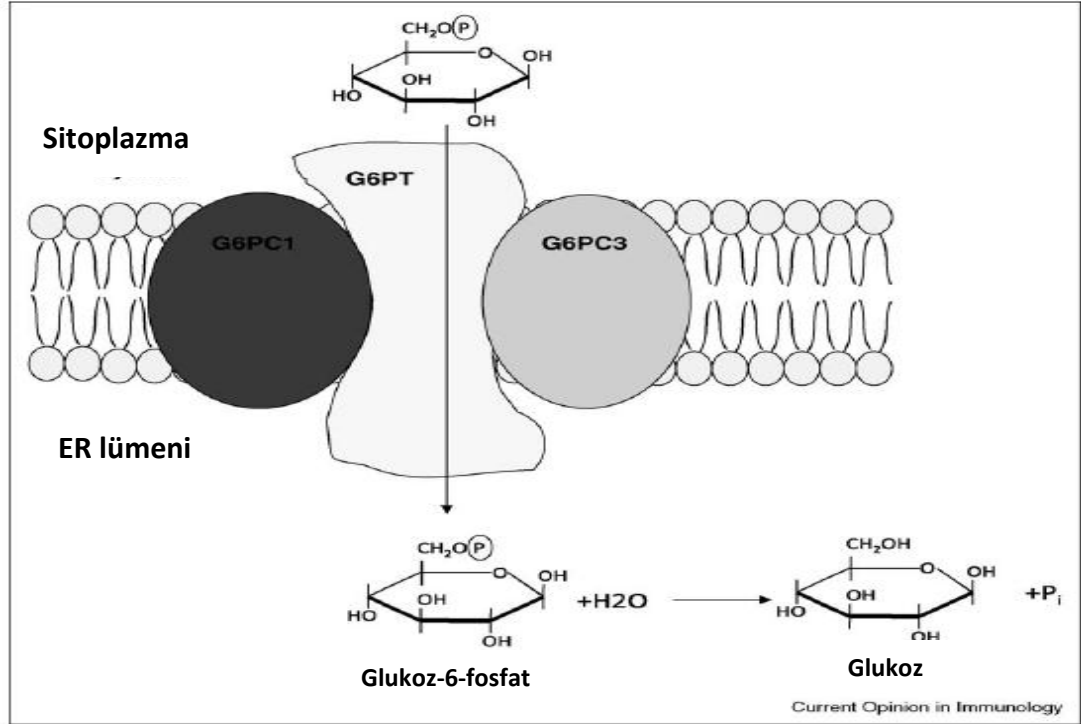
Retiküler disgenezi, miyeloid hücre diferansiasyonunun erken dönemlerinde olan duraklamaya lenfoid seri gelişiminin etkilenmesine bağlı olarak ortaya çıkan ağır kombine immün yetmezlik tablosunun eşlik ettiği OR bir hastalıktır. Bu hastalarda ayrıca sensorinöral işitme kaybı da vardır(79). Retiküler disgenezideki konjenital nötropeni G-CSF tedavisine yanıt vermez(80). Adenilat kinaz 2 (AK2) geninin biallelik mutasyonları retiküler disgeneziye yol açar. AK2 mitokondri iç ve dış membranları arasındaki boşlukta lokalizedir. Nükleozid monofosfat ve trifosfatlar arasındaki reversibl fosforilizasyon tepkimelerini katalizler. AK2, mitokondri enerji metabolizmasında ve ‘Fas associated protein with death domain’(FADD) ve ‘caspase-10’ ilişkili apoptozisin kontrolünde önemli role sahiptir. Hem HAX1 hem de AK2 eksikliğinin mitokondri iç membran potansiyelini bozması ve miyeloid prekürsör hücrelerin prematür apoptozisi, bu iki molekül arasında fonksiyonel bir ilişki olasılığını akla getirmektedir(81).

‘Glukoz 6-fosfataz’ Kompleksi Bozuklukları

Glukoz-6-fosfataz ailesi, ER membranına lokalize 3 alt üiteden oluşan enzim kompleksidir. ‘Glukoz-6-fosfataz katabolik subunit1’ (G6PC1) başlıca karaciğer ve böbrekte eksprese edilir. Glikojen depo hastalığı tip1’ den sorumludur. ‘Glukoz-6-fosfataz katabolik subunit2’ (G6PC2) daha çok pankreasın endokrin hücrelerinde bulunup, glukoz homeostazisi ile ilgiliyken, ‘Glukoz-6-fosfataz katabolik subunit3’ (G6PC3) ise birçok hücre tipinde bulunur ve AKN’ den sorumludur. (Şekil 2.9.) G6PC3, diğer alt üitelerin aksine, serum glukoz düzeyini ve glikojen depolanmasını etkilemez. Eksikliğinde ER stres mekanizması üzerinden ağır konjenital nötropeniye neden olur(82). Bozulmuş ve yetersiz glukoz transportu ER lümenindeki işlenmemiş proteinlerin glikozilasyonunu bozar. Bu durum ER stresine yol açar. Muhtemel bir diğer mekanizma ise; defektif NADPH üretimi sonucu bozulan redoks potansiyeli dengesinin ER stresini arttırarak apoptotik yolağın aktive olmasıdır(83).

G6PC3’ ün birçok hücre tipinde ekspresyonu nedeniyle nötrofil ile ilgili bozuklukların yanında hastalığa eşlik eden başka bulgular da vardır. Yapısal kalp defektleri ve ürogenital gelişim anomalileri en sık görülen bulgular olup, kemik anomalileri, iç kulak kaynaklı işitme kaybı, fasyal dismorfizm, hipotiroidi, cilt venlerinde belirginleşme de eşlik edebilir(84).

Glukoz-6-fosfataz enzim kompleksi ile ilgili bir diğer tablo da, glukoz-6-fosfat translokaz (G6PT)’ ı kodlayan SLC37A4 geninin mutasyonları sonucu ortaya çıkan glikojen depo hastalığı tip1b’ dir. G6PT, glukoz-6-fosfat’ ın ER lümenine transportunu sağlar. (Şekil 2.9.) G6PC1 eksikliğinde olduğu gibi G6PT eksikliğinde de glukoneogenez ve glikoliz disfonksiyonuna bağlı olarak bozulmuş glukoz metabolizması vardır. Ek olarak G6PT eksikliğine konjenital nötropeni eşlik eder. G6PT eksikliği olan farelerde yapılan çalışmalarda hücre içinde ER stresini yansıtan şaperon ve oksidatif stres moleküllerinin arttığı gösterilmiştir. G6PC1/G6PT kompleksi glukoz metabolizmasını düzenlerken, G6PC3/G6PT kompleksi ise nötrofil gelişimi, farklılaşması ve homeostazında kritik öneme sahiptir(85).



Şekil 2. 9. Glukoz-6-fosfataz enzim kompleksi

‘Growth factor independent 1’ (Gfi 1)

AKN’ nin primer olarak nötrofil matürasyon defekti sonucu ortaya çıkması, birçok çalışmanın miyeloid progenitör hücre gelişimi üzerine yoğunlaşmasına yol açmıştır. ‘Growth factor independent 1’ (Gfi1), transkripsiyonun düzenlenmesinde rol alan ve ağır konjenital nötropeniye yol açan bir transkripsiyon represör molekülüdür. Gfi1’ in hematopoetik sistem üzerinde birçok etkisi vardır. ELANE ile C/EBP α , C/EBP ϵ gibi hematopoetik diferansiyasyon için kritik öneme sahip farklılaşma moleküllerini ve apoptoz tetikleyici molekül olan Bax1’ in ilgili gen bölgelerini düzenler(86).

Gfi1 ayrıca, miyelopoez esnasında rol alan düzenleyici microRNA’ lardan miR-21, mir196B ile HoxA9, Pbx1, Meis1 gibi birçok molekülün transkripsiyonunu da kontrol eder(15) . Gfi1; Th2, Th17, dendritik hücre ve B hücre gelişiminde de önemli role sahiptir(87).

‘WASP’ (Wiscott-Aldrich Syndrome Protein)

Klasik olarak Wiscott-Aldrich Sendromu proteini (WASP) ile ilgili mutasyonlar, aynı adı taşıyan ve mikrotrombositopeni, immün yetmezlik ve egzema ile karakterize, X’ e bağlı kalıtım gösteren bir hastalık tablosuna yol açar(88). Mutasyonlar WASP’ ın gerek düzeyini gerekse aktivitesini azaltan mutasyonlar olup, azalmış aktin polimerizasyonuna neden olur. Aktin dinamiğindeki bozulmanın sonucu olarak hematopotik hücrelerde sinyal iletimi, migrasyon ve fagositoz gibi birçok önemli fonksiyon kaybı meydana gelir. WASP aktin iskelet yapısının dinamik bir düzenleyicisidir. WASP’ ın fonksiyon kaybına yol açan mutasyonlarının aksine; artmış fonksiyona yol açan mutasyonları X’ e bağlı konjenital nötropeniye neden olur. WASP’ ın GTPaz bağlayan bölgesini ilgilendiren mutasyonlar, proteinin otoinhibitör özelliği olan moleküler konformasyonel yapısını bozarak ‘actin related protein 2/3 (Arp2/3)’ ile etkileşimine yol açar(89). Bu kompleks aktin polimerizasyon aktivitesinin artışına yol açar. Hiperaktif WASP’ ın hangi mekanizma ile nötropeniye yol açtığı tam olarak bilinmese de, yapılan fare deneylerinde artmış aktin polimerizasyonun normal mitozu bozarak genomik instabiliteye neden olduğu ve nötrofil prekürsörlerinde apoptozun artmasına yol açtığı gösterilmiştir(90).

Akkiz G-CSF Reseptör(G-CSFR) Mutasyonları

İlk kez 1995 yılında Dang ve arkadaşları tarafından G-CSF reseptörünün intrasitoplasmik domainini kodlayan CSF3R geni ile ilişkili mutasyonların konjenital nötropeniden sorumlu olabileceği öngörülmüştür. Daha sonraki yıllarda konjenital nötropeni hastalarının seyri esnasında bu mutasyonların kazanılmış somatik mutasyonlar olduğu kesinleşmiştir. Tüm mutasyonlar, G-CSFR proteinin intraselüler karboksi ucunun negatif regülatör kısmının ve bir veya iki tirozin aminoasidinin kaybı ile sonuçlanır. Hastaların çoğunda yalnızca tek CSF3R alleli etkilenmiştir(91).

G-CSF tedavisinden önce de konjenital nötropeni hastalarında CSF3R gen mutasyonlarının saptanması, bu kazanılmış mutasyonların tek başına G-CSF tedavisine bağlanamayacağını göstermektedir(92).

Siklik nötropeni ve diğer kronik nötropeni tiplerinin hiçbirinde CSF3R mutasyonu saptanmamıştır. Bu hastalarda AML/MDS gelişimi gözlenmemiştir(93).

Uzun süreli G-CSF tedavisi esnasında CSF3R geninde mutasyonlar oluşur, takipte monozomi 7 ile karakterize miyelodisplazi ve sonunda miyeloid lösemi gelişir. MDS/AML gelişen SCN hastalarının %80' inde G-CSFR geninde mutasyon saptanmıştır(94).

CSF3R mutasyonlarının nasıl kazanıldığı ve mutant hücrelerin hangi mekanizma ile lösemik hücrelere transforme olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Olası bir mekanizma mutant G-CSFR' in reseptör ilişkili sinyal yolağını etkilemesidir. Mutant G-CSFR proteini, STAT5' i devamlı fosforile halde tutarak aktivasyonuna neden olur ve G-CSFR ilişkili sinyalin uzamasını sağlar. G-CSF ile tedavi edilen konjenital nötropeni hastalarının miyeloid progenitör hücreleri yüksek oranda fosforile STAT5 proteini eksprese ederler(95).

CSF3R mutasyonun kazanılması ile lösemik transformasyon arasındaki süre değişkendir. CSF3R mutasyonları sadece lösemik hücrelerde bulunur. CSF3R mutasyon analizi malign transformasyon riskini tarama amaçlı kullanılabilecek faydalı bir methodtur. Bu sayade prelösemik hücre klonları saptanabilir(96).

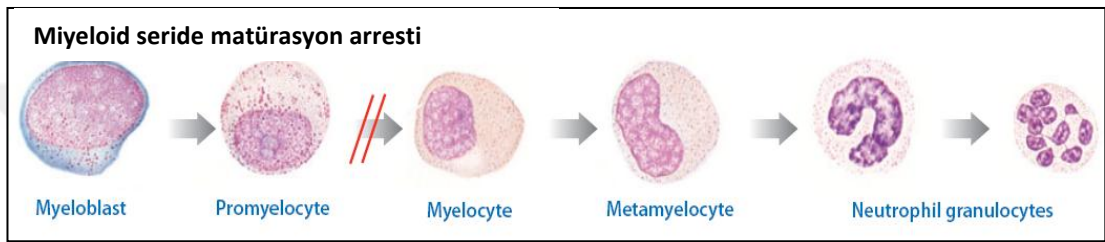
Tanı

Ağır konjenital nötropeni hayatın ilk yılında ağır sistemik bakteriyel enfeksiyonlarla seyreden, ANS' nin <500 hücre/ μ L olduğu, genetik geçişli hematolojik/immünolojik bir hastalıktır. İnsidansı yaklaşık olarak milyonda ikidir. Etkilenen bireylerde ANS genellikle yaşamın birinci gününden itibaren <200 hücre/ μ L' dir. Rekürren ateş, cilt enfeksiyonları, omfalit, stomatit, pnömoni ve perirektal apseler yenidoğan döneminde görülen tipik enfeksiyonlardır. Enfeksiyonlar sıklıkla kana, meninkslere ve peritona yayılır. En sık izole edilen mikroorganizmalar *S.aureus*, *E.coli*, ve *Psödomonas* türleridir. G-CSF tedavisinin bulunmasından önce hastaların çoğu 2 yaşından önce ölmekte idi(97).

Periferik kan tablosunda genellikle agranülositoz, orta-ağır monositoz, hafif-orta eozinofili, anemi ve trombositoz görülür. Hastaların çoğunda enfeksiyon

tablosundan bağımsız olarak IgG yüksekliği mevcuttur. Anti nötrofil antikor pozitifliği olabilir, fakat bu durum ağır konjenital nötropeniyi ekarte ettirmez(98).

Kemik iliği incelemesinde karakteristik olarak miyelosit gelişim evresinde nötrofil maturasyon arresti vardır. (Şekil 2.10.) Promiyelositler artmıştır ve atipik nükleus, vakuollü sitoplazma ve artmış çap gibi displastik morfolojiye sahiptirler. Periferik kan tablosuna benzer şekilde kemik iliğinde de eozinofili ve monositoz vardır, bu durum tedavi ile değişmez. Kemik iliği normoselülerdir. Megakaryositler normal sayıda ve morfolojidedir(99).



Annu. Rev. Immunol. 2011. 29:399–413

Şekil 2.10. Miyeloid seride matürasyon arresti

Tedavi

1987 yılında rekombinant insan G-CSF (rhG-CSF) tedavisinin bulunması ile hastalık prognozu düzelmiş ve sağ kalım önemli ölçüde artmıştır. G-CSF tedavisi öncesinde hastaların çoğu fatal enfeksiyonlar nedeni ile yoğun antibiyotik tedavisi ve bakıma rağmen erken dönemde kaybedilmekte idi. SCN hastalarının >%95' i G-CSF tedavisine ANS>1000 hücre/ μ L olacak şekilde yanıt verir. Bu hastaların antibiyotik kullanma sıklığı ve hastanede yatış süreleri belirgin derecede azalmıştır. SCN hastaları 0.56-190 μ g/kg/gün arasında, ortalama 10,2 μ g/kg/gün dozunda G-CSF tedavisine yanıt verir. Bu dozlar siklik nötropeni ve idiyatik nötropeni için gerekli olan dozdan daha fazladır. Hastalık genotipi ile G-CSF dozu arasındaki ilişkiye bakıldığında ELANE mutasyonuna sahip hastalar ortalama 8,5 μ g/kg/gün G-CSF dozuna ihtiyaç duyarken, HAX-1 mutant hastalarda bu dozun 6 μ g/kg/gün olduğu görülmüştür. HAX-1 ve ELANE negatif hastalarda ise ortalama optimum G-CSF dozu 5 μ g/kg/gün olarak saptanmıştır. G-CSF tedavisi ile kemik iliğindeki matür nötrofil yüzdesi artar. Vakuolize ve anormal morfolojideki promiyelositlerde

değişiklik olmazken; monosit ve eozinofillerin kemik iliğinde ve periferik kandaki yükseklikleri devam eder(100).

