

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

PEDİYATRİK BAŞLANGIÇLI İNFLAMATUAR
BAĞIRSAK HASTALIĞI OLGULARINDA MİKRODİZİN
VE TÜM EKZOM DİZİLEME ANALİZ VERİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Elif SARAÇ

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2024

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

PEDİYATRİK BAŞLANGIÇLI İNFLAMATUAR
BAĞIRSAK HASTALIĞI OLGULARINDA MİKRODİZİN
VE TÜM EKZOM DİZİLEME ANALİZ VERİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Elif SARAÇ

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Sinem KOCAGİL

ESKİŞEHİR
2024

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Pediatrik Başlangıçlı İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Olgularında Mikrodizin ve Tüm Ekzom Dizileme Analiz Verilerinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler T.C. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı tarafından, 27.02.2024 tarihinde, 15 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Elif Saraç

Tarih: 26/12/2024

İmza:

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Elif SARAÇ'a ait "Pediatrik Başlangıçlı İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Olgularında Mikrodizin ve Tüm Ekzom Dizileme Analiz Verilerinin Değerlendirilmesi" adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 26.12.2024

Jüri Başkanı Prof. Dr. Sevilhan ARTAN
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Üye Dr. Öğr. Üyesi Sinem KOCAGİL
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Zeren BARIŞ
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun/...../.....
Tarih ve/.... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Atilla Özcan ÖZDEMİR
Dekan

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi birikimi, rehberliği ve desteğiyle akademik gelişimime ve hekimlik sanatıma büyük katkılar sağlayan değerli danışmanım ve sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Sinem KOCAGİL'e; bilgi ve deneyimleriyle bana her zaman yol gösteren Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sevilhan ARTAN başta olmak üzere sayın hocalarım Prof. Dr. Beyhan DURAK ARAS, Doç. Dr. Oğuz ÇİLİNGİR ve Dr. Öğr. Üyesi Ebru ERZURUMLUOĞLU GÖKALP'e; değerli bilgileri ve önerileriyle çalışmama katkı sağlayan Doç. Dr. Zeren BARIŞ ve Doç. Dr. Yusuf AYDEMİR'e; birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çalışma arkadaşlarıma ve tüm Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na; bilgisi, anlayışı ve içtenliğini benden esirgemeyen sevgili uzmanlık yoldaşım ve arkadaşım Dr. Derya Hazal ÖZBAKIR'a; üniversite yıllarımdan bu yana Eskişehir'i benimle paylaşan, güzel ve zorlu her anımın ortağı canım dostum Dr. Sema IŞIKER'e; varlıkları ile bana güç veren, gönlüm ne vakit sıkışsa feraha çıkarmayı bilen sevgili annem Neriman SARAÇ ve sevgili babam Halit SARAÇ'a; en güçlü destekçilerim ve en dürüst eleştirmenlerim olan dört mevsim güvenli limanlarım Mehmet SARAÇ ve Ebru SARAÇ'a ve 2012 yılında amfi sıralarında Tıbbi Genetik uzmanı olmayı aklına koyan genç tıbbiyeliye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Saraç, E. Pediyatrik Başlangıçlı İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Olgularında Mikrodizin ve Tüm Ekzom Dizileme Analiz Verilerinin Değerlendirilmesi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2024 İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), gastrointestinal sistemin ataklar ile seyreden kronik inflamasyonu ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. İBH patogenezinde rol oynayan genetik faktörler çoğunlukla poligenik kalıtılmakla birlikte, özellikle çok erken başlangıçlı (0-6 yaş) veya atipik/agresif klinik bulgulara sahip İBH hastalarında monogenik hastalıklar tanımlanmıştır. Çalışmamızın amacı, pediyatrik başlangıçlı İBH patogenezinde rol alan monogenik nedenleri araştırmaktır. Çalışmaya, 2016-2023 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Çocuk Gastroenteroloji ve Hepatoloji Bölümü'nde İBH tanısı ile takip edilen 130 hastadan, erken başlangıçlı (0-10 yaş) İBH tanılı 16 ve atipik klinik bulguları, tedavi direnci veya ailede İBH öyküsü bulunan >10 yaş başlangıçlı İBH tanılı 6 hasta olmak üzere, toplam 22 hasta [13 kadın (%59,1), 9 erkek (%40,9)] dahil edildi. İBH başlangıç yaşı ortancası 7,5 yıldır (IQR 5-11,5). Olguların %45,5'inde (10/22) ülseratif kolit, %31,8'inde (7/22) sınıflandırılmayan İBH, %22,7'sinde (5/22) Crohn hastalığı vardı. Çalışmaya dahil edilen olguların tüm ekzom dizileme (TED) ve mikrodizin verileri analiz edildi. Çalışmamızdaki olguların %27,3'ünde (6/22) TED analizi ile İBH ilişkili monogenik hastalık saptandı. Üç olgu ailesel akdeniz ateşi, bir olgu CARMIL2 eksikliği, bir olgu XIAP eksikliği, bir olgu prolidaz eksikliği ve TACI eksikliği tanısı aldı. Sekiz olguda (%36,4) İBH ilişkili/aday genlerde İBH patogenezinin katkı sağlamış olabileceği düşünülen klinik önemi belirsiz varyantlar saptandı. Mikrodizin analizi ile klinik ile ilişkili olabilecek anlamlı kopya sayısı değişimi saptanmadı. Erken genetik tanı, prognoz hakkında değerli bilgiler ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesini sağlayarak pediatrik İBH hastalarının yönetimini iyileştirebilir. Çalışmamız, özellikle çok erken başlangıçlı veya agresif seyirli İBH hastalarında monogenik etiyolojiyi tanımlamada TED analizinin önemini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Monogenik inflamatuvar bağırsak hastalığı, immün disregülasyon, tüm ekzom dizileme, mikrodizin