‘Severe Chronic Neutropenia International Registry’ (SCNIR) verilerine göre, tedaviye 5 µg/kg/gün G-CSF dozu ile başlanmalıdır. ANS 1000-2000 hücre/µL oluncaya kadar kademeli olarak 14 gün boyunca, en fazla 100 µg/kg/gün’ e kadar doz artımı yapılmalıdır. İlaç genel olarak subkütan yolla verilir; fakat eğer klinik olarak uygun değilse veya enjektör içinde hasta konforunu bozabilecek miktarda doz varsa aynı doz intravenöz verilebilir. G-CSF tedavisine dirençli hastalarda kök hücre faktörü ile kombinasyon tedavisi denenebilir; ancak bu kombinasyon çok ender kullanılır ve histamin salınımına yol açan mast hücre aktivasyonuna, hatta anafilaksiye yol açabilir. ‘Granulocyte macrophage colony stimulating factor’ (GM-CSF) tedavisi eozinofil ve monosit sayısında büyük artışlara yol açarken nötrofil sayısında değişiklik yapmaz(101).

G-CSF tedavisinin yan etkileri genellikle hafiftir. En sık görülenler kemik ağrısı, baş ağrısı ve döküntüdür. Diğer sık, fakat asemptomatik bulgular splenomegali ve osteopenidir. Splenomegali, AKN hastalarında G-CSF tedavisi öncesinde ve sonrasında rapor edilmiştir. SCNIR verilerinde kosta altında ortalama 2 cm palpabl splenomegali, tedavi edilmemiş hastaların %18,2’ sinde saptanmıştır. G-CSF tedavisinin ilk yılında bu oran %38,2’ ye çıkmıştır ve bu seviyede kalmıştır. 10 yıllık tedavi döneminde de dalak boyutlarında artış saptanmamıştır(102).

G-CSF tedavisine yanıt vermeyen hastalarda tek tedavi seçeneği hematopoetik kök hücre naklidir. Başarılı bir transplantasyon sonrası normal hematopoez gerçekleşir ve hastaların G-CSF tedavisine ihtiyacı kalmaz. G-CSF tedavisine iyi yanıt veren ve malign transformasyon göstermeyen hastalarda kök hücre nakli tartışmalıdır. HSCT için kesin endikasyonlar; G-CSF tedavisine yanıtızsızlık ve malign transformasyondur. Kesin HSCT endikasyon grubunda olmayıp da HLA uyumlu donörü olan hastalarda süregelen sepsis ve lösemi ilişkili ölüm riskinden dolayı kök hücre nakli önerenler de vardır. Düşük doz G-CSF tedavisine yeterli nötrofil yanıtı olan hastalarda alternatif kök hücre nakli yapılması, primer hastalığa bağlı ölüm riskinden daha fazla potansiyel tehlikeye sahiptir, bu nedenle önerilmez(103).

Uzun Dönem Prognoz ve Komplikasyonlar

G-CSF tedavisinin keşfi ve kullanıma girmesiyle artan yaşam süresi ile beraber AKN hastalarının prognozu ve uzun dönem komplikasyonları tanımlanmaya başlamıştır(104).

Lösemik Transformasyon

G-CSF tedavisinden önce AKN hastalarında lösemik transformasyon biliniyordu; ancak hastaların çoğunun ilk iki yılda sepsis veya pnömoni nedeni ile kaybedilmesi MDS/AML gelişmesinde gerçek riskin tam olarak bilinmesini engelliyordu. 1987 yılından 2005 yılına kadar SCNIR' a 70 tane MDS/AML transformasyonu gelişmiş konjenital nötrojeni hastası bildirilmiştir. Lösemik transformasyon riski tedavi süresi ve dozu ile orantılı olarak artmaktadır(100).

MDS/AML lösemik transformasyonu olan AKN hastalarının %80' inde kemik iliği hücrelerinde G-CSFR gen mutasyonları saptanmıştır. Bu durum G-CSFR' in lökomogenezde ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. AKN hastalarında lösemik transformasyon, genetik subtipten bağımsız olarak bir veya daha fazla hücrel genetik anomali ile ilişkilidir. Bunlar; monozomi 7, ras, trizomi 21 veya G-CSFR mutasyonları olup; malign dönüşüm açısından yüksek risk grubundaki hastaların belirlenmesine yol açmaktadır(105).

AKN hastalarında lösemi subtipi ağırlıklı olarak AML' dir; fakat ALL, CMML ve bifenotipik lösemi de bildirilmiştir(106).

Malign transformasyon açısından optimum kemik iliği inceleme periyodu ile ilgili güçlü kanıtlar olmamasına rağmen, SCNIR, kemik iliğinin; monozomi 7 açısından sitogenetik analizini ve diğer transformasyonu düşündürecek değişiklikler açısından yıllık incelenmesini önermektedir(100).

Osteoporoz/Osteopeni

Bazı SCN hastalarında kemik ağrısı ve patolojik kırıkların saptanması üzerine, 30 SCN hastasının kemik mineral dansitesine bakılmış ve bu hastaların 15' inde (%50) osteopeni/osteoporoz bulgularına rastlanmıştır. Bu hastaların 5 tanesinde

patolojik kırık veya orta derecede sırt ağrısı mevcutmuş. SCNIR tarafından, 121 AKN hastasının; kantitatif bilgisayarlı tomografi (Q-CT), ‘dual-energy x-ray absorbtometry’ (DEXA), ‘single photon absorbtometry’ (SPA) ve lumbar x-ray yöntemleri ile kemik mineral dansiteleri incelenmiş, bu hastaların 66’ sında (%54), değişik derecelerde anormal sonuçlar elde edilmiştir. Hastalık şiddeti ile kemik mineral dansitesi arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Birçok hasta kemik ağrısı veya kırık gibi klinik semptom tariflememiştir. Bu nedenle AKN’ deki gerçek osteopeni/osteoporoz insidansı bilinmemektedir. Osteopeni/osteoporoz patogenezi hala net olarak bilinmemektedir. Bu hastaların serum biyokimyasal panelleri tamamen normal olup, G-CSF dozu ile osteopeni/osteoporoz gelişimi ve şiddeti arasında da herhangi bir ilişki saptanmamıştır(107).

Büyüme ve Gelişme

AKN hastalığının ve G-CSF tedavisinin lineer büyümeye olan etkisini inceleyen bir araştırmada; 12 yaşın altındaki AKN hastalarının genel popülasyona göre daha kısa olduğu, 1 yaşın altındaki AKN hastalarının %29’ unun yaşa göre boylarının 10 percentilin altında olduğu görülmüştür. 36-47 ay arasındaki AKN hastalarının %32’ sinin yaşa göre boylarının 10 percentilin altında olduğu, yaş 132 aylığa kadar arttırıldığında hastaların %51’ inin yaşa göre boylarının 10 percentilin altında olduğu görülmüştür. AKN hastaları tedaviye rağmen normal popülasyona göre daha kısadırlar. Tedavi başlangıcında yaşa göre boyları 10 percentilin altında olan hasta oranı % 36 iken, 5 yıllık tedavi sonunda %46, 8 yıllık tedavi sonunda ise %27 hastada yaşa göre boy 10 percentilin altında kalmıştır. G-CSF tedavisinin lineer büyüme üzerine olan etkisini araştıran başka bir çalışmada da, ne tedaviye başlama yaşının ne de tedavi süresinin boy üzerine hiçbir istatistiksel anlamlı farklılık oluşturmadığı görülmüştür. Diğer nötropeni formlarında büyüme geriliği AKN’ ye göre daha az görülür. 12 yıllık takip süresince siklik nötropeni hastalarının %10-38’ inin, idiopatik nötropeni hastalarının ise %8-28’ inin yaşa göre boyları 10 percentilin altında kalmıştır(97).

Özetle; AKN hastaları normal popülasyona göre daha kısa boyludur. %27-41 oranında, bu hastaların yaşa göre boyları 10 percentilin altındadır. Boydaki bu

farklılık tedavi ile değişmez ve diğer nötropeni formlarına göre boy kısalığı daha şiddetlidir(97).

Retiküler Disgenezi

Miyeloid ve lenfoid seri gelişimini ilgilendiren kök hücrelerinin selektif yetmezliği, kombine immün yetmezlik tablolarının en nadir ve en ağır formlarından biri olan retiküler disgeneziye neden olur. Agranülositoz ve lenfopeninin olduğu bir lökopeni, defektif selüler ve hümmoral immünite, lenf nodlarının, tonsillerin, Peyer plaklarının ve splenik folliküllerin yokluğu ile karakterizedir. Eritroid ve megakaryositik seri normaldir. Hastaların çoğu erkektir. Otozomal yol ile kalıtılır. Kök hücre nakli ile tedavi edilen birkaç vaka dışında, rapor edilen tüm infantlar yaşamın ilk birkaç haftasında bakteriyel ve viral enfeksiyonlar nedeni ile kaybedilmiştir(108).

Siklik nötropeni

Siklik nötropeni; sporadik veya otozomal dominant yol ile kalıtılan, yaklaşık her yirmi bir günde bir, düzenli ve periyodik aralıklarla total periferik nötrofil sayısının <200 hücre/ μ L olması durumudur. Çok tipik vakalarda diğer lökosit elemanları, retikülositler ve trombositler de bu siklustan etkilenebilir. Siklik nötropeni yaklaşık bir milyonda 0,5-1 oranında görülür. Siklusun nötropeni döneminde hastalar ateş, halsizlik ve ağız yaralarından yakınır. Gingivit, periodontit, faranjit, lenfadenopati bulguları vardır. Semptomlar genelde hayatın ilk bir yılı içerisinde ortaya çıkar; ama erişkin döneme kadar da gizli kalabilir. En ciddi ve nadir görülen komplikasyonlar; mastoidit, pnömoni, vajinal ve intestinal mukozanın ülserasyonudur. Enfeksiyonların şiddeti nötropenin derinliği ile paraleldir; fakat bazı hastalar nötropeni süresince hiç enfekte olmayabilirler. Hastaların çoğunda yaşla beraber semptomlarda düzelme görülür. Bu bireylerde zamanla siklus dönemlerinde nötropenin derinliği azalır. Siklik nötropeni genel olarak benign bir hastalık olarak kabul edilmesine karşın, eski yayınlarda yaklaşık %10 oranında enfeksiyonlara sekonder mortalite bildirilmiştir(109).

Hastaların büyük çoğunluğunda nötropeni dönemi 21 ± 3 günlük periodlarla ortaya çıkar; fakat bu dalgalanma 18 gün kadar kısa, 36 gün kadar uzun aralıklarla da

olabilir. Bu dönemde nötrofil sayısı <200 hücre/ μL ’ dir, bazen 0 da olabilir. Siklus ortalama 3-5 gün sürer. Çoğu hastada nötropenin en derin olduğu dönemde monositoz görülür. Zamanla nötropeni düzelir ve monositoz ortadan kalkar. Bazen de nötropeniye retikülosit ve platelet düşüklüğü de eşlik edebilir, bu durum siklik hematopoez olarak adlandırılır. Klinik önemi yoktur. Siklusun dönemine bağlı olarak kemik iliği çok farklı morfoloji içerir. Nötropeni döneminde miyeloid seride ‘matürasyon arresti’ denilen myeloid hipoplazi görülürken, düzelme döneminde normal veya hiperplastik miyelopoezin olduğu kemik iliği bulguları vardır(110).

Siklik nötropenin hem sporadik hem de otozomal dominant formunda, nötrofil matürasyonunun promiyelosit-miyelosit evresinde sentezlenen bir serin proteaz olan nötrofil elastaz proteinini kodlayan ELANE geninde mutasyon vardır. Otozomal dominant siklik nötropeni hastalarında ‘linkage analizi’ ile tanımlanan ELANE mutasyonları aynı zamanda ağır konjenital nötropeni hastalarının da %60-80’ inden sorumludur. İki hastalık grubunda da nötrofil prekürsörlerinde artmış apoptoz vardır(111).

Siklik nötropeni, nötropenin eşlik etmediği periyodik ateş sendromlarından ve diğer nötropeni sebeplerinden ayırdedilmelidir. Siklik nötropeni tanısını koymak için 6-8 haftalık bir dönemde haftada iki kez nötrofil sayımı yapılmalıdır. ELANE genindeki mutasyon gösterilerek genetik olarak tanı doğrulanmalıdır(112).

Siklik nötropeni hastalarında iyi bir tıbbi yaklaşım; nötropenik dönemde enfeksiyonların tanımlanmasını ve tedavisini gerektirir. Genel olarak nötropenik dönemde olan üst solunum yolu enfeksiyonu bulguları spesifik bir tedavi gerektirmez. Klinisyen, özellikle fatal olabilecek spesifik enfeksiyonları gözden kaçırmamalıdır. Periodontal hastalıkları önlemek için de ağız ve diş hijyeni özel bir öneme sahiptir. Hayatı tehdit eden enfeksiyonları ve ağır diş komplikasyonlarını önlemek için nötrofil sayısının <500 hücre/ μL olduğu dönemde profilaktik G-CSF(filgrastim) tedavisi önerilir. G-CSF tedavisi nötropenin düzeltilmesi ve ilişkili semptomların giderilmesinde çok etkilidir. Bu tedavi ile siklus sayısı artabilir; fakat nötropenin süresi kısalarak, derinliği azalır. Hastaların çoğunda 2-4 $\mu\text{g/kg/gün}$ veya gün aşırı G-CSF dozu ile normal nötrofil sayısı elde edilir(113). G-CSF ile

tedavi edilen veya edilmeyen siklik nöropeni hastalarında şu ana kadar miyelodisplastik sendrom veya akut miyeloid lösemi rapor edilmemiştir(114).

Miyelokateksi ve WHIM Sendromu

Miyelokateksi, orta-ağır nötropeninin nadir görülen bir formudur. Kemik iliğinde sitoplazmik vakuollü, belirgin granül içeren ve nükleer lobların birbirine çok ince filamanlarla bağlandığı nötrofil hiperplazisi ile karakterizedir. Benzer anormal morfoloji eozinofilleri de kapsar; fakat lenfositler, monositler ve bazofiller normal görünüme sahiptirler. Rekürren siğiller ve hipogamaglobulinemi(düşük IgG ve daha az sıklıkla düşük IgM ve IgA) miyelokateksi hastalarında bildirilmiştir. WHIM; warts, hipogamaglobulinemi, enfeksiyonlar ve miyelokateksi birlikteliğinin kısaltılmış adıdır. WHIM sendromunda görülen tekrarlayan sinopulmoner ve bakteriyel enfeksiyonlar, nötropeni ve hipogamaglobulineminin bir sonucudur. Enfeksiyonlara bağlı ölüm bildirilmemiştir ve etkilenen bireylerin enfeksiyon epizodları esnasında periferik dolaşıma nötrofil göçünü sağlayabildiği görülmüştür. Nötrofil fonksiyonları genel olarak normaldir. 1964 yılından itibaren 25’ ten fazla vaka bildirimi yapılmıştır. Rapor edilen vakalarda kız cinsiyet üstünlüğü vardır(115).

WHIM sendromunun genetik temeli, hastalığı taşıyan dört aile bireyinin incelenmesi ile bulunmuştur. CXCR4 kemokin reseptörünün sitoplazmik domainini kodlayan genin mutasyonları sonucu hastalık ortaya çıkmaktadır. CXCR4’ ün ligandı SDF-1 olarak da bilinen CXCL12’ dir. Kalıtım şekli otozomal dominant olmakla beraber, vahşi tip CXCR4 genini taşıyan ve otozomal resesif kalıtım paterni taşıyan bazı bireylerde CXCR4 ilişkili sinyal iletiminde problem saptanmış olup, hastalık patogenezinde birçok genetik anomalinin etkin olabileceği gösterilmiştir. CXCR4 ve CXCR12 arasındaki etkileşim nötrofillerin kemik iliği havuzundaki dinamiziminde anahtar rol oynar. Miyelokateksi isminden de anlaşılabilceği gibi nötrofillerin kemik iliğinde retansiyonu olayıdır. Nötrofiller burada apoptoza gider, bir antiapoptotik faktör olan bcl-x ekspresyonunun azalması bunun kanıtıdır. Nötropeni ve aşırı granülosit apoptozisi G-CSF ve GM-CSF tedavileri ile kısmen düzeltilebilir. İlaç uygulamasından 4-6 saat sonra cevap görülür. Ayrıca G-CSF tedavisi ile hipogamaglobulinemi de düzelir(116).

Shwachman-Diamond Sendromu

Shwachman-Diamond Sendromu(SDS), nadir görülen, otozomal resesif olarak kalıtılan, birçok organ sistemini etkileyen, nötropeni, pankreatik ekzokrin yetmezlik, boy kısalığı ve metafizyel displazi ile karakterize bir hastalıktır. Pankreas asiner hücrelerin yerini yağ hücreleri almıştır. Hastalar progresiv kemik iliği yetmezliği ve MDS-AML dönüşümü açısından risk altındadır. Büyüme geriliği genellikle hayatın birinci veya ikinci yılında fark edilir, puberte genellikle gecikmiştir. İnfantil dönemde egzema, cilt enfeksiyonları, osteomyelit ve sepsis görülebilir. Pankreatik yetmezlik hayatın ilk yılında steatore, kilo kaybı, büyüme geriliği şeklinde kendini gösterir. Serum tripsinojen ve pankreatik izoamilaz düzeyleri genellikle düşüktür; ama tanı koydurucu değildir. Hepatomegali, hipertransaminazemi genç hastaların %50-75' inde görülür; fakat genellikle hafiftir ve yaşla beraber düzelme eğilimindedir(117).

Etkilenen çocukların yaklaşık yarısında metafizyel disostozis başta olmak üzere iskelet anomalileri vardır. En çok femur başı etkilenir; ama hastalar asemptomatiktir. Göğüs kafesi defektleri, klinodaktili, sindaktili, pes cavus, kifoz, skolyoz, osteopeni, vertebral kollaps, femur epifiz kayması görülebilen diğer iskelet anomalileridir. Radyolojik bulgular ise; iliak kemiklerin hipoplazisi, metafizyel genişleme ve ekstremitte kısalığını içerir. Radyolojik bulgular 1 yaşından önce saptanamaz(118).

Anemi ve trombositopeni görülse de nötropeni hastalığın en sık hematolojik bulgusudur. ANS hastaların üçte ikisinde 1000 hücre/ μ L' nin altındadır. Reaktif monositoz eşlik etmez ve nötropeni intermitan olabilir. Hastalığa bazen kemotaksis defekti de eşlik edebilir, bu hastalar piyogenik enfeksiyonlara daha yatkındırlar. Kemik iliği incelemesinde değişik derecelerde miyeloid hipoplazi vardır; fakat tanısal değildir(118).

SDS tanısı, nötropeni, pankreatik yetmezlik ve iskelet anomalileri birlikteliği ile konulur. SDS kliniği taşıyan hastaların %90' ında Shwachman-Bodian-Diamond sendrom geni (SBDS)' nde mutasyon saptanmıştır. Mutasyonların çoğu SBDS protein ekspresyonu ve fonksiyonunu azaltan mutasyonlardır(119).

Tedavide pankreatik yetmezlik için enzim replasmanı kullanılır; bu tedavi nötropeni ve boy kısalığını düzeltmez. Steatore pankreatik yetmezlik devam etse de zamanla azalır. Hastalar arasında bakteriyel enfeksiyon sıklığı değişkendir, genel olarak uygun antibiyotik tedavisi ile düzeltilebilir. G-CSF tedavisi nötropeniyi düzeltir ve sadece persistan ağır nötropeni, tekrarlayan veya hayatı tehdit eden enfeksiyon varlığında kullanılmalıdır. Hastaların dörtte birinde kazanılmış anormal kromozomal yapı sonucunda aplastik anemi ve MDS gelişir. Bu nedenle düzenli kan sayımı ve yıllık kemik iliği aspirasyonu yapılmalıdır(120).

Albinizm-Nötropeni Sendromları

Bu nadir görülen primer immün yetmezlik sendromları, lizozom ve ilişkili endozomal organellerin biyogenez ve trafiğindeki defektler sonucu ortaya çıkan, otozomal resesif geçişli hastalıklardır. Bu nedenle çok farklı fenotipik özellikleri birlikte barındırabilirler. Bu fenotipler; parsiyel albinizme yol açan melanozom formasyon defektleri, platelet fonksiyon bozuklukları, nötrofil sayı ve fonksiyon defektleri ile B ve sitotoksik T lenfosit fonksiyon bozukluklarıdır(121).

Chediak-Higashi Sendromu(CHS), parsiyel okülokutanöz albinizm, nötrofil dahil birçok hücre tipinde dev lizozomlar ve nöropatiden oluşan, nadir görülen genetik bir bozukluktur. Birçok hastada ineffektif granülopoeze sekonder orta derecede nötropeni vardır. Hastalar hemofagositik lenfhistiositoz gelişimi açısından büyük risk taşırlar(122).

Bir diğer albinizm-nötropeni sendromu olan Hermansky-Pudlak Sendromu; okülokutanöz albinizm ve platelet defektleri ile karakterize nadir görülen OR bir hastalıktır. Hermansky-Pudlak Sendromu tip 2, ayrıca nötropeni ve azalmış NK hücre sayısı içerdiğinden enfeksiyonlara artmış duyarlılık vardır. Hastalıktan, bir adaptör proteinini kodlayan AP3B1 geni sorumludur(123).

Griscelli Sendromu tip 2 de hipomelanozis, değişik derecelerde nörolojik etkilenme ve immün yetmezlik birlikteliğini içerir. Bu tip 2 varyantı; nötropeni, hipogamaglobulinemi, parsiyel albinizm ile karakterizedir ve hastalar tıpkı CHS gibi hemofagositik lenfhistiositoz açısından risk altındadır. Granül egzositozunda

anahtar göreve sahip GTPaz' ı kodlayan RAB27A genindeki mutasyonlar hastalıktan sorumludur(124).

Cohen sendromu, OR geçişli olup, nötropeni, pigmenter retinopati, gelişme geriliği ve fasyal dismorfizm ile karakterizedir. COH 1 geni ile ilişkili mutasyonlar hastalıktan sorumludur(125).

Ağır kronik nötropeni, boy kısalığı, albinizm, kaba yüz görünümü, ve streptococcus pneumonia ilişkili rekürren bronkopulmoner enfeksiyonlar ile karakterize yeni bir sendrom tanımlanmıştır. MAPK sinyal iletiminde bir adaptör protein olan p14' deki defektlere bağlı geliştiği düşünülmektedir(126).

Familiyal Benign Nötropeni

Familiyal benign nötropeni hafif bir nötropeni ile karakterize, enfeksiyonlara yatkınlığın olmadığı benign bir tablodur. Bazı vakalarda otozomal dominant geçiş bildirilmiştir. Yahudilerde, Amerikan ve Afrikalı siyah ırkta, Almanlarda ve Fransızlarda bildirilmiştir(127).

Schimke's İmmüno-Osseoz Displazi

Spondiloepifizyal displazi, steroide rezistan nefritik sendrom ve böbrek yetmezliğine yol açan fokal segmental glomeruloskleroz, defektif selüler immünitinin eşlik ettiği lenfopeni ve nötropeni ile karakterize OR geçişli bir sendromdur. Ağır etkilenen bireylerde serebral ve jeneralize ateroskleroza yol açan hayat süresini kısaltan vazookluziv bir süreç vardır. 'Swi/snf-related matrix-associated actin dependent regulator of chromatin, subfamily a-like protein 1' i (SMARCAL) kodlayan SMARCAL1 genindeki mutasyonlar hastalık patogenezinin sorumludur. Kesin tedavisi hematopoetik kök hücre nakli olup, G-CSF ve GM-CSF tedavilerine yanıt veren nötropeni vardır(128).

2.9.2. Nötrofil ve Öncüllerinin Ekstrinsik Defektlerine Bağlı Gelişen

Nötropeni

Enfeksiyon

Çocuklu çağındaki geçici nötropenin en sık sebebi viral enfeksiyonlardır. CMV, EBV, hepatit A ve B, HIV, influenza A ve B, kızamık, kızamıkçık, RSV, parvovirus B19 ve varisella en sık viral ajanlardır. Nötropeni hastalığının ilk 24-48 saati arasında gelişir. 3-6 gün sürer. Bu süre akut viremi dönemine denk gelir. Nötrofillerin dolaşımdan damar çeperine marjinasyonu, sekestrasyon veya doğrudan virüs nedenli doku hasarı sonrası artmış nötrofil göçü nötropeniden sorumlu olabilir(129).

Kızamık ve herpes simpleks virüsleri, insan endotel hücrelerinde çoğalır ve Ig G ve C3' ten oluşan immün komplekslerin bağlanması için gerekli olan endotel reseptör ekspresyonunu arttırırlar. Bu sayede endotelyuma artmış nötrofil adezyonunu tetikler(130). Enfeksiyöz mononükleozisin erken dönemlerinde akut geçici bir nötropeni olur. Bu durum nötrofil progenitölerinin direkt enfeksiyonu ve antinötrofil antikolar yoluyla nötrofillerin yıkımına bağlıdır(131). Parvovirüs B19, antinötrofil antikolarına bağlı olmaksızın geçici ve uzun süren nötropeniye yol açabilir(132). AIDS hastalarının da çoğunda nötropeni görülür. Pediatrik AIDS hastalarında nötropeni daha çok antiviral ilaçlara, vitamin B12 ve folat eksikliğine veya selüler immüdisfonksiyona bağlıdır(133).

Sepsis nötropenin en önemli ve ciddi sebeplerinden biridir. Bakteriemi ve endotoksemi döneminde aşırı nötrofil yıkımı ve kemik iliği rezervinin tükenmesi sonucu nötropeni gelişir. Özellikle neonatal bakteriyel sepsiste ciddi nötropeni sıkça görülür. Yenidoğanların az olan kemik iliği rezervi, bakteriyel enfeksiyon sırasında maksimum üretime kapasitesine sahip olsa bile kolayca tükenir. Septik yenidoğanlar granülosit transfüzyonu ve G-CSF tedavilerinden fayda görebilir(134).

İlaça Bağlı Nötropeni

İlaça bağlı nötropeni; dolaşımdaki nötrofillerin selektif ve ağır derecede azalmasına yol açan (genellikle <200 hücre/ μ L), idiosinkratik reaksiyon sonucu

gelişen bir bozukluktur. Diğer hücre elemanlarının da etkilendiği aplastik anemi ve kemoterapiye sekonder gelişen nötropeni bu tanımın dışındadır(135).

Hastaların birçoğu düzelse de ilaca bağlı nötropeni; derin doku enfeksiyonu ve sepsis gibi yüksek morbiditeye yol açabilen ciddi bir nötropeni sebebidir. %5 oranında ölüm bildirilmiştir ve hastaların çoğu yaşlı veya şok, böbrek yetmezliği gibi komorbiditeye sahip hastalardır. İdiosinkratik reaksiyonlar daha çok yaşlılarda ve kadınlarda görülür. Agranülositoza sıklıkla yol açan ilaçlar, antimikrobial ajanlar(özellikle sülfonamidler ve penisilinler), antitiroid ilaçlar, fenotizain ve klozapin gibi antipsikotikler, aminopirin türevi antipiretikler, altın, levamizol ve penisilamin gibi antiromatikler, barbitürat ve benzodiazepin içeren sedatiflerdir(136).

İlaca bağlı nötropenide altta yatan mekanizma tam olarak bilinmemesine rağmen; birçok çalışma, bu ilaçların nötrofil gelişimini toksik düzeyde baskılama veya matür nötrofilleri immün mekanizma ile yok ederek nötropeniye yol açtığını göstermektedir. İlaca bağlı nötropeni başlangıcı çok sinsi ve asemptomatik bir hastalıktır. Enfeksiyöz komplikasyon gelişmeden önce oral mukozit ilk klinik bulgu olabilir(137).

İlaç, bazen hapten gibi davranarak antikor sentezini uyarır ve matür nötrofil yıkımına yol açar. Aminopirin, penisilin, propiltiourasil ve altın bu mekanizma ile nötropeniye yol açar. Kinidin gibi bazı ilaçlar da nötrofil yüzeyine yapışıp immün kompleks oluşumuna yol açarak nötrofil yıkımını uyarırlar. İlaca bağlı nötropenin süresi oldukça değişkendir. Akut idiosinkratik reaksiyonlar birkaç gün sürerken, kronik idiosinkratik reaksiyonlar aylarca hatta yıllarca devam edebilir. Nötropeni bir kez oluştu mu, yapılacak ilk tedavi, kullanımı zorunlu olmayan ve miyelotoksik özelliği olan ilaçları kesmektir. İlaca bağlı nötropeni düzeldikten sonra kemik iliğinde sola kaymanın ve periferik dolaşımda immatür lökositlerin hakim olduğu rebound lökositoz görülür(138).

Otoimmün Nötropeni

Otoimmün nötropeni; tek başına diğer otoimmün hastalıklarla birlikte veya enfeksiyonlara, ilaçlara veya malign hastalıklara ikincil gelişebilir. Çocuklarda ve erişkinlerdeki kronik idiopatik nötropenin çoğundan nötrofillere karşı gelişen

otoimmünitenin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Primer otoimmün nötropenide, nötropeni tek hematolojik bulgudur, nötropeniye yol açabilecek ilişkili bir hastalık veya faktör yoktur. Otoimmün nötropenide hafif nötropeniden agranülositoza kadar değişebilen bir nötrofil sayısı vardır. Monositoz sıktır. Kemik iliğinde genellikle miyeloid hiperplaziye bağlı sellülaritede artış, matür nötrofiller normal veya artmış olarak görülür. Hafif splenomegalide eşlik edebilir. Piyojenik enfeksiyon sıklığı, nötropenin derecesi ile daima ilişkili değildir ve enfeksiyonlar sadece cilt ve solunum sistemine sınırlıdır. Ciddi enfeksiyonlar görülmez. Spontan düzelme infantlarda büyük çocuklara göre daha fazladır(139).

Otoantikorların hedefi olan nötrofil spesifik hücre yüzey antijenleri; NA1, NA2, NB1, ND1 ve NE12' yi içerir. NA1 ve NA2 antijenleri nötrofil immünglobulin reseptör Fc γ R3b (CD16)' nin glikolize izoformlarıdır. Hangi mekanizmanın otoantikor üretimini başlattığı bilinmemektedir. Çocuklarda; primer OIN'a daha çok NA spesifik antikorlar yol açarken, sekonder OIN ise tamamen Fc γ R3b antikorları ile ilişkilidir. Antinötrofil antikorları saptamada indirekt granülosit immünofloresan test (GIFT) ve granülosit aglütinasyon test (GAT) kombinasyonu optimal sensitivite ve spesifiteye sahiptir. Bu yöntemlerle Ig G ve Ig M yapıdaki antikorlar saptanır(140).

OIN' a bağlı nötropeni; primer olarak antikor kaplı nötrofillerin periferik yıkımına bağlıdır. Bu yıkımı C3 depozisyonu kolaylaştırabilir. OIN' da ayrıca dalakta nötrofil yıkımı da gözlenmiştir(141).

İmmün nötropenin tedavisi bakteriyel enfeksiyonların uygun antibiyotiklerle düzeltilmesi, ağız yaraları ve gingivit için düzenli antimikrobial ağız yıkama ve diş hijyenini içerir. Birçok vakada granülopoez korunduğu için immün nötropenide enfeksiyon sıklığı ve şiddeti diğer nötropeni formlarına göre daha az ve hafiftir. Kontrollü çalışmalar olmasa da trimetoprim-sülfometoksazol profilaksisi rekürren minör enfeksiyonları önlemede yardımcı olabilir. 1-2 μ g/kg/gün dozunda(düşük doz) G-CSF tedavisi ile nötrofil sayısı normal değerlere ulaştırılabilir. Normal veya yüksek ANS değerlerine ulaşan hastalarda tedavi kesilebilir, azaltılabilir veya gün aşırı protokülüne geçilebilir. Zaten hiperplastik kemik iliği olan OIN hastalarında G-CSF tedavisi ile ortaya çıkan kemik ağrısı, hipoproduktif nötropeni formlarına göre

daha fazla görülür. Birçok immün nötropeni hastasında ciddi enfeksiyonlar görülmediğinden G-CSF tedavisi; rekürren, ciddi ve hospitalizasyon gereken hastalara saklanmalıdır. İntravenöz immünglobulin uygulaması da nötrofil sayısını normal aralığa getirir, ancak bu etki değişken ve genellikle kısa sürelidir. Kortikosteroidler de nötrofil sayısını arttırır, ama ciddi enfeksiyon riski vardır(142).

Çocukluk Çağının Kronik Benign ve Otoimmün Nötropenisi

Çocukluk ve infantil dönemin kronik benign nötropenisi olarak tanımlanan birçok vakanın artık otoimmün nötropeni olduğuna inanılıyor. Yine benzer şekilde 'lazy leukocyte syndrome' diye adlandırılan derin nötropeni, normal kemik iliği ve steroid veya epinefrine çok az yanıt veren nötropeni ile karakterize tablonun da çocukluk çağının OIN' si olduğu düşünülüyor(143).