ABSTRACT

Saraç, E. Evaluation of Microarray and Whole Exome Sequencing Analysis Data in Pediatric-Onset Inflammatory Bowel Disease Cases Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Medical Genetics, Eskişehir, 2024

Inflammatory bowel disease (IBD) is a multifactorial disease characterized by chronic, relapsing inflammation of the gastrointestinal tract. While genetic factors in IBD pathogenesis are mostly polygenic, monogenic diseases have been identified, particularly in patients with very early-onset IBD (0–6 years) or atypical/aggressive clinical presentations. This study aimed to investigate monogenic causes underlying pediatric-onset IBD. A total of 22 patients [13 female (59.1%) and 9 male (40.9%)] were included in the study among 130 IBD patients followed up in Eskişehir Osmangazi University Pediatric Gastroenterology and Hepatology Department between 2016-2023. Of these patients, 16 had early-onset IBD (0–10 years), and 6 had later (>10 years) onset with atypical clinical features, refractory disease or a family history of IBD. The median age of IBD onset was 7.5 years (IQR 5-11.5). Among the cases, 45,5% (10/22) were diagnosed with ulcerative colitis, 31,8% (7/22) with unclassified IBD, and 22,7% (5/22) with Crohn's disease. Whole exome sequencing (WES) and microarray data of all cases were analyzed. IBD related monogenic diseases were identified in 27,3% (6/22) of cases through WES analysis. Three cases were diagnosed with familial Mediterranean fever, one with CARMIL2 deficiency, one with XIAP deficiency, and one with prolidase deficiency and TACI deficiency. Variants of uncertain clinical significance in IBD-related or candidate genes, potentially contributing to IBD pathogenesis, were identified in eight cases (36,4%). No clinically relevant copy number variations were detected through microarray analysis. Early genetic diagnosis provides valuable prognostic insights and facilitates personalized therapeutic strategies, potentially improving the management of pediatric IBD patients. This study underscores the importance of WES analysis in identifying monogenic etiologies, particularly in patients with very early-onset or aggressive forms of IBD.

Key Words: Monogenic inflammatory bowel disease, immune dysregulation, whole exome sequencing, microarray

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLOLAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları	3
2.1.1. Tanım ve Sınıflama	3
2.1.2. Epidemiyoloji	8
2.1.3. Etiyopatogenez	9
2.1.4. Tedavi	17
2.2. Monogenik İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları	20
2.2.1. IL-10 Sinyalleme Bozukluğu	23
2.2.2. Fagositer Bozukluklar	23
2.2.3. Otoinflamatuvar ve Hiperinflamatuvar Hastalıklar	25
2.2.4. Lenfositler Defektleri	26
2.2.5. Epitel Bariyer Defektleri	27
2.3. Kılavuzlarda Genomik Test Endikasyonları	28
2.3.1. Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Koleji (ACMG) 2021	29
2.3.2. Kuzey Amerika Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği 2020	29
2.3.3. Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği, Pediatrik İBH Porto Grubu 2021	31
2.3.4. İngiliz Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği 2023	32

	Sayfa
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. Olgu Grubu	36
3.2. Moleküler Yöntemler	36
3.2.1. Tüm Ekzom Dizileme Verileri	36
3.2.2. Mikrodizin Verileri	41
3.3. İstatistiksel Analizler	43
4. BULGULAR	44
4.1. Tanımlayıcı Bulgular	44
4.2. Moleküler Bulgular	47
4.3. Olgular	52
5. TARTIŞMA	82
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	100
KAYNAKLAR	103

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACMG	Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Koleji (<i>American College of Medical Genetics and Genomics</i>)
AKİY	Ağır kombine immün yetmezlik
APC	Antijen sunan hücreler (<i>Antigen-presenting cell</i>)
CARD8	<i>Caspase recruitment domain family member 8</i>
CARD11	<i>Caspase recruitment domain family member 11</i>
CARMIL2	<i>Capping protein regulator and myosin 1 linker 2</i>
CH	Crohn hastalığı
ClinGen	Klinik genom kaynağı (<i>clinical genome resource</i>)
CNV	Kopya sayısı değişimi (<i>Copy number variation</i>)
ÇEB-İBH	Çok erken başlangıçlı inflamatuvar bağırsak hastalığı
dbSNP	Tek nükleotid polimorfizmi veritabanı (<i>Single nucleotide polymorphism database</i>)
DECIPHER	<i>Database of genomic variation and phenotype in humans using ensembl resources</i>
DGV	Genomik varyantların veritabanı (<i>Database of genomic variants</i>)
DN	Dominant negatif
EB-İBH	Erken başlangıçlı inflamatuvar bağırsak hastalığı
EBV	Epstein-Barr virüsü
ESPGHAN	Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği (<i>European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition</i>)
ExAC	<i>Exome Aggregation Consortium</i>
FMF	Ailevi Akdeniz Ateşi (<i>Familial Mediterranean Fever</i>)
gnomAD	<i>Genome Aggregation Database</i>
GoF	İşlev kazancı (<i>Gain of function</i>)
GRCh37	<i>Genome Reference Consortium Human Build 37</i>
GWAS	Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları

	<i>(Genome-Wide Association Studies)</i>
HGMD	İnsan Gen Mutasyon Veritabanı <i>(Human Gene Mutation Database)</i>
HGVS	İnsan Genom Varyasyon Topluluğu <i>(Human Genome Variation Society)</i>
HKHN	Hematopoietik kök hücre nakli
HLA	İnsan lökosit antijeni <i>(Human leucocyte antigen)</i>
HLH	Hemofagositik lenfositosis
IFIH1	<i>Interferon-induced helicase c domain-containing protein 1</i>
IFN	İnterferon
Ig	İmmünoglobulin
IGV	Entegre Genomik Görüntüleyici <i>(Integrative Genomics Viewer)</i>
IUIS	Uluslararası İmmünoloji Toplulukları Birliği <i>(International Union of Immunological Societies)</i>
İB-İBH	İnfantil başlangıçlı inflamatuvar bağırsak hastalığı
İBH	İnflamatuvar bağırsak hastalığı
İTP	İmmün trombositopeni
İVİG	İntravenöz İmmünglobulin
KGH	Kronik granülomatöz hastalık
LAD	Lökosit adezyon defekti
LOEUF	İşlev Kaybı Görülen/Tahmin Edilen Üst Sınır Oranı <i>(Loss-of-function observed / expected upper bound fraction)</i>
LoF	İşlev kaybı <i>(Loss of function)</i>
LOVD	Leiden Açık Varyasyon Veritabanı <i>(Leiden Open Variation Database)</i>
MDP	Muramil dipeptid
MEFV	<i>MEFV innate immunity regulator / pyrin</i>
MIM	İnsan Mendelyan Kalıtım Kataloğu <i>(Mendelian Inheritance in Men)</i>
MRCP	Manyetik rezonans kolanjiopankreatografi <i>(Magnetic resonance cholangio pancreatography)</i>

MRE	Manyetik rezonans enterografi
NASPGHAN	Kuzey Amerika Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği (<i>North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition</i>)
NFKB	Nükleer faktör kappa B
NGS	Yeni nesil dizileme (<i>Next-generation sequencing</i>)
NMD	<i>Nonsense mediated decay</i>
NLRP3	<i>NLR family pyrin domain containing 3</i>
NOD2	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain protein 2</i>
OD	Otozomal dominant
OP	Olası patojenik (<i>Likely pathogenic</i>)
OR	Otozomal resesif
P	Patojenik (<i>Pathogenic</i>)
PEPD	Prolidaz (<i>Peptidase D / Prolidase</i>)
PİBH	Pediyatrik inflamatuvar bağırsak hastalığı
PLCG2	<i>Phospholipase C gamma 2</i>
pLI	İşlev kaybına intolerans olasılığı (<i>Probability of being loss-of-function intolerant</i>)
PRR	Patern tanıma reseptörü (<i>Pattern recognition receptor</i>)
PCDAI	Pediyatrik Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi (<i>Pediatric Crohn's Disease Activity Index</i>)
pTriplo	Tahmini triploidi duyarlılığı olasılığı (<i>Predicted probability of triplosensitivity</i>)
PUCAI	Pediyatrik Ülseratif Kolit Aktivite İndeksi (<i>Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index</i>)
REVEL	<i>Rare exome variant ensemble learner</i>
RIPK2	<i>Receptor interacting serine/threonine kinase 2</i>
S-İBH	Sınıflandırılmayan inflamatuvar bağırsak hastalığı
SARM1	<i>Sterile alpha and TIR motif containing 1</i>
SNP	Tek nükleotid polimorfizm (<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>)
TACI	<i>Transmembrane activator and CAML interactor</i>
TED	Tüm Ekzom Dizileme

TGFβ1	<i>Transforming growth factor beta 1</i>
Th	Yardımcı T hücresi (<i>Helper T cell</i>)
TLR	<i>Toll like receptor</i>
TNF	Tümör nekroz faktörü
TNFRSF13B	<i>Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily Member 13B</i>
Treg	Düzenleyici T (<i>Regulatory T cell</i>)
UDCA	Ursodeoksikolik asit (<i>Ursodeoxycholic acid</i>)
UniProt	Evrensel Protein Kaynağı (<i>Universal Protein Resource</i>)
ÜK	Ülseratif kolit
VUS	Önemi belirsiz varyant (<i>Variant of unknown significance</i>)
WES	Tüm ekzom dizileme (<i>Whole exome sequencing</i>)
WGS	Tüm genom dizileme (<i>Whole genome sequencing</i>)
XIAP	<i>X-linked inhibitor of apoptosis protein</i>
XLR	X'e bağlı resesif (<i>X-linked recessive</i>)
YDİY	Yaygın değişken immün yetmezlik

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. İnflamatuvar bağırsak hastalığı şüpheli pediyatrik olgular için değerlendirme algoritması	4
4.1. Olguların inflamatuvar bağırsak hastalığı başlangıç yaşına göre dağılımı	44
4.2. Kohort özelliklerinin yüzdelik oranları	45
4.3. Özelliklerine göre monogenik hastalık saptanan olgu sayıları	51
4.4. O1 pedigri	53
4.5. O1 varyantlarının IGV görüntüsü	54
4.6. O2 pedigri	55
4.7. O2 varyantlarının IGV görüntüsü	56
4.8. O3 pedigri	56
4.9. O3 varyantının IGV görüntüsü	57
4.10. O4 pedigri	58
4.11. O4 varyantının IGV görüntüsü	59
4.12. O5 pedigri	60
4.13. O5 varyantının IGV görüntüsü	61
4.14. O6 pedigri	62
4.15. O7 pedigri	63
4.16. O7 varyantlarının IGV görüntüsü	64
4.17. O8 pedigri	65
4.18. O9 ve O17 pedigri	65
4.19. O10 pedigri	66
4.20. O11 pedigri	67
4.21. O11 varyantlarının IGV görüntüsü	67
4.22. O12 pedigri	69
4.23. O13 pedigri	70
4.24. O14 pedigri	70
4.25. O15 pedigri	71
4.26. O15 varyantlarının IGV görüntüsü	72
4.27. O16 pedigri	74