Çocukluk çağının otoimmün nötropenisi sıklıkla 3 yaşın altındaki çocuklarda görülür. Ortalama tanı yaşı 8-11 aydır. Hafif bir kız cinsiyet üstünlüğü vardır. Pediatrik yaş grubunda kronik nötropenin en sık sebebi olmasına rağmen OIN' nin yıllık insidansı 1/100.000' dir. Hastalığın benign olması nedeni ile bu sıklığın olduğundan düşük bulunması muhtemeldir(144).

ANS sayısı genellikle 200' ün altındadır, hatta sıfıra kadar düşebilir. Genellikle relatif bir monositoz ve eozinofili de eşlik eder. Enfeksiyon dönemlerinde geçici nötrofil artışları görülebilir. Genellikle ailede benzer hastalık hikayesi yoktur. İmmüno Floresan ve aglütinasyon testlerinin kombine olarak kullanılmasıyla hemen hemen tüm hastalarda antinötrofil antikorlar saptanabilir. Ancak; antikor saptanmaması tanıyı dışlamamakla beraber, pozitif sonuç ağır konjenital nötropeniyi ekarte ettirmez. Erişkinlerde olduğu gibi antikorlar tipik olarak NA, NB ve ND antijenlerine karşıdır. En sık otoantikor ise NA1' e karşı gelişir. Bazı çalışmalar antikor bağlanma gücü ile klinik şiddetinin korele olduğunu göstermektedir. Nötropeni düzeldikçe, dolaşımda antikorlar da yavaş yavaş saptanamaz hale gelir. Kemik iliğinde genellikle miyeloid hiperplaziye sekonder normal veya artmış selülarite, normal veya artmış matür nötrofiller görülür. Bazı vakalarda matürasyon arresti de görülebilir(139).

Çocukluk çağının otoimmün nötropenisinde bakteriyel enfeksiyon sıklığı artmıştır; fakat cilt enfeksiyonları, üst solunum yolu enfeksiyonları, otit ve gingivitis gibi hafif enfeksiyonlardır, antibiyotik tedavisine iyi yanıt verirler. Nadir de olsa infantlarda pnömoni, sepsis ve menenjit bildirilmiştir. Hemen hemen tüm hastalarda 20 aylık bir süreç sonrası spontan remisyona geçişler olur. Tanı anında 9 ayın altında olan bebeklerde nötropenin düzelmesi çok daha hızlı olur. Yaşla beraber spontan düzelme de azalır(145).

Çocukluk çağının otoimmün nötropenisi kliniğini ve tipik özelliklerini taşıyan bir hastada tanı için antinötrofil antikor varlığının gösterilmesi gerekmez. Bu hastalarda immün nötropeni ile ilişkili bazı immün yetmezlik sendromları nedeni ile disgamaglobulinemi ve hipogamaglobulinemiyi saptamak amacıyla immünglobulin düzeylerine bakılmalıdır. Eğer lenfopeni veya hücresel immün yetmezlik ilişkili laboratuvar bulguları varsa T hücre fonksiyonları çalışılmalıdır. Nötropeni dışında başka herhangi bir hematolojik anormali, olağandışı veya ağır enfeksiyon kliniği varsa kemik iliği incelemesi mutlaka yapılmalıdır. Tanı konmadan önceki febril ataklar geniş spektrumlu, parenteral antibiyotiklerle agresif olarak tedavi edilmelidir. Tanı konulduktan sonra ise daha konservatif tedaviler denenebilir. Profilaktik trimetoprim-sülfametoksazol, tekrarlayan otit ve minör enfeksiyonları olan hastalarda faydalı olabilir. Ağır ve rekürren majör enfeksiyon varlığında ise G-CSF tedavisi ile nötropeni düzeltilebilir. 1-2 µg/kg/gün veya daha düşük doz G-CSF etkili olur, günler içinde tedaviye yanıt alınır. Steroid ve IVIG tedavilerinin etkinliği daha azdır(143).

Neonatal İmmün Nötropeni

Yenidoğanın immün nötropenisi; fetal alloantijenlere maternal immün yanıt nedeni ile alloimmün veya maternal otoantikorların bebeğe pasif transfüzyonu sonucu izoimmün mekanizmalarla olabilir. Neonatal alloimmün nötropeni, yenidoğanın Rh hemolitik hastalığına eşdeğer bir mekanizmayla, anneninkinden farklı nötrofil antijenleri ekspres eden bebeğe karşı maternal sensitizasyon sonucu gelişir. Maternal IgG yapısındaki otoantikorlar plasentadan geçerek, birkaç haftadan 6 aya kadar sürebilen, ciddi immün nötropeniye yol açar. Nötropenik dönem boyunca infantın kemik iliğinde matür nötrofillerin azaldığı, miyeloid hiperplazi görülür(146).

Annenin ve bebeğin serumunda NA antijen sistemine spesifik otoantikörler saptanır. Etkilenen infantlar asemptomatik olabileceği gibi, omfalit, kutanöz enfeksiyonlar, pnömoni, sepsis ve menenjit gibi enfeksiyon tabloları da geliştirebilir. Neonatal sepsisin kendisi derin ve ağır nötropeni ile seyredebileceği için ayırıcı tanıda dikkat edilmelidir. Neonatal alloimmün nötropenide enfeksiyon bulguları olmasa dahi, neonatal sepsis riski nedeniyle parenteral antibiyotik tedavisine hızla başlanmalıdır. İntravenöz immünglobulin tedavisi nötrofil sayısını arttırmada faydalı olabilir. Alloimmün nötropeni tanılı infantlarda, ağır nötropeni veya ciddi enfeksiyon varlığında 5-10 µg/kg/gün dozunda G-CSF tedavisi başlanmalıdır(147).

Neonatal immün nötropeni otoimmün nötropeni tanılı anne bebeklerinde de görülebilir. Antinötrofil antikörlerin transplasental geçişi 2-4 hafta sürebilen derin nötropeniye yol açabilir(148).

İmmün Disfonksiyonla İlişkili Nötropeni

İmmünglobulin üretiminin primer bozukluklarında nötropeni görülebilir. X' e bağlı agamaglobulinemi hastalarının üçte birinde hastalık seyri boyunca nötropeni saptanır. Hiperimmünglobulin M sendromlu hastalarda persistan veya siklik nötropeni sıktır. Hastaların bir kısmında immünglobulin tedavisi nötropeniye düzeltir. Yaygın değişken immün yetmezlik ve izole Ig A eksikliğinde de otoimmün nötropeni ve diğer otoimmün sitopeniler görülebilir(149). Lenfosit apoptozisindeki defekt sonucu, lenfadenopati, splenomegali ile immün trombositopeni, anemi ve nötropeni gibi otoimmün bozukluklara yol açan otoimmün lenfoproliferatif sendrom(ALPS) da immün disfonksiyonla ilişkili nötropeniye yol açar. ALPS ilişkili nötropeni kronik olma eğilimindedir; hastalığın altta yatan patofizyolojisi gereği kortikosteroid ve mikofenolat mofetil gibi immünsupresif tedavi ile düzelen nadir nötropeni formlarından birini oluşturur(150).

'Cartilage-hair hypoplasia' ; kısa ekstremiteli cücelik, orta derecede nötropeni (100-2000 hücre/µL), seyrek saçlar ve hücrel immün yetmezlik ile karakterize otozomal resesif geçen bir hastalıktır. Kemik iliği transplantasyonu nötropeniye ve immünolojik defektleri düzeltir(151).

Metabolik Hastalıklarla İlişkili Nötropeni

Dilate kardiyomiyopati, büyüme geriliği ve 3-metilglutakonik asidüri ile karakterize, X' e bağlı kalıtılan Barth's sendromunda belirgin nötropeni ve relatif monositoz görülür(152). Hiperglisinemi, izovalerik asidemi, propionik asidemi, metilmalonik asidemi ve tirozinemi de klinik olarak hastalığın diğer bulguları kadar önemli olmasa da belirgin nötropeniye yol açabilir. Organik asit metabolizması bozukluklarının nötropeniye nasıl yol açtığı tam olarak bilinmese de, in vitro yapılan çalışmalarda propionat ve izovaleratın miyeloid koloni gelişimini baskıladığı gösterilmiştir(153).

Glikojen depo hastalığı tip 1b; ağır nötropeni yanında kemotaksis, oksidatif patlama aktivitesi ve bakteriyel öldürme gibi nötrofil fonksiyonlarında da bozukluğa yol çar. G-CSF tedavisi nötropeniye düzeltir, ciddi enfeksiyon sıklığını azaltır. Uzun süre G-CSF kullanımı glikojen depo tip 1b hastalarında G-CSF ilişkili MDS/AML dönüşümünü arttırmaz(154).

Makrositer anemi, nötropeni, trombositopeni gibi hematolojik bulgularla giden Pearson sendromu, hematopetik sistemin yanında ekzokrin pankreas, böbrek ve karaciğeri de etkileyen fatal seyirli, nadir bir konjenital sendromdur. Kemik iliğinde eritroid ve miyeloid seride vakuolizasyon, hemosiderozis ve ring sideroblastlar görülür. Mitokondrial DNA' da büyük delesyonlar sonucu gelişir(155).

3. HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi İmmünoloji Ünitesi'nde Kasım 1985 ile Mart 2012 tarihleri arasında kronik nötropeni nedeniyle takip edilen 64 hastadan, ağır konjenital nötropeni tanısı alan 13 kız, 8 erkek, 18 aileden toplam 21 birey dahil edilmiştir. Ağır konjenital nötropeni tanısı; tekrarlayan oral aft, cilt apseleri ile pnömoni, pürülan otit, sepsis, lenfadenit gibi ağır bakteriyel enfeksiyon hikayesi olup, hastalık anında absolü nötrofil sayısının 500 hücre/ μ L'nin altında ve kemik iliği aspirasyonunda miyeloid seride matürasyon arrestinin saptanması olarak kabul edilmiştir. Bu hastaların demografik özellikleri, klinik seyirleri, laboratuvar bulguları ve tedavileri değerlendirilmiştir. Hastaların bilgilerine ulaşılırken Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi dosyaları ve Pediatrik İmmünoloji Ünitesi hasta kayıt formları kullanılmıştır.

Hastaların dosya kayıtlarından tanı anındaki yaşları, yakınmaları (özellikle tekrarlayan oral aft, tekrarlayan cilt apseleri, otit, pnömoni ve lenfadenit vb. gibi), anne baba akrabalığı, ailede benzer hastalık öyküsü olup olmadığı, başvuru anında ve takip sonundaki antropometrik ölçümleri, dış bulguları, eşlik eden anomali (özellikle kardiyak, renal, vasküler ve nörolojik anomaliler) veya ek hastalık olup olmadığı, takipteki enfeksiyonları ve toplam izlem süreleri kaydedildi.

Hastalarda tanı anında ve takip sonunda büyüme geriliği değerlendirilirken yaşa ve cinsiyete göre boy uzunluğun 10 persentilin altında olması kriter alındı.

Hastaların tanı anında tam kan sayımı, absolü nötrofil, eozinofil ve monosit sayıları, kantitatif immünglobulin değerleri, kemik iliği aspirasyon bulguları, kemik iliği sitogenetik sonuçları ve moleküler tanıları kaydedildi. Yaşa ve cinsiyete göre hemoglobin değerinin -2SD altında olması anemi, yine yaşa ve cinsiyete göre absolü monosit ve eozinofil sayısının +2SD üzerinde olması sırasıyla monositoz ve eozinofili olarak kabul edildi. İmmünglobulin G ve immünglobulin E değerleri de yaşa göre değerlendirildi. Hastaların G-CSF tedavisi almadan önce yapılan kemik iliği aspirasyon değerlendirilmesinde promiyelosit evreden miyelositer evreye geçerken olan duraklama, matürasyon arresti olarak kabul edildi. Kemik iliği

örnekleri başta monozomi 7 olmak üzere olası sitogenetik anomali açısından değerlendirildi. Takip süresince de MDS/AML dönüşümü açısından kontrol kemik iliği aspirasyonu ve sitogenetik değerlendirilmeleri yapılarak bulgular kaydedildi. Hastaların absolü nötrofil sayılarının en az 1000 hücre/ μ L olması gereken minimum G-CSF dozları da hesaplandı. $> 8 \mu\text{g/kg/gün}$ G-CSF dozu yüksek, $< 8 \mu\text{g/kg/gün}$ ise düşük doz tedavi olarak kabul edildi.

Hastalığın moleküler tanısı için rutin olarak ELANE ve HAX-1 genleri ile ilişkili mutasyonlar çalışılmak üzere DNA kanları yurtdışına (Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences, Medical University of Vienna) gönderildi. Hastaların ek anomalileri ve fenotipik özelliklerine göre G6PC3 genini ilgilendiren mutasyonların çalışılması istendi.

Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi işbirliği ile hastalar gingivit/gingival hipertrofi ve periodontit açısından incelendi. Herhangi bir semptomu olmasa da osteopeni/osteoporoz açısından X-ray veya DEXA yöntemleri ile hastaların kemik mineral dansiteleri hesaplandı. 5 yaşın üstündeki hastalarda lumbar ve femur kemik mineral yoğunluğunun yaşa ve cinsiyete göre -2,5 standart sapmanın (Z skoru) altında olması osteoporoz, Z skorunun -1,1 ile -2,4 standart sapma arasında olması osteopeni olarak kabul edildi. 5 yaşın altındaki hastalarda ise lumbar ve pelvis direkt grafileri Radyoloji bölümüne konsulte edilerek osteopeni/osteoporoz tanısı konuldu.

Hastalara kök hücre nakli yapıp yapılmadığı, hangi endikasyonla yapıldığı kaydedildi.

İstatistiksel analizler ‘ SPSS[®] for Windows version 15.0 kullanılarak yapıldı. Sayısal değerler için sonuç ortalama $\pm$ standart sapma (SD) ve dağılım olarak verilirken, nominal değerler için % olarak ifade edildi Bağımsız iki grubun oranları karşılaştırılırken; katagorik değişkenler için Ki-Kare testi, sayısal değişkenler için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı, $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan toplam 21 hastanın 13' ü kız (%61,9) 8' i erkek (%38,1) idi. Hastaların tanı sırasındaki yaşı ortalama $22,8 \pm 21,8$ ay (dağılım: 2-72 ay, ortanca: 15 ay) idi. Hasta yaşının ortalama $11,8 \pm 6,8$ yıl (dağılım: 2,5-28 yıl, ortanca: 11,5 yıl) olduğu görüldü. En uzun takip süresi 23 yıl, en kısa takip süresi 18 ay idi.

Klinik prezentasyonlar değerlendirildiğinde en sık tekrarlayan oral aftın saptandığı, tekrarlayan cilt ve genital apselerin ise ikinci sıklıkta yer aldığı görüldü. Rekürren pnömoni, otit, selülit, sepsis, lenfadenit ise diğer klinik prezentasyon bulguları idi. Omfalit, paronişi ve septik artrit birer hastada tanı öncesi enfeksiyon tipleriydi. Hastaların çoğunda tekrarlayan oral aft ve cilt/genital apse birlikteliği mevcuttu.

Yirmibir hastanın 17' sinde (%81) anne baba arasında akrabalık olduğu görüldü. 4 (%19) hastada ise anne baba arasında akrabalık yoktu. Hastaların 7' sinde (%33,3) pozitif aile öyküsü vardı. İki aileden toplam 4 hasta birbiri ile kardeş olup çalışmaya dahil edildiler, geriye kalan 3 hasta ise infantil dönemde enfeksiyon nedeni ile kaybedilen kardeşler idi.

Hastaların başvuru sırasındaki antropometrik ölçümleri değerlendirildiğinde; 13 hastanın (%61,9) boyunun 10 persentilin altında olduğu, takip sonunda ise değerlendirilen toplam 19 hastanın 11' inde (%57,9) boy uzunluğunun 10 persentilin altında olduğu görüldü. Başlangıçta boy kısalığı olan hastalarının hepsinin takip sonunda da boy kısalıklarının aynı şekilde devam ettiği görüldü.

Laboratuar bulguları değerlendirildiğinde tanı anında 14 hastanın (%66,7) anemisinin, 16' sının (%76,2) monositozunun, 2' sinin (%9,5) eozinofilisinin olduğu görüldü. Hastaların 16' sında (% 76,2) immünglobulin G değerleri yaşa göre yüksek idi. Sadece 1 hastada immünglobulin E normal değerlerin üzerinde idi.

21 hastanın tamamında G-CSF tedavisi başlamadan önce yapılan kemik iliği aspirasyon değerlendirmesinde miyeloid seride matürasyon arresti mevcuttu. Hiçbir hastada gerek tanı esnasında gerek takibi esnasında yapılan kemik iliği incelemesinde monozomi 7 dahil anlamlı sitogenetik anomali saptanmadı.