	Sayfa
4.28. O16 varyantının IGV görüntüsü	74
4.29. O18 pedigri	75
4.30. O19 pedigri	76
4.31. O19 varyantının IGV görüntüsü	77
4.32. O20 pedigri	78
4.33. O20 varyantlarının IGV görüntüsü	79
4.34. O21 pedigri	80
4.35. O22 pedigri	81
5.1. SARM1 proteininin AlphaFold aracı ile görselleştirilen tahmini üç boyutlu yapısı	98



TABLOLAR

	Sayfa
2.1. İnflamatuvar bağırsak hastalığı için çevresel faktörlere ilişkin epidemiyolojik kanıtların gücü	10
2.2. Pediyatrik Ülseratif Kolit Aktivite İndeksi (PUCAI)	17
2.3. Pediyatrik Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi (PCDAI)	18
2.4. Monogenik gen defektlerinin penetransa göre sınıflandırılması	21
2.5. Kantitatif entegre taksonomi ile sınıflandırılan monogenik İBH genleri	22
2.6. NASPGHAN kılavuzunda ÇEB-İBH için tanımlanan genler	30
2.7. ESPGHAN kılavuzunda tanımlanan monogenik İBH genleri	32
3.1. Patojenik etkiyi destekleyen ACMG kriterleri	38
3.2. Benign etkiyi destekleyen ACMG kriterler	39
3.3. ACMG varyant puanlama tablosu	40
4.1. Olguların demografik bulguları ve tanıları	44
4.2. Olguların klinik bulguları ve tedavileri	46
4.3. İBH ilişkili genlerde saptanan patojenik ve olası patojenik varyantlar	47
4.4. Olgularda saptanan hastalıkların IUIS sınıflandırılması	48
4.5. İBH ilişkili genlerde saptanan klinik önemi belirsiz varyantlar	49
4.6. Klinik önemi bilinmeyen aday gende saptanan varyantın ayrıntıları	51
4.7. O1 varyant tablosu	53
4.8. O2 varyant tablosu	55
4.9. O3 varyant tablosu	57
4.10. O4 varyant tablosu	59
4.11. O5 varyant tablosu	61
4.12. O7 varyant tablosu	63
4.13. O11 varyant tablosu	68
4.14. O15 varyant tablosu	72
4.15. O16 varyant tablosu	74
4.16. O19 varyant tablosu	77
4.17. O20 varyant tablosu	79
5.1. Literatürde bildirilen İBH ve benzeri fenotipli prolidaz eksikliği olguları	83

5.2. *MEFV* geninde varyant tanımlanan olgular

1. GİRİŞ

İnflamatuar bağırsak hastalığı (İBH), gastrointestinal sistemin tekrarlayan kronik inflamasyonu ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. İBH'nin, genetik yatkınlığı bulunan bireylerde, çevresel faktörlerin tetiklediği ve bağırsak epiteli ve mikrobiyotasına yönelik anormal bağışıklık tepkilerinin yol açtığı karmaşık bir inflamatuvar süreç sonucunda geliştiği düşünülmektedir (1).

Genetik faktörlerin poligenik kalıtımla İBH duyarlılığına katkıda bulunduğu çok sayıda hayvan modeli ve genom çapında ilişkilendirme çalışmaları [*Genome-Wide Association Studies* (GWAS)] ile gösterilmiştir (2,3). 2010 yılından itibaren yeni nesil dizileme (*Next generation sequencing*) ve tüm ekzom dizileme (*Whole exome sequencing*) yöntemlerinin kullanımının yaygınlaşması ile, özellikle altı yaşından önce başlayan çok erken başlangıçlı İBH (ÇEB-İBH) olgularında ve tedaviye dirençli ve şiddetli hastalık seyri gösteren olgularda birçok gende nadir varyantlar tanımlanarak monogenik hastalıkların İBH patogenezinde rolü aydınlatılmaya başlanmıştır (4–6). Monogenik İBH ilişkili genleri içeren kopya sayısı değişimleri nadir de olsa tanımlanmıştır (7). Günümüzde çoğu immün disregülasyon, primer immün yetmezlikler, otoinflamatuar hastalıklar ve epitel bariyer defektlerine neden olan 100’ü aşkın gen monogenik İBH ile ilişkili olarak tanımlanmaktadır (8).

Monogenik İBH'li hastaların çoğunun çok erken başlangıçlı İBH tanılı olması nedeni ile başlangıç yaşı, monogenik İBH olasılığının önemli bir öngörücüsü olarak kabul edilmekle birlikte, çok sayıda gen defektli İBH başlangıcı 6 yaşından sonra olan hastalarda da bildirilmektedir. Akrabalık, ailede yaygın otoimmün hastalık veya monogenik hastalık öyküsü, monogenik İBH ile ilişkilendirilmektedir. Tekrarlayan enfeksiyonlar, hemofagositik lenfhistiyositoz (HLH), malignite öyküsü, bazı otoimmün hastalıklar ve dermatolojik bulgular, monogenik İBH ile ilişkilendirilen komorbiditeler ve ekstraintesinal bulgulardandır (9).