Moleküler çalışma yapılan 17 hastanın (%80,9) 6' sında (%35,2) HAX-1 geninde, 1 hastada (%5,8) G6PC3 enzimini kodlayan gende mutasyon saptanmıştır. 10 hastada (%58,8) herhangi bir mutasyon saptanmamıştır. Hiçbir hastada ELANE geninde mutasyon bulunamamıştır.

Tablo 4. 1. Hastaların başvuru sırasında laboratuvar bulguları

	Hasta sayısı (%)
Anemi (n=21)	14 (% 66,7)
Monositoz (n=21)	16 (% 76,2)
Eozinofili (n=21)	2 (% 9,5)
Hiperimmünglobulin G (n=21)	16 (% 76,2)
Hiperimmünglobulin E (n=21)	1 (% 4,8)
KİA maturasyon arresti (n=21)	21 (% 100)
Sitogenetik anomali (n=21)	0 (% 0)
Genetik defekt (n=17)	7 (% 41)

Tablo 4. 2. Hastaların genetik özellikleri

Genetik defekt	Hasta sayısı (%) (n=17)
HAX-1	6 (%35,2)
G6PC3	1 (%5,8)
ELANE	0
Gfi1	0
WAS	0
AK2	0
Bilinmeyen mutasyonlar	10 (%58,8)

Eşlik eden anomaliler açısından değerlendirildiğinde 1 hastada (%4,8) hipergonadotropik hipogonadizm, 1 hastada (%4,8) mental retardasyon, 1 hastada

(%4,8) mental retardasyon ve epilepsi birlikteliği mevcuttu. HAX-1 geninde mutasyonu olan hiçbir hastada nörolojik anomali saptanmadı.

Hastaların 3'ünde (%14,3) ek hastalık hikayesi mevcuttu. Bunlar; 1 hastada Ailevi Akdeniz Ateşi, 1 hastada göğüs deformitesi ve broşiektazi, 1 hastada ise primer sklerozan kolanjit idi. Primer sklerozan kolanjit tanısı alan hasta çalışmaya alınan hastalardan eksitus olan tek hasta idi, portal hipertansiyona bağlı GİS kanaması nedeni ile kaybedildi.

Hastalar diş bulguları açısından değerlendirildiğinde 18 hastada (%85,7) gingivit/gingival hipertrofi/periodontit bulguları mevcuttu. Geriye kalan 3 hastada (%14,2) diş bulguları yoktu. Bu hastalardan ikisi 2,5 yaşında, diğeri ise 6 yaşında olup çalışmanın görece yaşları küçük hastaları idi.

Hastalık süresince 2 hastada (%9,5) malignite gelişti. 1 hastada yapılan kemik iliği incelemesi sonunda MDS tanısı konularak tam uyumlu babasından periferik kök hücre nakli yapıldı. Diğer hastada ise lenfadenopati etyolojisi nedeni ile yapılan submandibular lenf nodu eksizyonel biyopsi sonucunda mixt selüler hodgkin lenfoma tanısı konularak kemoterapi tedavisine başlandı ve tam remisyon elde edildi. İki hasta da $> 8\mu\text{g/kg/gün}$ dozunda G-CSF kullanmakta idi.

Toplam 17 hastanın 9' unda (%52,9) osteopeni/osteoporoz saptandı. Bu hastaların hiçbirinde kemik kırığı hikayesi veya kemik ağrısı bulguları yoktu.

Hastalık süresi boyunca toplam 2 hastaya (%9,5) kök hücre nakli yapıldı. Bu hastalarda 1' ine MDS' ye malign transformasyon endikasyonu ile nakil yapılırken; diğer hastaya tekrarlayan ağır enfeksiyonlarının olması nedeni ile nakil işlemi başarı ile gerçekleştirildi. Her iki hastanın donörü de tam uyumlu akraba idi.

Hastaların takipleri süresince geçirdikleri enfeksiyonlar genel olarak değerlendirildiğinde, ağır veya hospitalizasyon gerektirecek enfeksiyonlarının olmadığı, enfeksiyonların daha çok cilt ve üst solunum yollarıyla sınırlı kaldığı gözlenmiştir.

Hastaların tamamı G-CSF tedavisi alırken; 11 hasta (%52,4) düşük doz ($<8\text{mcg/kg/gün}$), 10 hasta (%47,6) yüksek doz ($>8\text{mcg/kg/gün}$) G-CSF tedavisi

almakta idi. Ortalama G-CSF dozu $11,1 \pm 11,9$ mcg (dağılım: 5-60 mcg, ortanca: 10 mcg) idi.

4.1. G-CSF dozu ile Osteoporoz grubu arasındaki ilişki

Düşük doz G-CSF tedavisi alan hastaların 5' inde (%45,4) osteopeni/osteoporoz varken, yüksek doz G-CSF tedavisi alan hastaların 4' ünde (% 40) osteopeni/osteoporoz saptandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p = 0,63$).

4.2. G-CSF dozu ile Malignite grubu arasındaki ilişki

Düşük doz G-CSF tedavisi alan hastaların hiçbirinde malignite gelişmezken, malign transformasyon saptanan hasta yüksek doz G-CSF almakta idi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($p = 1,00$)

Tablo 4.3. G-CSF dozu ile osteopeni/osteoporoz, takip sonu büyüme geriliği, malign transformasyon grupları arasındaki ilişki

	Düşük doz G-CSF ($< 8\mu\text{g/kg/gün}$) Hasta sayısı (%) (n=11)	Yüksek doz G-CSF ($> 8\mu\text{g/kg/gün}$) Hasta sayısı (%) (n=10)	p
Osteopeni/osteoporoz (n=9)	5 (% 45,4)	4 (% 40)	0,63
Takip sonu büyüme geriliği (n=11)	5 (%45,4)	6 (% 60)	1,00
Malign transformasyon (n=1)	0	1 (%10)	1,00

5. TARTIŞMA

İlk kez 1956 yılında Kostmann tarafından tanımlandıktan sonra, tanı ve tedavide önemli gelişmeler sağlanmış; ölümcül seyreden ve ilk 2 yaşında hastaların çoğunun enfeksiyon nedeniyle kaybedildiği ağır konjenital nütropenide G-CSF tedavisinin bulunmasından sonra hastaların sağkalımları artarak, hastalık seyrinin daha iyi tanımlanması sağlanmıştır. Bu çalışmada hastanemizde takip ettiğimiz ağır konjenital nütropeni hastalarının demografik, klinik, laboratuvar özelliklerini, tedavilerini ve hastalık seyri boyunca gelişebilecek enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz komplikasyonlarını ve bu komplikasyonların tedavi ile olan ilişkisini göstermeyi amaçladık.

Çalışmamızda yer alan 21 hastanın tanı yaşının ortalama 22,8 ay olduğu görüldü. Tanı almadan önce hastaların çoğunun öyküsünden tekrarlayan oral aft, cilt ve genital enfeksiyonlar, pnömoni, sepsis ve otit gibi, ağır nütropeniye bağlı enfeksiyonlar nedeniyle sık sık hospitalize edildiklerini öğrendik. 2 hastamıza 6 yaşına kadar klinik bulguları olmasına rağmen tanı konulamamıştı. Sadece basit bir tam kan sayımı ve periferik yaymanın; son derece nadir görülen ve ağır seyreden bir fagositer sistem bozukluğuna tanı koymada ve tedaviyi belirlemede ne kadar önemli olduğu bir kez daha ortaya çıkmaktadır. Literatürde ağır konjenital nütropeni hastalarının infantil dönemde tanı aldıkları ve çalışmamızda olduğu gibi benzer klinik bulgularla prezente oldukları bildirilmiştir(97). Geç tanı alan hastalarımızdaki bu durumun; sağlık hizmetlerinden yetersiz yararlanmaya ve sağlık çalışanlarında bu hastalık yönünden farkındalık düzeyinin düşük olmasına bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Ülkemiz gibi akraba evliliğinin sık görüldüğü toplumlarda primer immün yetmezlik hastalık oranının yüksek olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda da 21 hastanın 17' sinde (%81) akrabalık mevcut olup, ebeveynlerin büyük çoğunluğunda birinci dereceden kuzen evliliği mevcuttu. Aile öyküsünün önemi yine ortaya çıkmakta, günümüzde hastaya ayrılan sürenin hızla kısaldığı bir ortamda tanı koymada sorunlar olabileceğini düşünmekteyiz.

Ağır konjenital nötropeni hastalarının G-CSF tedavisinin keşfinden sonra yaşam süreleri belirgin derecede artmıştır. Çalışmamızda hasta yaşını ortalama 11,8 yıl olarak bulduk. En büyük hastamız 28 yaşında olup 1992 yılında G-CSF tedavisinin Türkiye' ye getirilmesinden sonra tedaviye başlanan ilk hastamızdır. Dünyada G-CSF tedavisi 1987 yılında kullanıma sunulmuş, benzer şekilde hastaların çalışmamızda da olduğu gibi yaşam süreleri ve kaliteleri dramatik olarak artmıştır(102).

Çalışmamızda hastaların büyük çoğunluğunda tanı öncesi klinik prezentasyonun tekrarlayan oral aft, cilt ve genital enfeksiyonlar olduğunu saptadık. Enfeksiyon profilinin cilt ve mukozada daha belirgin olması hekime; özellikle fagositer sistem bozukluğu ile giden bir primer immün yetmezlik tablosunun olabileceği konusunda kuşku uyandırmalıdır.

Hastaların büyük çoğunluğunda hem tanı anında hem de takip sonunda büyüme geriliği mevcuttu. Başlangıçta olan büyüme geriliğinin takip sonunda da aynı şekilde devam ettiğini, G-CSF tedavisi ile büyüme geriliğinin önlenemediğini tespit ettik. Başlangıçta normal büyüme persentil değerleri olan hastaların ise hiç birinde takipte büyüme geriliği gelişmedi. Bu durum bize büyümede hastalık ve tedavinin herhangi bir etkisi olmadığını düşündürse de gerek hasta sayısının azlığı, gerekse büyümeyi etkileyebilecek olası diğer faktörlerin varlığı bu varsayımımızda kuşku uyandırmaktadır. Literatürde AKN hastalarının normal popülasyona göre yaşa göre boylarının %27-41 oranında 10 persentilin altında olduğu, tedavi ile düzeltilemediği ve diğer kronik nötropeni formlarına göre çok daha şiddetli bir boy kısalığının olduğu bildirilmiştir(97).

Laboratuvar bulguları incelendiğinde hastalarının büyük çoğunluğunda aneminin, monositozun ve immünglobulin G yüksekliğinin olduğunu gördük. Literatürde de ağır konjenital nötropeni hastalarında benzer laboratuvar bulguları bildirilmiştir(100). Ağır konjenital nötropenide enfeksiyon döneminde olan bu tablo, immünolojik kompensatuar mekanizmayı göstermektedir. Hastaların diğer immün sistem elemanlarındaki bu relatif artışa rağmen ağır enfeksiyon kliniğinden korunamadıklarını gördük. Bu durum nötrofilin sayı ve fonksiyon açısından (granül

proteinleri vb.) ne kadar gerekli ve yeri doldurulamaz bir hücre grubu olduğunu bize göstermektedir.

Çalışmaya alınan hastaların ortalama absölü nötrofil sayıları 202 hücre/mikrolitre olarak bulundu. Ağır nötropeni ($ANS < 500$ hücre/ μ L) tanımından yola çıkarak, hastaların tamamında ANS değerleri < 500 hücre/ μ L olarak bulundu. 14 hastada (%66,6) agranülositoz ($ANS < 200$ hücre/ μ L mevcuttu. Literatürde de ağır konjenital nötropeni hastalarının ANS değerlerinin genellikle < 200 hücre/ μ L olduğu bildirilmiştir(99). Çocukluk çağıının en sık görülen kronik nötropenisi olan otoimmün nötropenide de ağır nötropeni görülebilir; fakat otoimmün nötropeni hastalarında hiçbir zaman ağır konjenital nötropenide olduğu gibi ağır ve hayatı tehdit eden enfeksiyonlar görülmez. Enfeksiyonlar daha çok cilde ve üst solunum yollarına sınırlıdır. Çocukluk çağıının otoimmün nötropenisinde dolaşımdaki nötrofiller, ağır konjenital nötropeni hastalarınınkinden farklı olarak matür nötrofillerdir. Dolayısıyla öldürme fonksiyonunun yetersiz ve granül protein depolarından yoksun immatür miyeloid seri elemanlarının hakim olması; ağır konjenital nötropeni hastalarında enfeksiyonlara yatkınlığı arttırmaktadır.

Ağır konjenital nötropeni hastalığının tanısında kullandığımız kriterlerden biri, G-CSF tedavisi öncesi yapılan kemik iliği aspirasyonunda miyeloid serideki duraklamanın gösterilmesi idi. Hastaların tamamında promiyelositer evreden miyelositer evreye geçerken matürasyon arresti mevcuttu. Hastaların tamamında çalışılmasa da hiçbir hastamızda, yapılan kemik iliği sitogenetik analizinde monozomi 7 dahil herhangi bir anomaliye rastlanmadı. Çalışmamızın aksine literatürde özellikle monozomi 7, lösemik transformasyon öncesi en çok saptanan sitogenetik anomalidir(156). Sadece 1 hastamızda malign transformasyon gelişmiş olması bu durumu açıklamaktadır.

Moleküler tanı amacıyla yurtdışına DNA kanı gönderdiğimiz 17 hastanın 7' sinde (% 41) mutasyon saptadık. Hastaların 6' sında (%35,2) HAX-1 geni ile ilişkili mutasyon varken, diğer hastamızda glukoz 6 fosfataz enzim kompleksinde yer alan G6PC3 enzimi ile ilişkili mutasyon saptadık. Literatüre bakıldığında ağır konjenital nötropeni vakalarının %56' sından ELANE, %18' inden HAX-1, %4' ünden ise G6PC3 geninin sorumlu olduğu görülmüştür. Yaklaşık olarak %29 vaka şimdilik

genetik olarak sınıflandırılmamıştır(157). Çalışmamızda hiçbir hastamızda ELANE geninde mutasyon gösteremedik. Ağır konjenital nötropeni genetik subgruplarının tanımlandığı bir çalışmada etnik yapının hastalık genetiğini etkilediği görülmüştür. Buna göre HAX-1 ve G6PC3 gen mutasyonları, Türk ve Ortadoğu hastalarında ELANE' a göre daha sık görülmüştür(71). Ülkemizin nüfus yapısı ve akraba evlilikleri göz önüne alındığında HAX-1 gen mutasyonlarının çalışmamızdaki ağırlığı bu şekilde açıklanabilir. On hastada (%58,8) ELANE ve HAX-1 gen mutasyonu çalışması yapılmasına rağmen herhangi genetik bir bozukluğun saptanamaması, özellikle ülkemizde şu ana kadar tanımlanamayan genetik subgrupların olduğu yönünde fikir vermektedir. ' Genom-wide' ve 'linkage analiz' yöntemleri yeni genetik defektleri keşfetmede yardımcı olabilir.

Hastalar, ek anomali/hastalık açısından incelendiğinde 2 hastada mental retardasyon/epilepsi, 1 hastada hipergonadotropik hipogonadizm, 1 hastada Ailevi Akdeniz Ateşi, 1 hastada Primer Sklerozan Kolanjit, 1 hastada bronşiektazi ve göğüs deformitesi saptadık. Bilindiği gibi, HAX-1 proteinin iki izoformu olan A ve B' nin ikisinin de etkilendiği durumlarda hastalarda ağır konjenital nötropeniye ek olarak gelişme geriliği ve epilepsi de eşlik edebilir(69). Çalışmamızda gelişme geriliği olan hastaların birinde HAX-1 mutasyonu gösterilemezken, diğer hastada genetik defekt çalışması yapılamamıştır. Hipergonadotropik hipogonadizmi olan hastada da genetik defekt saptanamıştır. Bronşiektazi ve göğüs deformitesi olan hastanın dismorfik yüz görünümünün olması nedeni ile G6PC3 enzimini kodlayan gen ile ilişkili mutasyon taraması yapılmış ve sonuç pozitif olarak gelmiştir. Literatüre bakıldığında; ağır konjenital nötropeninin sendromik varyantı olarak isimlendirilen bu genetik defekte; kardiyak, ürogenital ve endokrinolojik anomalilerin eşlik ettiği, fasyal dismorfizmin görülebildiği, yüzeysel venlerde belirginleşmenin olduğu, iletim tipi işitme kaybı ve miyopatinin de sendrom içinde yer alabileceği gösterilmiştir(82). Hastayı bu açıdan özellikle incelediğimizde ek anomali saptamadık.

Çalışmaya alınan hastaların 18' inde (%85,7) gingivit/gingival hipertrofi/periodontit bulguları mevcuttu. Diş bulguları olmayan hastalar çalışmanın görece yaşı küçük hastaları idi. G-CSF tedavisine rağmen hastaların diş bulgularında düzelme görülmedi. Literatürde bu hastaların G-CSF tedavisi ile nötropenileri

düzelmesine ve profesyonel diş bakımı almalarına rağmen büyük oranda periodontal problemlerinin devam ettiği görülmüştür. Gingivit ve periodontit patogeneğinde oral mikroorganizmalarla konak defansı arasındaki ilişkinin rol aldığı, nötrofillerin ağız sağlığında anahtar immün hücreler olduğu, nötropeni ve nötrofil fonksiyon bozukluğu giden tabloların genelde periodontal problemlere yol açtığı belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada özellikle ELANE geni ile ilişkili mutasyonları olan ağır konjenital nötropeni hastalarında periodontal problemlerin HAX-1' e göre daha ağır olduğu sonucuna ulaşılmıştır(158). Çalışmamızda HAX-1 mutasyonu pozitif hastalarımızın 5' inde (%83,3) diş bulguları mevcuttu.

Çalışmamızda 1 hastada MDS' ye lösemik transformasyon gelişerek yapılan kemik iliği sitogenetik analizinde anomaliye rastlanmadı. Literatürde yıllık kemik iliği değerlendirmesi ile, genetik subgruptan bağımsız olarak, ağır konjenital nötropeni hastalarında monozomi 7, RAS mutasyonları, trizomi 21 veya GCSFR mutasyonlarının saptanmasıyla lösemik transformasyon gelişimi açısından yüksek riskli riskli grubun belirlenebileceği belirtilmiştir. Ayrıca hastalık süresince anemi veya trombositopeni gelişen hastalara, malign transformasyon açısından mutlaka kemik iliği incelemesi yapılmalıdır(159). Ağır konjenital nötropeni hastalarında yaşam süresinin uzamasıyla beraber uzun dönem komplikasyonlar ve tedavi seçenekleri daha çok tartışılır hale gelmiştir. MDS ve AML' ye lösemik transformasyon en önemli ve ciddi morbidite ve mortalite sebebi olmaya başlamıştır. Literatürde ağır konjenital nötropeni ve SDS hastalarında görülebilen lösemik transformasyonun diğer kronik nötropeni formlarında (siklik nötropeni, kronik idiyopatik nötropeni, glikojen depo tip 1b) görülmediği belirtilmiştir(159). Yaşamın ilk 2 yılında ağır konjenital nötropeni hastalarının kaybedilmesi nedeni ile lösemik transformasyon hakkında yeterli bilgi edinilememiştir. 1987 yılında G-CSF tedavisinin keşfinden sonra hastalarda lösemik transformasyon gözlenmiş; fakat hastalığın doğal seyrine mi yoksa G-CSF' e bağlı mı geliştiği hakkında şüpheler doğmuştur. Literatürde G-CSF tedavisi altında 6 yılın sonunda yıllık %2,9 olan MDS/AML riskinin 12 yılın sonunda %8' e yükseldiği görülmüştür. G-CSF dozu ile lösemik transformasyon riskinin araştırıldığı bu çalışmada, yüksek doz (>8µg/kg/gün) G-CSF tedavisi alan hastaların 10 yılın sonunda AML/MDS kümülatif insidansı %40 iken, bu oran düşük doz tedavi alan (<8µg/kg/gün) hasta

grubunda %11 olarak bulunmuştur(160). Çalışmamızda malignite gelişen hastamız yüksek doz G-CSF tedavisi almaktaydı; fakat yüksek doz ile malignite grubunun karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamadık. Literatürde ELANE gen mutasyonu olan hastalarda malign transformasyon riskinin daha fazla olduğu bildirilmektedir(160). MDS gelişen hastamızda ELANE gen mutasyonu saptamadık. Çalışmamızda 1 hasta hodgkin lenfoma tanısı aldı. Literatürde ağır konjenital nötropeni ve hodgkin lenfoma birlikteliğini bildiren çalışma bulunmamaktadır.

Ağır konjenital nötropeni hastalarında spontan kemik kırığı ve kemik ağrısı olmadan osteopeni/osteoporoz geliştiği bilinmektedir. Literatürde genetik mutasyondan bağımsız olarak hastaların %40' ında osteopeni veya osteoporoz bildirilmiştir(97). Çalışmamızda 17 hastanın 9' unda (%52,9) osteoporoz veya osteopeni saptanmıştır. Tanı öncesi hiçbir hastada kemik ağrısı veya spontan kırık hikayesi yoktu. Bilinmeyen mekanizmalarla hastalık süresince, primer hastalığa ya da G-CSF' e bağlı gelişebileceği için semptom olsun olmasın, belirli aralıklarla hastaların kemik dansitometrelerine bakılmalıdır.

Çalışmamızda 2 hastaya tam uyumlu akrabalarından periferik kök hücre nakli yapıldı. 1 hastamızda nakil endikasyonu MDS' ye malign transformasyon iken, diğer hastamızda tekrarlayan ağır ve hospitalizasyon gerektiren enfeksiyonlardı. Her iki hastada da nakil öncesi ve sonrası işleme bağlı komplikasyon görülmedi. Nötropenileri düzelerek G-CSF ihtiyaçları kalmadı. Ağır konjenital nötropenide hematopoetik kök hücre nakli tek küratif tedavi seçeneğidir. Kesin endikasyonları ise malign transformasyon ve G-CSF tedavisine yanıtızsızlıktır. Literatürde tam uyumlu donör olması halinde hastalığın malign transformasyon ve enfeksiyonlara bağlı ölüm riski nedeniyle bu grup hastaların da transplant için aday olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur(159). Tam uyumlu donörü olan hastamıza malign transformasyon ve G-CSF tedavisine yanıtızsızlık olmamasına rağmen kök hücre nakli yapıldı.

Ağır konjenital nötropeni hastalarının yaklaşık %95' i G-CSF tedavisine yanıt verir. Nötrofil sayıları normal aralığa gelerek enfeksiyon sıklığı azalır(70). Çalışmamızda G-CSF tedavisi sonrasında hastaların büyük çoğunluğunda ağır ve

hospitalizasyon gerektiren enfeksiyonlara rastlanmamıştır. G-CSF tedavisinin yararlı olduğu gözlenmiştir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda 1985-2012 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji Ünitesinde ağır konjenital nötropeni tanısı ile izlenen hastaların demografik özellikleri, klinik, laboratuvar bulguları ve prognozları incelenerek hastalık tanısında, tedavisinde ve uzun dönem komplikasyonların yönetiminde belirli bir algoritma elde edilmeye çalışılmıştır.

1. Hayatın ilk yılında tekrarlayan oral/genital aft, cilt enfeksiyonları (selülit, fronkül vb.) ve pnömoni, otit, sepsis gibi ağır bakteriyel enfeksiyon hikayesi olan hastalarda nötropeni olasılığı düşünülerek tam kan sayımı ve periferik yayma değerlendirilmeli ve absolü nötrofil sayısı hesaplanmalıdır. Ağır nötropeni saptanması durumunda kemik iliği aspirasyonu ve değerlendirilmesi yapılarak miyeloid seride maturasyon arresti ile ağır konjenital nötropeni tanısı doğrulanmalıdır. Otoimmün nötropeni de infantil dönemde benzer klinik bulgular olabilir. Ayırıcı tanıda ilk düşünülmesi gereken kronik nötropeni formlarının başında gelir. OIN’ de ender de olsa kemik iliğinde miyeloid seride maturasyon arresti görülebilir; fakat 1-2 µg/kg/gün G-CSF dozu ile AKN’ den farklı olarak otoimmün nötropeni hastalarının nötropenileri düzelir. Anti-nötrofil antikör pozitifliği ağır konjenital nötropeniyi ekarte ettirmez, bu nedenle rutinde kullanmanın önemi yoktur. Nötropeni ayrıca altta yatan başka bir immün yetmezliğin de komponenti olabileceğinden, bu hastaların kantitatif immünglobulin değerlerine, lenfopeni saptanması durumunda lenfosit alt gruplarına ve T hücre fonksiyonlarına bakılmalıdır.

2. Enfeksiyonlara bağlı morbidite ve mortalite gelişmeden bir an önce hastalık tanısı konularak ANS en az 1000 hücre/µL olacak şekilde, her hasta için minimum G-CSF dozu ayarlanmalıdır.

3. Gingival hipertrofi/gingivit/periodontit gibi diş eti hastalıkları G-CSF tedavisine rağmen AKN hastalarında düzelmemektedir. Tüm hastalar düzenli ağız bakımı ve hijyeni yapmalı, uzman bir diş hekiminin takibine girerek multidisipliner izlem gerçekleştirilmelidir.

4. Gerek primer hastalığa, gerekse G-CSF tedavisine bağlı büyüme geriliği AKN’ de sık karşılaşılan bir problemdir. Hastaların enfeksiyon atakları azaltılmalı ve diyetisyen kontrolü ile bilinçli olarak beslenme öğeleri düzenlenerek büyüme geriliği önlenmeye çalışılmalıdır.

5. Henüz bilinmeyen bir mekanizma ile AKN hastalarında osteopeni/osteoporoz sık görülmektedir. Herhangi bir semptom vermeden gelişebildiğinden hastaların 2 yılda bir X-ray veya DEXA yöntemleri ile kemik mineral dansiteleri ölçülmeli, osteopeni/osteoporoz saptanması halinde hastalara Ca ve D vitamini desteği verilerek, hastalar Endokrinoloji bölümü ile birlikte izlenmelidir.

6. Yaşam sürelerinin uzamasıyla, AKN hastalarında en korkulan uzun dönem komplikasyonu AML/MDS malign transformasyonudur. Malignite gelişmeden önce yıllık düzenli olarak yapılan kemik iliğinin morfolojik ve sitogenetik değerlendirmesi ile bu risk erken dönemde predikte edilebilir. Erken tanı gerek kemoterapi ile gerek HSCT ile tedavi şansını arttırır. Bu nedenle AKN hastalarında her yıl düzenli olarak kemik iliği morfolojik ve sitogenetik anomali (özellikle monozomi 7 başta olmak üzere ras ve trizomi 21 mutasyonları) açısından incelenmeli ve Hematoloji bölümü ile işbirliği yapılmalıdır.

7. Çalışmamızda 17 hastanın 10’ unda (%59) genetik defekt saptanamadı. Bilindiği gibi AKN hastalarının halen %26’ sında genetik defekt tanımlanamamıştır. Bu nedenle klasik subtipler olan ELANE ve HAX-1 gen mutasyonları negatif gelen hastaların DNA kanları mutlaka ileriki çalışmalar için saklanmalıdır. Bu şekilde moleküler düzeyde mutasyonların saptanması hem genetik danışma açısından hem de gelecek yıllarda yapılacak gen tedavisi yaklaşımlarına zemin oluşturacaktır.

8. Yeni tanı almış ve izlenmekte olan AKN hastaları İmmünoloji, Hematoloji, Endokrinoloji, Diş Hekimliği ve Diyetisyen bölümlerince multidisipliner olarak değerlendirilmelidir.

7. KAYNAKLAR

1. Borregaard, N. (2010) Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity*, 33 (5), 657-670.
2. Winkler, I.G., Barbier, V., Wadley, R., Zannettino, A.C., Williams, S., Levesque, J.P. (2010) Positioning of bone marrow hematopoietic and stromal cells relative to blood flow in vivo: serially reconstituting hematopoietic stem cells reside in distinct nonperfused niches. *Blood*, 116 (3), 375-385.
3. Eash, K.J., Means, J.M., White, D.W., Link, D.C. (2009) CXCR4 is a key regulator of neutrophil release from the bone marrow under basal and stress granulopoiesis conditions. *Blood*, 113 (19), 4711-4719.
4. Eash, K.J., Greenbaum, A.M., Gopalan, P.K., Link, D.C. (2010) CXCR2 and CXCR4 antagonistically regulate neutrophil trafficking from murine bone marrow. *J Clin Invest*, 120 (7), 2423-2431.
5. Hernandez, P.A., Gorlin, R.J., Lukens, J.N., Taniuchi, S., Bohinjec, J., Francois, F. ve diğeri. (2003) Mutations in the chemokine receptor gene CXCR4 are associated with WHIM syndrome, a combined immunodeficiency disease. *Nat Genet*, 34 (1), 70-74.
6. Lieschke, G.J., Grail, D., Hodgson, G., Metcalf, D., Stanley, E., Cheers, C. ve diğeri. (1994) Mice lacking granulocyte colony-stimulating factor have chronic neutropenia, granulocyte and macrophage progenitor cell deficiency, and impaired neutrophil mobilization. *Blood*, 84 (6), 1737-1746.
7. Dale, D.C., Boxer, L., Liles, W.C. (2008) The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood*, 112 (4), 935-945.
8. Ley, K., Smith, E., Stark, M.A. (2006) IL-17A-producing neutrophil-regulatory Tn lymphocytes. *Immunol Res*, 34 (3), 229-242.

9. Dale, D.C. (2012) Twenty years of the colony-stimulating factors. *Curr Opin Hematol*, 19 (1), 1-2.
10. Reddy, V.A., Iwama, A., Iotzova, G., Schulz, M., Elsasser, A., Vangala, R.K. ve diğerleri. (2002) Granulocyte inducer C/EBPalpha inactivates the myeloid master regulator PU.1: possible role in lineage commitment decisions. *Blood*, 100 (2), 483-490.
11. Hirai, H., Zhang, P., Dayaram, T., Hetherington, C.J., Mizuno, S., Imanishi, J. ve diğerleri. (2006) C/EBPbeta is required for 'emergency' granulopoiesis. *Nat Immunol*, 7 (7), 732-739.
12. Fazi, F., Rosa, A., Fatica, A., Gelmetti, V., De Marchis, M.L., Nervi, C. ve diğerleri. (2005) A minicircuitry comprised of microRNA-223 and transcription factors NFI-A and C/EBPalpha regulates human granulopoiesis. *Cell*, 123 (5), 819-831.
13. Pulikkan, J.A., Dengler, V., Peramangalam, P.S., Peer Zada, A.A., Muller-Tidow, C., Bohlander, S.K. ve diğerleri. (2010) Cell-cycle regulator E2F1 and microRNA-223 comprise an autoregulatory negative feedback loop in acute myeloid leukemia. *Blood*, 115 (9), 1768-1778.
14. Skokowa, J., Cario, G., Uenalan, M., Schambach, A., Germeshausen, M., Battmer, K. ve diğerleri. (2006) LEF-1 is crucial for neutrophil granulocytopoiesis and its expression is severely reduced in congenital neutropenia. *Nat Med*, 12 (10), 1191-1197.
15. Horman, S.R., Velu, C.S., Chaubey, A., Bourdeau, T., Zhu, J., Paul, W.E. ve diğerleri. (2009) Gfi1 integrates progenitor versus granulocytic transcriptional programming. *Blood*, 113 (22), 5466-5475.
16. Zarebski, A., Velu, C.S., Baktula, A.M., Bourdeau, T., Horman, S.R., Basu, S. ve diğerleri. (2008) Mutations in growth factor independent-1 associated with human neutropenia block murine granulopoiesis through colony stimulating factor-1. *Immunity*, 28 (3), 370-380.

17. Person, R.E., Li, F.Q., Duan, Z., Benson, K.F., Wechsler, J., Papadaki, H.A. ve diğerleri. (2003) Mutations in proto-oncogene GFI1 cause human neutropenia and target ELA2. *Nat Genet*, 34 (3), 308-312.
18. Lekstrom-Himes, J.,Xanthopoulos, K.G. (1999) CCAAT/enhancer binding protein epsilon is critical for effective neutrophil-mediated response to inflammatory challenge. *Blood*, 93 (9), 3096-3105.
19. Gery, S., Gombart, A.F., Fung, Y.K.,Koeffler, H.P. (2004) C/EBPepsilon interacts with retinoblastoma and E2F1 during granulopoiesis. *Blood*, 103 (3), 828-835.
20. Bjerregaard, M.D., Jurlander, J., Klausen, P., Borregaard, N.,Cowland, J.B. (2003) The in vivo profile of transcription factors during neutrophil differentiation in human bone marrow. *Blood*, 101 (11), 4322-4332.
21. Athens, J.W., Haab, O.P., Raab, S.O., Mauer, A.M., Ashenbrucker, H., Cartwright, G.E. ve diğerleri. (1961) Leukokinetic studies. IV. The total blood, circulating and marginal granulocyte pools and the granulocyte turnover rate in normal subjects. *J Clin Invest*, 40, 989-995.
22. Borregaard, N.,Cowland, J.B. (1997) Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. *Blood*, 89 (10), 3503-3521.
23. Stossel, T.P. (1994) The machinery of cell crawling. *Sci Am*, 271 (3), 54-55, 58-63.
24. Tenen, D.G., Hromas, R., Licht, J.D.,Zhang, D.E. (1997) Transcription factors, normal myeloid development, and leukemia. *Blood*, 90 (2), 489-519.
25. Grisolano, J.L., Sclar, G.M.,Ley, T.J. (1994) Early myeloid cell-specific expression of the human cathepsin G gene in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91 (19), 8989-8993.
26. Kurt-Jones, E.A., Mandell, L., Whitney, C., Padgett, A., Gosselin, K., Newburger, P.E. ve diğerleri. (2002) Role of toll-like receptor 2 (TLR2) in neutrophil activation: GM-CSF enhances TLR2 expression and TLR2-mediated interleukin 8 responses in neutrophils. *Blood*, 100 (5), 1860-1868.