Bu çalışma ile, pediatrik İBH tanılı hastaların monogenik nedenler açısından araştırılması ve İBH ile ilişkili veya aday genlerdeki varyantlar belirlenerek patogeneizde rol oynayabilecek gen defektlerinin saptanması amaçlanmaktadır. Altta yatan genetik etiolojinin aydınlatılması ile, monogenik İBH patogenezinin daha iyi anlaşılması, değerli prognostik bilgiler sağlayarak (örn. enfeksiyon yatkınlığı, HLH

riski, malignite riski) hasta yönetiminin iyileştirilmesi ve hedefe yönelik biyolojik ajanlar, allojenik hematopoietik kök hücre nakli gibi kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin önünün açılması hedeflemektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları

2.1.1. Tanım ve Sınıflama

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları, gastrointestinal sistemin ataklar halinde seyreden kronik inflamasyonu ile karakterize multifaktöriyel ve multisistemik hastalıklardır. İBH, ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH) olarak iki fenotipik formu olmakla birlikte hastalığın yerleşimi, kapsamı, davranışı, şiddeti, tedavi yanıtı ve ekstraintestinal bulgular gibi fenotipik özellikleri çok fazla çeşitlilik gösteren bir kronik bağırsak inflamasyonu spektrumunu oluşturmaktadır (10). ÜK, rektumdan başlayarak proksimale doğru yaygın bir kolonik tutulum gösterir. CH, ağızdan anüse kadar tüm gastrointestinal sistemi segmenter ve transmural tarzda tutar (11). Hastaların %5-%13'ü, klinik veya histolojik özellikleri ile bu iki gruba da dahil edilemez ve sınıflandırılmayan İBH (S-İBH) olarak adlandırılır (12,13).

1998 yılında CH için ortaya konulan Viyana sınıflaması, hastalığın semptomların başlangıç yaşı, hastalığın tutulum bölgesi ve davranış paterni olmak üzere üç başlıkta değerlendirilmektedir. Kompleks ve izole tutulum ayrımında, perianal hastalık değerlendirmedeki kısıtlılıkları ve yaş kriteri ile hastaların 40 yaş altı ve üstü olmak üzere iki sınıfa ayrılması nedeni ile çocukluk çağı hastalarının sınıflandırılmasında kullanımı sınırlıdır (14). 2005 yılında ortaya konan Montreal sınıflamasında hastalar yaşa göre üç kategoride [<17 yaş (A1), 17-40 yaş (A2), >40 yaş (A3)] değerlendirilmektedir ve üst GİS hastalığı, ileokolik ve kolonik tutulumdan; perianal hastalık ise penetran hastalık davranışından bağımsız kategoriler olarak sınıflandırılmaktadır. Montreal sınıflaması ayrıca ÜK için fenotipik bir sınıflandırmayı içerir ve S-İBH grubunun tanımlanması için önerilerde bulunur (15).

2009 yılında Montreal sınıflaması modifiye edilerek oluşturulan Paris sınıflamasında, pediyatrik yaş grubu (A1), A1a (0-10 yaş) ve A1b (10-17 yaş) olarak iki gruba ayrılmıştır (16). PİBH, yaşa göre değişen klinik seyir ve özelliklerin belirlenmesi, özgül tedavi ve yönetim yaklaşımlarının geliştirilmesi amacı ile pediyatrik İBH (<17 yaş, PİBH), erken başlangıçlı İBH (0-10 yaş, EB-İBH), çok erken başlangıçlı İBH (0-6 yaş, ÇEB-İBH), infantil İBH (0-2 yaş), neonatal İBH (ilk 28 gün) olarak gruplandırılmaktadır (17). PİBH tanısı için 2005 yılında Avrupa Pediyatrik

kendiliğinden düzelebileceği gibi, farklı şiddetlerde tekrarlayabilir. Etkilenen bireylerde bağırsak inflamasyonu bulgularının yanı sıra ateş ve halsizlik gibi sistemik inflamasyon bulguları ve birçok farklı organı tutan ekstraintestinal bulgular görülebilir. Ekstraintestinal bulgular arasında cilt (eritema nodosum, piyoderma gangrenosum), karaciğer (primer sklerozan kolanjit, otoimmün hepatit), göz (episklerit, üveit), kas-iskelet sistemi (artrit, osteopeni, osteoporoz, ankilozan spondilit) tutulumu, anemi ve venöz tromboembolizm gibi hematolojik bulgular sayılabilir (20).

Fizik muayenede, dehidratasyon veya anemiye bağlı taşikardi görülebilir. Büyüme parametrelerinde yavaşlama, kilo kaybı veya boy kısalığı olabilir. Aftöz stomatit ve keilit gibi oral bulgular yaygındır. Cilt ve göz muayenesi ekstraintestinal bulgular açısından değerlidir. Karın muayenesinde, inspeksiyon, şüpheli kısmi ince bağırsak tıkanıklığı açısından distansiyonu değerlendirmek için önemlidir. Palpasyon ile saptanan hassasiyetin lokalizasyonu etkilenen bağırsak segmentlerini gösterebilir. Hassasiyet sağ alt kadranda ise terminal ileum tutulumu, epigastrik/periumbilikal ve sol alt kadranda ise kolit ile uyumlu değerlendirilebilir. Hepatobiliyer hastalık ve hepatomegali palpasyon ve perküsyon ile değerlendirilebilir. Apse ve fistüllerin tanımlanması açısından perianal muayene önemlidir. Artralji ve artriti ayırt etmek için bir eklem muayenesi yapılmalıdır. Puberte gecikmesi şüphesinde bulgular pubertal gelişim ölçekleri ile derecelendirilmelidir (21).

Tanısal Değerlendirme

İBH ön tanılı bir çocukta ilk değerlendirme, kan ve gaitadan çalışılan testleri içerir. Kanda çalışılan tam kan sayımı, karaciğer fonksiyon testleri, C-reaktif protein, eritrosit sedimentasyon hızı ve temel metabolik panel; gaitada ise gizli kan ve bir inflamasyon belirteci olan fekal kalprotektin standarttır. Çölyak hastalığı ve enfeksiyöz gastroenteritler gibi ayırıcı tanılar açısından tetkikleri yapılmalıdır.