27. Seri, M., Cusano, R., Gangarossa, S., Caridi, G., Bordo, D., Lo Nigro, C. ve diğeri. (2000) Mutations in MYH9 result in the May-Hegglin anomaly, and Fechtner and Sebastian syndromes. The May-Hegglin/Fechtner Syndrome Consortium. *Nat Genet*, 26 (1), 103-105.
28. Hoffmann, K., Dreger, C.K., Olins, A.L., Olins, D.E., Shultz, L.D., Lucke, B. ve diğeri. (2002) Mutations in the gene encoding the lamin B receptor produce an altered nuclear morphology in granulocytes (Pelger-Huet anomaly). *Nat Genet*, 31 (4), 410-414.
29. Theilgaard-Monch, K., Jacobsen, L.C., Nielsen, M.J., Rasmussen, T., Udby, L., Gharib, M. ve diğeri. (2006) Haptoglobin is synthesized during granulocyte differentiation, stored in specific granules, and released by neutrophils in response to activation. *Blood*, 108 (1), 353-361.
30. Arnljots, K., Sorensen, O., Lollike, K., Borregaard, N. (1998) Timing, targeting and sorting of azurophil granule proteins in human myeloid cells. *Leukemia*, 12 (11), 1789-1795.
31. Lollike, K., Kjeldsen, L., Sengelov, H., Borregaard, N. (1995) Lysozyme in human neutrophils and plasma. A parameter of myelopoietic activity. *Leukemia*, 9 (1), 159-164.
32. Borregaard, N., Kjeldsen, L., Lollike, K., Sengelov, H. (1995) Granules and secretory vesicles of the human neutrophil. *Clin Exp Immunol*, 101 Suppl 1, 6-9.
33. Borregaard, N., Sorensen, O.E., Theilgaard-Monch, K. (2007) Neutrophil granules: a library of innate immunity proteins. *Trends Immunol*, 28 (8), 340-345.
34. Yamanaka, R., Barlow, C., Lekstrom-Himes, J., Castilla, L.H., Liu, P.P., Eckhaus, M. ve diğeri. (1997) Impaired granulopoiesis, myelodysplasia, and early lethality in CCAAT/enhancer binding protein epsilon-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94 (24), 13187-13192.

35. Sabroe, I., Dower, S.K., Whyte, M.K. (2005) The role of Toll-like receptors in the regulation of neutrophil migration, activation, and apoptosis. *Clin Infect Dis*, 41 Suppl 7, S421-426.
36. Downey, G.P., Fukushima, T., Fialkow, L. (1995) Signaling mechanisms in human neutrophils. *Curr Opin Hematol*, 2 (1), 76-88.
37. Plytycz, B., Seljelid, R. (2003) From inflammation to sickness: historical perspective. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 51 (2), 105-109.
38. Springer, T.A. (1994) Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell*, 76 (2), 301-314.
39. McIntyre, T.M., Prescott, S.M., Weyrich, A.S., Zimmerman, G.A. (2003) Cell-cell interactions: leukocyte-endothelial interactions. *Curr Opin Hematol*, 10 (2), 150-158.
40. Bevilacqua, M.P., Stengelin, S., Gimbrone, M.A., Jr., Seed, B. (1989) Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. *Science*, 243 (4895), 1160-1165.
41. Hidalgo, A., Peired, A.J., Wild, M.K., Vestweber, D., Frenette, P.S. (2007) Complete identification of E-selectin ligands on neutrophils reveals distinct functions of PSGL-1, ESL-1, and CD44. *Immunity*, 26 (4), 477-489.
42. Smalley, D.M., Ley, K. (2005) L-selectin: mechanisms and physiological significance of ectodomain cleavage. *J Cell Mol Med*, 9 (2), 255-266.
43. Christopher, M.J., Link, D.C. (2007) Regulation of neutrophil homeostasis. *Curr Opin Hematol*, 14 (1), 3-8.
44. Kishimoto, T.K., O'Connor, K., Lee, A., Roberts, T.M., Springer, T.A. (1987) Cloning of the beta subunit of the leukocyte adhesion proteins: homology to an extracellular matrix receptor defines a novel supergene family. *Cell*, 48 (4), 681-690.

45. Sengelov, H., Kjeldsen, L., Diamond, M.S., Springer, T.A., Borregaard, N. (1993) Subcellular localization and dynamics of Mac-1 (alpha m beta 2) in human neutrophils. *J Clin Invest*, 92 (3), 1467-1476.
46. Yonekawa, K., Harlan, J.M. (2005) Targeting leukocyte integrins in human diseases. *J Leukoc Biol*, 77 (2), 129-140.
47. Berton, G., Mocsai, A., Lowell, C.A. (2005) Src and Syk kinases: key regulators of phagocytic cell activation. *Trends Immunol*, 26 (4), 208-214.
48. Hordijk, P.L. (2006) Endothelial signalling events during leukocyte transmigration. *FEBS J*, 273 (19), 4408-4415.
49. Howard, T.H., Watts, R.G. (1994) Actin polymerization and leukocyte function. *Curr Opin Hematol*, 1 (1), 61-68.
50. Hartwig, J.H., Shevlin, P. (1986) The architecture of actin filaments and the ultrastructural location of actin-binding protein in the periphery of lung macrophages. *J Cell Biol*, 103 (3), 1007-1020.
51. de Haas, M., Kleijer, M., van Zwieten, R., Roos, D., von dem Borne, A.E. (1995) Neutrophil Fc gamma RIIb deficiency, nature, and clinical consequences: a study of 21 individuals from 14 families. *Blood*, 86 (6), 2403-2413.
52. Trinchieri, G., Sher, A. (2007) Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence. *Nat Rev Immunol*, 7 (3), 179-190.
53. Lee, W.L., Harrison, R.E., Grinstein, S. (2003) Phagocytosis by neutrophils. *Microbes Infect*, 5 (14), 1299-1306.
54. Faurschou, M., Borregaard, N. (2003) Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes Infect*, 5 (14), 1317-1327.
55. Allen, L.A. (2003) Mechanisms of pathogenesis: evasion of killing by polymorphonuclear leukocytes. *Microbes Infect*, 5 (14), 1329-1335.
56. Ganz, T., Lehrer, R.I. (1997) Antimicrobial peptides of leukocytes. *Curr Opin Hematol*, 4 (1), 53-58.

57. Ganz, T. (2003) Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 3 (9), 710-720.
58. Pham, C.T. (2006) Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation. *Nat Rev Immunol*, 6 (7), 541-550.
59. Cech, P., Lehrer, R.I. (1984) Phagolysosomal pH of human neutrophils. *Blood*, 63 (1), 88-95.
60. Tkalecivic, J., Novelli, M., Phylactides, M., Iredale, J.P., Segal, A.W., Roes, J. (2000) Impaired immunity and enhanced resistance to endotoxin in the absence of neutrophil elastase and cathepsin G. *Immunity*, 12 (2), 201-210.
61. Nauseef, W.M. (2004) Assembly of the phagocyte NADPH oxidase. *Histochem Cell Biol*, 122 (4), 277-291.
62. Heyworth, P.G., Curnutte, J.T., Nauseef, W.M., Volpp, B.D., Pearson, D.W., Rosen, H. ve diğ erleri. (1991) Neutrophil nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase assembly. Translocation of p47-phox and p67-phox requires interaction between p47-phox and cytochrome b558. *J Clin Invest*, 87 (1), 352-356.
63. Marletta, M.A. (1994) Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis. *Cell*, 78 (6), 927-930.
64. Haddy, T.B., Rana, S.R., Castro, O. (1999) Benign ethnic neutropenia: what is a normal absolute neutrophil count? *J Lab Clin Med*, 133 (1), 15-22.
65. Hsieh, M.M., Everhart, J.E., Byrd-Holt, D.D., Tisdale, J.F., Rodgers, G.P. (2007) Prevalence of neutropenia in the U.S. population: age, sex, smoking status, and ethnic differences. *Ann Intern Med*, 146 (7), 486-492.
66. Sickles, E.A., Greene, W.H., Wiernik, P.H. (1975) Clinical presentation of infection in granulocytopenic patients. *Arch Intern Med*, 135 (5), 715-719.
67. Wright, D.G., Meierovics, A.I., Foxley, J.M. (1986) Assessing the delivery of neutrophils to tissues in neutropenia. *Blood*, 67 (4), 1023-1030.

68. Baehner, R.L., Johnston, R.B., Jr. (1972) Monocyte function in children with neutropenia and chronic infections. *Blood*, 40 (1), 31-41.
69. Klein, C., Grudzien, M., Appaswamy, G., Germeshausen, M., Sandrock, I., Schaffer, A.A. ve diğeri. (2007) HAX1 deficiency causes autosomal recessive severe congenital neutropenia (Kostmann disease). *Nat Genet*, 39 (1), 86-92.
70. Berliner, N., Horwitz, M., Loughran, T.P., Jr. (2004) Congenital and acquired neutropenia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 63-79.
71. Boztug, K., Klein, C. (2011) Genetic etiologies of severe congenital neutropenia. *Curr Opin Pediatr*, 23 (1), 21-26.
72. Walter, P., Ron, D. (2011) The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science*, 334 (6059), 1081-1086
73. Malhotra, J.D., Kaufman, R.J. (2007) The endoplasmic reticulum and the unfolded protein response. *Semin Cell Dev Biol*, 18 (6), 716-731.
74. Ramsay, A.G., Keppler, M.D., Jazayeri, M., Thomas, G.J., Parsons, M., Violette, S. ve diğeri. (2007) HS1-associated protein X-1 regulates carcinoma cell migration and invasion via clathrin-mediated endocytosis of integrin α v β 6. *Cancer Res*, 67 (11), 5275-5284.
75. Yap, S.V., Vafiadaki, E., Strong, J., Kontogianni-Konstantopoulos, A. (2010) HAX-1: a multifaceted antiapoptotic protein localizing in the mitochondria and the sarcoplasmic reticulum of striated muscle cells. *J Mol Cell Cardiol*, 48 (6), 1266-1279.
76. Kang, Y.J., Jang, M., Park, Y.K., Kang, S., Bae, K.H., Cho, S. ve diğeri. (2010) Molecular interaction between HAX-1 and XIAP inhibits apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 393 (4), 794-799.
77. Han, Y., Chen, Y.S., Liu, Z., Bodyak, N., Rigor, D., Bisping, E. ve diğeri. (2006) Overexpression of HAX-1 protects cardiac myocytes from apoptosis through caspase-9 inhibition. *Circ Res*, 99 (4), 415-423.

78. Germeshausen, M., Ballmaier, M., Welte, K. (2007) Incidence of CSF3R mutations in severe congenital neutropenia and relevance for leukemogenesis: Results of a long-term survey. *Blood*, 109 (1), 93-99.
79. de, V.O., Seynhaeve, V. (1959) Reticular dysgenesis. *Lancet*, 2 (7112), 1123-1125.
80. Bujan, W., Ferster, A., Sariban, E., Friedrich, W. (1993) Effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in reticular dysgenesis. *Blood*, 82 (5), 1684.
81. Lee, H.J., Pyo, J.O., Oh, Y., Kim, H.J., Hong, S.H., Jeon, Y.J. ve diğerleri. (2007) AK2 activates a novel apoptotic pathway through formation of a complex with FADD and caspase-10. *Nat Cell Biol*, 9 (11), 1303-1310.
82. Boztug, K., Appaswamy, G., Ashikov, A., Schaffer, A.A., Salzer, U., Diestelhorst, J. ve diğerleri. (2009) A syndrome with congenital neutropenia and mutations in G6PC3. *N Engl J Med*, 360 (1), 32-43.
83. Jun, H.S., Lee, Y.M., Cheung, Y.Y., McDermott, D.H., Murphy, P.M., De Ravin, S.S. ve diğerleri. (2010) Lack of glucose recycling between endoplasmic reticulum and cytoplasm underlies cellular dysfunction in glucose-6-phosphatase-beta-deficient neutrophils in a congenital neutropenia syndrome. *Blood*, 116 (15), 2783-2792.
84. McDermott, D.H., De Ravin, S.S., Jun, H.S., Liu, Q., Priel, D.A., Noel, P. ve diğerleri. (2010) Severe congenital neutropenia resulting from G6PC3 deficiency with increased neutrophil CXCR4 expression and myelokathexis. *Blood*, 116 (15), 2793-2802.
85. Kim, S.Y., Jun, H.S., Mead, P.A., Mansfield, B.C., Chou, J.Y. (2008) Neutrophil stress and apoptosis underlie myeloid dysfunction in glycogen storage disease type Ib. *Blood*, 111 (12), 5704-5711
86. Zhuang, D., Qiu, Y., Kogan, S.C., Dong, F. (2006) Increased CCAAT enhancer-binding protein epsilon (C/EBPepsilon) expression and premature apoptosis in myeloid cells expressing Gfi-1 N382S mutant associated with severe congenital neutropenia. *J Biol Chem*, 281 (16), 10745-10751.

87. Zhu, J., Guo, L., Min, B., Watson, C.J., Hu-Li, J., Young, H.A. ve diğerleri. (2002) Growth factor independent-1 induced by IL-4 regulates Th2 cell proliferation. *Immunity*, 16 (5), 733-744.
88. Thrasher, A.J. (2002) WASp in immune-system organization and function. *Nat Rev Immunol*, 2 (9), 635-646.
89. Devriendt, K., Kim, A.S., Mathijs, G., Frints, S.G., Schwartz, M., Van Den Oord, J.J. ve diğerleri. (2001) Constitutively activating mutation in WASP causes X-linked severe congenital neutropenia. *Nat Genet*, 27 (3), 313-317
90. Moulding, D.A., Blundell, M.P., Spiller, D.G., White, M.R., Cory, G.O., Calle, Y. ve diğerleri. (2007) Unregulated actin polymerization by WASp causes defects of mitosis and cytokinesis in X-linked neutropenia. *J Exp Med*, 204 (9), 2213-2224.
91. Hunter, M.G., Avalos, B.R. (2000) Granulocyte colony-stimulating factor receptor mutations in severe congenital neutropenia transforming to acute myelogenous leukemia confer resistance to apoptosis and enhance cell survival. *Blood*, 95 (6), 2132-2137.
92. Donini, M., Fontana, S., Savoldi, G., Vermi, W., Tassone, L., Gentili, F. ve diğerleri. (2007) G-CSF treatment of severe congenital neutropenia reverses neutropenia but does not correct the underlying functional deficiency of the neutrophil in defending against microorganisms. *Blood*, 109 (11), 4716-4723.
93. Hermans, M.H., Ward, A.C., Antonissen, C., Karis, A., Lowenberg, B., Touw, I.P. (1998) Perturbed granulopoiesis in mice with a targeted mutation in the granulocyte colony-stimulating factor receptor gene associated with severe chronic neutropenia. *Blood*, 92 (1), 32-39.
94. Freedman, M.H., Bonilla, M.A., Fier, C., Bolyard, A.A., Scarlata, D., Boxer, L.A. ve diğerleri. (2000) Myelodysplasia syndrome and acute myeloid leukemia in patients with congenital neutropenia receiving G-CSF therapy. *Blood*, 96 (2), 429-436.