İBH tanısı için altın standart, biyopsi ile birlikte ileokolonoskopi ve üst gastrointestinal endoskopidir. İleokolonoskopi, terminal ileum tutulumunu göstererek CH'nin ÜK'den ayırt edilmesini sağlayabilir. Terminal ileum yerleşimli eritem, konjesyon, ülserler, eksüdatlar ve/veya stenozlar ile kolondaki derin ve kesintili ülserler CH ile uyumludur. Rektumdan başlayan ve proksimale doğru kolonda

kesintisiz ilerleyen eritem, konjesyon, ülserler ve eksüdatlar ÜK ile uyumludur ve bazen inflame bağırsak ile sağlıklı bağırsak arasında keskin bir ayrım (demarkasyon) vardır. Histolojik değerlendirme için hem tutulumun izlendiği bölgelerden hem de sağlıklı görünen bölgelerden rastgele biyopsi alınması önerilir. Karakteristik lezyonların varlığında histopatolojik olarak hem aktif hem de kronik inflamasyon bulguları gösteren doku örnekleri İBH tanısı ile uyumludur. Üst gastrointestinal endoskopi, CH açısından üst gastrointestinal tutulumu ve ayırıcı tanıda yer alan çölyak hastalığı ve eozinofilik hastalık gibi hastalıkları değerlendirmek amacı ile yapılabilir.

Endoskopi ve ileokolonoskopi ile görüntülenemeyen bağırsak tutulumunu değerlendirmek ve penetran veya daraltıcı (striktürel) hastalık varlığını belirlemek amacı ile çeşitli görüntüleme yöntemleri kullanılır. Karın ve pelvisin görüntülenmesini sağlayan manyetik rezonans enterografinin (MRE), uzun süre hareketsizlik gerektiren bir çalışma olması nedeni ile küçük çocuklarda kullanımı sınırlıdır. Abdominal bilgisayarlı tomografiden yüksek radyasyon maruziyeti aciliyet olmadığı sürece kaçınılmalıdır. Diğer görüntüleme yöntemlerine ulaşamadığında ultrasonografi yararlı bilgiler sağlayabilir. Eşlik eden ekstraintestinal bulguları açısından hastalar ilgili bölümler tarafından değerlendirilebilir. Altı yaşından önce tanı alan çocuklarda altta yatan immün yetmezlikten şüphelenilmesi halinde immünolojik değerlendirme önerilir (20,21).

Ülseratif Kolit

Anatomik yerleşim ve yayılım: Ülseratif kolitte inflamasyon genellikle rektumda başlar ve sürekli bir tutulum gösterirerek kolon boyunca proksimale doğru ilerler. Sadece rektumun etkilenimi ülseratif proktit; splenik fleksür distalinin tutulumu sol taraflı kolit; hepatik fleksür distalinin tutulumu yaygın (ekstensif) kolit; hepatik fleksür proksimalini içeren kolorektal tutulum ise pankolit olarak adlandırılır (16).

Makroskobik ve mikroskobik bulgular: İnflame ve normal doku arasında net bir sınır vardır. İnflamasyonun şiddetine göre mukozada diffüz eritem ve damarsal görünümün kaybı, granülarite, mukozal frajilite, yüzeysel veya derin ülserler, eksudasyon ve psödopolipler görülebilir. Şiddetli kolitte mukozal görünüm Crohn hastalığına benzeyebilir ve bu da ayrımı zorlaştırır. Histopatolojik bulgular bozulmuş

mukozal yapı ve mukozaya sınırlı inflamatuvar infiltrasyonla karakterizdir. Bazal plazmasitozlu diffüz transmukozal inflamatuvar infiltrat (lenfositler, plazma hücreleri ve nötrofiller), kript mimarisinde yaygın bozulmaya, kriptit ve kript apselerine neden olur. Şiddetli tutulumda, muskularis propriaya kadar ilerleyen ülserler görülebilir. Kronik özellikler arasında Paneth hücre metaplazisi, inflamatuvar psödopolipler, muskularis mukoza hipertrofisi ve nadiren submukozal fibrozis sayılabilir. Rüptüre kriptler veya müsin ekstrasvazasyonuna sekonder gelişenler dışında granülom izlenmez (22).

Klinik bulgular: ÜK'nin en tipik bulgusu kanlı ve mukuslu kronik ishaldir ancak kanama bazen makroskobik olmayıp gaitada gizli kan pozitifliği şeklinde görülebilir. Buna özellikle dışkılama sırasında olan karın ağrısı eşlik eder. Karın ağrısının yeri kolorektal tutulumunun yayılımına bağlı değişkenlik gösterir. Hastalarda tenesmus, gece dışkılaması ve nadiren paradoksal kabızlık görülür. Pankolit çocuk hastalarda daha sık görülmektedir. Ateş, kilo kaybı ve anemi gibi sistemik bulgular özellikle şiddetli kolit ile ortaya çıkabilir. ÜK'lı hastaların yaklaşık üçte birinde ekstraintestinal belirtiler görülebilir ve hastaların %25'inde bu belirtiler İBH tanısından önce ortaya çıkmaktadır. En yaygın ekstraintestinal bulgu periferik artrit olmakla birlikte primer sklerozan kolanjit ve piyoderma gangrenosum ülseratif kolit hastalarında CH'ye göre daha yaygındır (23).

Crohn Hastalığı

Anatomik yerleşim ve yayılım: CH, ağızdan anüse kadar tüm gastrointestinal sistemini atlamalı olarak tutar. Genellikle terminal ileum ve proksimal kolon tutulur. Olguların %20'sinde izole kolonik tutulum görülmektedir.

Makroskobik ve mikroskobik bulgular: Crohn hastalığında, bağırsağın düzensiz, segmental ve transmural kronik inflamasyonu sonucu bağırsak duvarı ve mezenterde kalınlaşma ve lümende daralmaya neden olur. Longitudinal yayılım gösteren aftöz ülserler ve komşu organlara, inflamatuvar kitlelere veya perianal cilt ve cilt altına açılan fistüller görülür. Sağlam kalan mukoza alanları ve lezyonların oluşturduğu kaldırım taşı görünümü CH için karakteristiktir. Lamina propriada fokal kronik lenfoplazmositer infiltrasyon, kript düzensizliği (distorsiyon, dallanma,

kısalma) ve epiteloid histiyositlerde oluşan granülomlar tipik histopatolojik bulgularıdır (22).

Klinik bulgular: CH tipik olarak karın ağrısı, ishal, kilo kaybı ve iştahsızlık gibi semptomlarla ortaya çıkar. Olgularda hastalığın seyrinde çeşitli perianal hastalık bulguları (cilt katlantısı, fissür, fistül, apse) ve striktürler gelişebilir. Çocuklarda lineer büyümenin bozulması ve buna bağlı cinsel gelişimde gecikme, gastrointestinal semptomlarının başlangıcından önce ortaya çıkabilir (24). Hastaların yaklaşık yarısında, çoğunlukla eklem, cilt (eritema nodozum, piyoderma gangrenozum) ve göz bulguları olmak üzere ekstraintestinal bulgular görülebilir (25).

2.1.2. Epidemiyoloji

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları ilk olarak sanayi devriminin başladığı 18. yüzyılın sonlarına doğru, Batı Avrupa ve Kuzey Amerika'da tanımlanmaya başlanmıştır. Hem pediatrik hem de erişkin başlangıçlı İBH'nin insidansı ve prevalansı yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren belirgin şekilde artmıştır. İBH dünya çapında yaklaşık 7 milyon kişiyi etkilemektedir (26). Asya, Güney Amerika ve Afrika'daki yeni sanayileşmiş ve gelişmekte olan ülkelerde İBH insidansında artışlar görülürken son yıllarda Batı Avrupa, Kuzey Amerika ve Okyanusya'da İBH insidansın sabitlendiği, ancak pediatrik İBH insidansının artmaya devam ettiği görülmektedir (27). Hastalığın insidansı çoğu epidemiyolojik çalışmada 15-30 yaşlarda belirgin artış göstermekle birlikte bazı kohortlarda 50-70 yaşlarda daha az belirgin ikinci bir artış gösteren bimodal patern izlenmektedir (28).

İBH bulguları, hastaların yaklaşık %25'inde 20 yaşından önce; çocukların yaklaşık %20'sinde 10 yaşından önce, %5'inde ise 5 yaşından önce ortaya çıkmaktadır (27). Farklı toplum çalışmalarında pediatrik İBH insidansı 0,49-41,5/100.000, prevalansı ise 3,6-373/100.000 aralığında bildirilmektedir. İnsidans ve prevalans değerlerinin değişkenliği bu çalışmaların yapıldığı toplumların özellikleri, coğrafi bölge ve araştırma metodolojisi gibi faktörlere bağlı olabilir (29).

Batı ülkelerinde, CH gelişme riski puberte öncesinde erkeklerde, puberte sonrası ise kadınlarda daha yüksektir. ÜK'nin görülme sıklığı 45 yaşından önce her iki cinsiyet için benzerdir, ancak 45 yaşından sonra ÜK görülme sıklığı erkeklerde artış göstermektedir. Asya-Pasifik ülkelerinde yapılan çalışmalarda ise CH ve ÜH için

puberteden sonrası ile 50 ve 65 yaşlarına kadar devam eden erkek predominansı olduğu ifade edilmiştir (30).

Türkiye'de İBH epidemiyolojisini değerlendiren bir çalışmada, hastalığın 20-30 yaş ve 50-70 yaş aralığında zirve yaparak bimodal dağılım gösterdiği ve insidansın Kuzey ve Batı Avrupa toplumlarından daha düşük, Ortadoğu'ya daha yakın olduğu ifade edilmiştir. ÜK'nin doğu bölgelerinde, CH'nin ise Marmara bölgesinde daha sık görüldüğü ve her iki hastalıkta da erkek predominansının gözlemlendiği bildirilmiştir. CH ve ÜK tanılı hastalarda aile öyküsünün sonrası ile %8,1 ve %4,4 oranında olduğu belirtilmiştir. (31)

İBH'nin genetik temelleri, hastalık yaygınlığındaki etnik ve ırksal farklılıklarla desteklenmektedir. Beyaz ırkın siyah ırka göre daha yüksek prevalansa sahip olduğu ve Yahudi toplumlarda İBH riskinin diğer toplumlara göre üç kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (28). Irklar arasında İBH'nin fenotipik farklılıklarına yönelik yapılan bir çalışmada, CH'nin Afrikalı Amerikalılar ve beyaz ırk toplumlarında, ÜK'nin ise Meksikalı Amerikalılar arasında baskın olduğu bildirilmiştir. Crohn hastaları arasında, artrit ve üveit geliştirme olasılığının siyah ırkta beyaz ırka göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (32). Öte yandan ırklar ve etnik gruplar arasında, hastalığın tutulum yeri, davranışı, üst gastrointestinal sistem tutulumu, perianal tutulum ve ekstraintestinal bulgularda önemli bir fark olmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (33).