95. Zeidler, C., Germeshausen, M., Klein, C., Welte, K. (2009) Clinical implications of ELA2-, HAX1-, and G-CSF-receptor (CSF3R) mutations in severe congenital neutropenia. *Br J Haematol*, 144 (4), 459-467.
96. Freedman, M.H. (1997) Safety of long-term administration of granulocyte colony-stimulating factor for severe chronic neutropenia. *Curr Opin Hematol*, 4 (3), 217-224.
97. Dale, D.C., Cottle, T.E., Fier, C.J., Bolyard, A.A., Bonilla, M.A., Boxer, L.A. ve diğ erleri. (2003) Severe chronic neutropenia: treatment and follow-up of patients in the Severe Chronic Neutropenia International Registry. *Am J Hematol*, 72 (2), 82-93.
98. Mempel, K., Pietsch, T., Menzel, T., Zeidler, C., Welte, K. (1991) Increased serum levels of granulocyte colony-stimulating factor in patients with severe congenital neutropenia. *Blood*, 77 (9), 1919-1922.
99. Boxer, L., Dale, D.C. (2002) Neutropenia: causes and consequences. *Semin Hematol*, 39 (2), 75-81.
100. Welte, K., Zeidler, C., Dale, D.C. (2006) Severe congenital neutropenia. *Semin Hematol*, 43 (3), 189-195.
101. Welte, K., Zeidler, C., Reiter, A., Muller, W., Odenwald, E., Souza, L. ve diğ erleri. (1990) Differential effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and granulocyte colony-stimulating factor in children with severe congenital neutropenia. *Blood*, 75 (5), 1056-1063.
102. Bonilla, M.A., Dale, D., Zeidler, C., Last, L., Reiter, A., Ruggeiro, M. ve diğ erleri. (1994) Long-term safety of treatment with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (r-metHuG-CSF) in patients with severe congenital neutropenias. *Br J Haematol*, 88 (4), 723-730.
103. Carlsson, G., Winiarski, J., Ljungman, P., Ringden, O., Mattsson, J., Nordenskjold, M. ve diğ erleri. (2011) Hematopoietic stem cell transplantation in severe congenital neutropenia. *Pediatr Blood Cancer*, 56 (3), 444-451.

104. Zeidler, C., Schwinzer, B., Welte, K. (2003) Congenital neutropenias. *Rev Clin Exp Hematol*, 7 (1), 72-83.
105. Bernard, T., Gale, R.E., Evans, J.P., Linch, D.C. (1998) Mutations of the granulocyte-colony stimulating factor receptor in patients with severe congenital neutropenia are not required for transformation to acute myeloid leukaemia and may be a bystander phenomenon. *Br J Haematol*, 101 (1), 141-149.
106. Germeshausen, M., Schulze, H., Kratz, C., Wilkens, L., Repp, R., Shannon, K. ve diğeri. (2005) An acquired G-CSF receptor mutation results in increased proliferation of CMML cells from a patient with severe congenital neutropenia. *Leukemia*, 19 (4), 611-617.
107. Yakisan, E., Schirg, E., Zeidler, C., Bishop, N.J., Reiter, A., Hirt, A. ve diğeri. (1997) High incidence of significant bone loss in patients with severe congenital neutropenia (Kostmann's syndrome). *J Pediatr*, 131 (4), 592-597.
108. Ownby, D.R., Pizzo, S., Blackmon, L., Gall, S.A., Buckley, R.H. (1976) Severe combined immunodeficiency with leukopenia (reticular dysgenesis) in siblings: immunologic and histopathologic findings. *J Pediatr*, 89 (3), 382-387.
109. Wright, D.G., Dale, D.C., Fauci, A.S., Wolff, S.M. (1981) Human cyclic neutropenia: clinical review and long-term follow-up of patients. *Medicine (Baltimore)*, 60 (1), 1-13.
110. Krance, R.A., Spruce, W.E., Forman, S.J., Rosen, R.B., Hecht, T., Hammond, W.P. ve diğeri. (1982) Human cyclic neutropenia transferred by allogeneic bone marrow grafting. *Blood*, 60 (6), 1263-1266.
111. Dale, D.C., Person, R.E., Bolyard, A.A., Aprikyan, A.G., Bos, C., Bonilla, M.A. ve diğeri. (2000) Mutations in the gene encoding neutrophil elastase in congenital and cyclic neutropenia. *Blood*, 96 (7), 2317-2322.

112. Simon, A., van der Meer, J.W. (2007) Pathogenesis of familial periodic fever syndromes or hereditary autoinflammatory syndromes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 292 (1), R86-98.
113. Hammond, W.P.t., Price, T.H., Souza, L.M., Dale, D.C. (1989) Treatment of cyclic neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *N Engl J Med*, 320 (20), 1306-1311.
114. Aprikyan, A.A., Kutyavin, T., Stein, S., Aprikian, P., Rodger, E., Liles, W.C. ve diğ erleri. (2003) Cellular and molecular abnormalities in severe congenital neutropenia predisposing to leukemia. *Exp Hematol*, 31 (5), 372-381.
115. Hord, J.D., Whitlock, J.A., Gay, J.C., Lukens, J.N. (1997) Clinical features of myelokathexis and treatment with hematopoietic cytokines: a case report of two patients and review of the literature. *J Pediatr Hematol Oncol*, 19 (5), 443-448.
116. Sanmun, D., Garwicz, D., Smith, C.I., Palmblad, J., Fadeel, B. (2006) Stromal-derived factor-1 abolishes constitutive apoptosis of WHIM syndrome neutrophils harbouring a truncating CXCR4 mutation. *Br J Haematol*, 134 (6), 640-644.
117. Shimamura, A. (2006) Shwachman-Diamond syndrome. *Semin Hematol*, 43 (3), 178-188.
118. Berrocal, T., Simon, M.J., al-Assir, I., Prieto, C., Pastor, I., de Pablo, L. ve diğ erleri. (1995) Shwachman-Diamond syndrome: clinical, radiological and sonographic findings. *Pediatr Radiol*, 25 (5), 356-359.
119. Shamas, C., Menne, T.F., Hilcenko, C., Michell, S.R., Goyenechea, B., Boocock, G.R. ve diğ erleri. (2005) Structural and mutational analysis of the SBDS protein family. Insight into the leukemia-associated Shwachman-Diamond Syndrome. *J Biol Chem*, 280 (19), 19221-19229.
120. Dror, Y., Freedman, M.H. (2002) Shwachman-diamond syndrome. *Br J Haematol*, 118 (3), 701-713.

121. Blume, R.S., Wolff, S.M. (1972) The Chediak-Higashi syndrome: studies in four patients and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)*, 51 (4), 247-280.
122. Ward, D.M., Shiflett, S.L., Kaplan, J. (2002) Chediak-Higashi syndrome: a clinical and molecular view of a rare lysosomal storage disorder. *Curr Mol Med*, 2 (5), 469-477.
123. Huizing, M., Anikster, Y., Gahl, W.A. (2001) Hermansky-Pudlak syndrome and Chediak-Higashi syndrome: disorders of vesicle formation and trafficking. *Thromb Haemost*, 86 (1), 233-245.
124. Menasche, G., Pastural, E., Feldmann, J., Certain, S., Ersoy, F., Dupuis, S. ve diğeri. (2000) Mutations in RAB27A cause Griscelli syndrome associated with haemophagocytic syndrome. *Nat Genet*, 25 (2), 173-176.
125. Kolehmainen, J., Black, G.C., Saarinen, A., Chandler, K., Clayton-Smith, J., Traskelin, A.L. ve diğeri. (2003) Cohen syndrome is caused by mutations in a novel gene, COH1, encoding a transmembrane protein with a presumed role in vesicle-mediated sorting and intracellular protein transport. *Am J Hum Genet*, 72 (6), 1359-1369.
126. Bohn, C., Rigoulay, C., Bouloc, P. (2007) No detectable effect of RNA-binding protein Hfq absence in *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiol*, 7, 10.
127. Cutting, H.O., Lang, J.E. (1964) Familial Benign Chronic Neutropenia. *Ann Intern Med*, 61, 876-887.
128. Clewing, J.M., Antalfy, B.C., Lucke, T., Najafian, B., Marwedel, K.M., Hori, A. ve diğeri. (2007) Schimke immuno-osseous dysplasia: a clinicopathological correlation. *J Med Genet*, 44 (2), 122-130.
129. MacGregor, R.R., Friedman, H.M., Macarak, E.J., Kefalides, N.A. (1980) Virus infection of endothelial cells increases granulocyte adherence. *J Clin Invest*, 65 (6), 1469-1477.

130. Cines, D.B., Lyss, A.P., Bina, M., Corkey, R., Kefalides, N.A., Friedman, H.M. (1982) Fc and C3 receptors induced by herpes simplex virus on cultured human endothelial cells. *J Clin Invest*, 69 (1), 123-128.
131. Habib, M.A., Babka, J.C., Burningham, R.A. (1973) Profound granulocytopenia associated with infectious mononucleosis. *Am J Med Sci*, 265 (4), 339-346.
132. Mustafa, M.M., McClain, K.L. (1996) Diverse hematologic effects of parvovirus B19 infection. *Pediatr Clin North Am*, 43 (3), 809-821.
133. Israel, D.S., Plaisance, K.I. (1991) Neutropenia in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Pharm*, 10 (4), 268-279
134. Sachs, U.J., Reiter, A., Walter, T., Bein, G., Woessmann, W. (2006) Safety and efficacy of therapeutic early onset granulocyte transfusions in pediatric patients with neutropenia and severe infections. *Transfusion*, 46 (11), 1909-1914.
135. Pisciotta, A.V. (1990) Drug-induced agranulocytosis. Peripheral destruction of polymorphonuclear leukocytes and their marrow precursors. *Blood Rev*, 4 (4), 226-237.
136. Salama, A., Schutz, B., Kiefel, V., Breithaupt, H., Mueller-Eckhardt, C. (1989) Immune-mediated agranulocytosis related to drugs and their metabolites: mode of sensitization and heterogeneity of antibodies. *Br J Haematol*, 72 (2), 127-132.
137. Weitzman, S.A., Stossel, T.P. (1978) Drug-induced immunological neutropenia. *Lancet*, 1 (8073), 1068-1072.
138. Young, G.A., Vincent, P.C. (1980) Drug-induced agranulocytosis. *Clin Haematol*, 9 (3), 483-504.
139. Bruin, M., Dassen, A., Pajkrt, D., Buddelmeyer, L., Kuijpers, T., de Haas, M. (2005) Primary autoimmune neutropenia in children: a study of neutrophil antibodies and clinical course. *Vox Sang*, 88 (1), 52-59.

140. Bruin, M.C., von dem Borne, A.E., Tamminga, R.Y., Kleijer, M., Buddelmeijer, L., de Haas, M. (1999) Neutrophil antibody specificity in different types of childhood autoimmune neutropenia. *Blood*, 94 (5), 1797-1802.
141. Boxer, L.A., Greenberg, M.S., Boxer, G.J., Stossel, T.P. (1975) Autoimmune neutropenia. *N Engl J Med*, 293 (15), 748-753.
142. Bux, J., Behrens, G., Jaeger, G., Welte, K. (1998) Diagnosis and clinical course of autoimmune neutropenia in infancy: analysis of 240 cases. *Blood*, 91 (1), 181-186.
143. Kobayashi, M., Nakamura, K., Kawaguchi, H., Sato, T., Kihara, H., Hiraoka, A. ve diğ erleri. (2002) Significance of the detection of antineutrophil antibodies in children with chronic neutropenia. *Blood*, 99 (9), 3468-3471.
144. Lyall, E.G., Lucas, G.F., Eden, O.B. (1992) Autoimmune neutropenia of infancy. *J Clin Pathol*, 45 (5), 431-434.
145. Neglia, J.P., Watterson, J., Clay, M., Kline, W., Luban, N.L., Smith, C.M., 2nd ve diğ erleri. (1993) Autoimmune neutropenia of infancy and early childhood. *Pediatr Hematol Oncol*, 10 (4), 369-376.
146. Cartron, J., Tchernia, G., Celton, J.L., Damay, M., Cheron, G., Farrokhi, P. ve diğ erleri. (1991) Alloimmune neonatal neutropenia. *Am J Pediatr Hematol Oncol*, 13 (1), 21-25
147. Gilmore, M.M., Stroncek, D.F., Korones, D.N. (1994) Treatment of alloimmune neonatal neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *J Pediatr*, 125 (6 Pt 1), 948-951.
148. van Leeuwen, E.F., Roord, J.J., de Gast, G.C., Vander Plas-Van Dalen, C. (1983) Neonatal neutropenia due to maternal autoantibodies against neutrophils. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 287 (6385), 94.
149. Cham, B., Bonilla, M.A., Winkelstein, J. (2002) Neutropenia associated with primary immunodeficiency syndromes. *Semin Hematol*, 39 (2), 107-112.

150. Rao, V.K.,Straus, S.E. (2006) Causes and consequences of the autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Hematology*, 11 (1), 15-23.
151. Hermanns, P., Tran, A., Munivez, E., Carter, S., Zabel, B., Lee, B. ve diğ erleri. (2006) RMRP mutations in cartilage-hair hypoplasia. *Am J Med Genet A*, 140 (19), 2121-2130.
152. Barth, P.G., Valianpour, F., Bowen, V.M., Lam, J., Duran, M., Vaz, F.M. ve diğ erleri. (2004) X-linked cardioskeletal myopathy and neutropenia (Barth syndrome): an update. *Am J Med Genet A*, 126A (4), 349-354.
153. Hutchinson, R.J., Bunnell, K.,Thoene, J.G. (1985) Suppression of granulopoietic progenitor cell proliferation by metabolites of the branched-chain amino acids. *J Pediatr*, 106 (1), 62-65.
154. Couper, R., Kapelushnik, J.,Griffiths, A.M. (1991) Neutrophil dysfunction in glycogen storage disease Ib: association with Crohn's-like colitis. *Gastroenterology*, 100 (2), 549-554.
155. Pearson, H.A., Lobel, J.S., Kocoshis, S.A., Naiman, J.L., Windmiller, J., Lammi, A.T. ve diğ erleri. (1979) A new syndrome of refractory sideroblastic anemia with vacuolization of marrow precursors and exocrine pancreatic dysfunction. *J Pediatr*, 95 (6), 976-984.
156. Zeidler, C., Welte, K., Barak, Y., Barriga, F., Bolyard, A.A., Boxer, L. ve diğ erleri. (2000) Stem cell transplantation in patients with severe congenital neutropenia without evidence of leukemic transformation. *Blood*, 95 (4), 1195-1198.
157. Boztug, K.,Klein, C. (2009) Novel genetic etiologies of severe congenital neutropenia. *Curr Opin Immunol*, 21 (5), 472-480.
158. Ye, Y., Carlsson, G., Wondimu, B., Fahlen, A., Karlsson-Sjoberg, J., Andersson, M. ve diğ erleri. (2011) Mutations in the ELANE gene are associated with development of periodontitis in patients with severe congenital neutropenia. *J Clin Immunol*, 31 (6), 936-945.

159. Connelly, J.A., Choi, S.W., Levine, J.E. (2012) Hematopoietic stem cell transplantation for severe congenital neutropenia. *Curr Opin Hematol*, 19 (1), 44-51.
160. Rosenberg, P.S., Alter, B.P., Bolyard, A.A., Bonilla, M.A., Boxer, L.A., Cham, B. ve diğeri. (2006) The incidence of leukemia and mortality from sepsis in patients with severe congenital neutropenia receiving long-term G-CSF therapy. *Blood*, 107 (12), 4628-4635.



EK**AĞIR KONJENİTAL NÖTROPENİ HASTA TANI VE
TAKİP FORMU****Hasta adı :****TEL:****Yaşı :****Tanı yaşı :**

Klinik prezentasyon: rekürren oral aft
rekürren genital aft
rekürren cilt enfeksiyonları (selülit, fronkül, gibi.)
otit
pnömoni
lenfadenit
sepsis
omfalit
gingivit/gingival hipertrofi/periodontit
diğer

Akrabalık:**Kardeş hx:****Antropometrik Ölçümler:**

VA : (p)

BOY : (p)

BÇ : (p)

LABORATUVAR

Hb: BK: PLT:
 ANS: ALS: AMS: AES:
 IgA: IgG: IgM: IgE:

KİA

Myeleid seride arrest:

Kİ sitogenetik**Mutasyon:**

Eşlik eden anomali: Kardiak
 Renal
 Venöz belirginlik
 Nörolojik
 Diğer

Ek Hastalık:

Diş bulguları: Gingivit :
 Gingival hipertrofi:
 Periodontit :

G-CSF doz: µg/kg/gün

KİA tekrarı: Tarih

Morfoloji

Sitogenetik anomali (monozomi 7/ras/trizomi21)

Malign transformasyon (MDS/AML)

:

Osteopeni/osteoporoz: Yaş :

İlaç (kalsiyum/D vitamini):

Endokrinoloji :

Kök hücre nakli: Tarih :

Endikasyon :

Donör özellikleri :

Takipteki enfeksiyonlar: ÜS YE

cilt enfeksiyonları

lenfadenit

pnömoni

sepsis

osteomiyelit

diğer