2.1.3. Etiyopatogenez

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının, genetik olarak duyarlı bireylerde, çevresel faktörlerin de etkisi ile bağırsak epiteli ve florasına karşı anormal bağışıklık tepkilerinin oluşturduğu düzensiz bir inflamatuvar kaskad sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (1).

Çevresel Faktörler

İBH için koruyucu veya risk faktörü olarak değerlendirilen çevresel faktörler birçok epidemiyolojik çalışma ile ortaya konmuştur ancak bu faktörlerin İBH patogenezindeki mekanizmaları henüz aydınlatılamamıştır. İBH gelişimini etkileyen önemli çevresel faktörlerden biri gıda alımıdır. Crohn hastalığı için meyve ve sebze tüketiminin koruyucu, yağ ve şeker açısından zengin gıda tüketiminin ise risk faktörü

olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Sigara kullanımı, ÜK için koruyucu olduğunu ve Crohn hastalığını kötüleştirdiğine. Yardımcı T hücre (Th2) işlevi üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olan nikotinin, bağışıklık tepkilerini etkilediği, kolon mukus üretimini desteklediği, otofajiyi bozduğu gösterilmiştir (3).

Tablo 2.1. İnflamatuvar bağırsak hastalığı için çevresel faktörlere ilişkin epidemiyolojik kanıtların gücü

		Crohn hastalığı	Ülseratif kolit	İnflamatuvar bağırsak hastalığı
Risk faktörleri	Orta/Yüksek	Sigara içmek, kentsel yaşam, apendektomi, tonsilektomi	Meşrubat tüketimi	Kentsel yaşam, antibiyotikler, D vitamini eksikliği, non-HPL-EHS, OKS kullanımı (y)
	Zayıf	Sezeryan doğum, antibiyotikler, OKS kullanımı, sükroz, laktoz sindirim problemleri, D vitamini eksikliği, EHT, MAP, sitomegalovirüs, polio aşısı	Kentsel yaşam, sükroz, et, D vitamini eksikliği, B2 E Coli, polio aşısı	Laktoz sindirim problemleri, et, <i>Campylobacter</i> türleri, <i>Helicobacter</i> türleri, B2 E Coli, sitomegalovirüs
Koruyucu faktörler	Orta/yüksek	Fiziksel aktivite (y), yatak paylaşımı, yüksek D vitamini seviyeleri, <i>H pylori</i>	Çay (y), <i>H. pylori</i>	Anne sütü, yüksek folat seviyeleri, <i>H. pylori</i>
	Zayıf	Emzirme, çiftlik hayvanları, ev paylaşımı, evcil hayvan, 2'den fazla kardeş, VKİ, lifli yiyecek, meyve, A, K, E vitamini yüksekliği, <i>F. prausnitzii</i>	Sigara içmek, anne sütü, sıcak su erişimi ve kişisel tuvalet, yatak paylaşımı, çiftlik hayvanı, evcil hayvan, apendektomi, sebze, meyve, yüksek folat, D ve A vitamini seviyeleri, <i>F. prausnitzii</i>	Kişisel tuvalet, yatak paylaşımı, çiftlik hayvanları, ev paylaşımı, evcil hayvan, <i>F. prausnitzii</i>

EHT, enterohepatik *Helicobacter* türleri; MAP, *M avium paratuberculosis*; non HPL-EHS, *Helicobacter pylori* benzeri olmayan enterohepatik *Helicobacter* türleri; OKS, oral kontraseptif; VKİ, vücut kitle indeksi; (y), yüksek seviyede epidemiyolojik bulgu

Piovani ve arkadaşlarının 2019 tarihli meta-analiz çalışmasından uyarlanmıştır (34).

Yaşam tarzı ve çevresel maruziyetler açısından mevcut meta-analizleri değerlendiren bir şemsiye incelemede birçok parametre risk faktörü veya koruyucu faktör olarak farklı kanıt düzeylerinde (Tablo 2.1.) İBH ile ilişkilendirilmiştir. Dokuz risk faktörünün (sigara içme, kentsel yaşam, apendektomi, tonsillektomi, antibiyotik kullanımı, oral kontraseptifler, meşrubat tüketimi, D vitamini eksikliği, *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) benzeri olmayan enterohepatik *Helicobacter* türleri) ve 7 koruyucu faktörün (fiziksel aktivite, anne sütü alımı, yatak paylaşımı, çay tüketimi, yüksek folat düzeyleri, yüksek D vitamini düzeyleri, *H. pylori*) orta/yüksek düzeyde epidemiyolojik kanıt gösterdiği ifade edilmiştir (34).

Bağırsak Mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası, konakçı ile simbiyotik olarak etkileşime girerek besin metabolizmasını, bağışıklığı ve bağırsak epitel bütünlüğünü destekleyen kompleks ve çeşitli bir mikroorganizma topluluğudur. Disbiyoz olarak adlandırılan bağırsak mikrobiyotasının bileşimindeki ve işlevindeki bozulmalar, inflamatuvar bağırsak hastalıkları da dahil olmak üzere çeşitli gastrointestinal ve sistemik hastalıkların gelişiminde rol oynamaktadır. İBH'li hastalarda bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı bireylere kıyasla daha az mikrobiyal çeşitlilik ve değişmiş mikrobiyal topluluk yapısı sergilediği gösterilmiştir (35). İBH'lı hastalarda *Faecalibacterium prausnitzii* gibi faydalı bakterilerde azalma ve yapışkan-invaziv (*adherent-invasive*) *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* gibi patojenik mikroplarda artış sonucu değişen mikrobiyal ortam, kronik inflamasyona yol açan bağışıklık düzensizliğini tetikler. Disbiyozun, bağırsak mikrobiyotasının ürettiği anti-inflamatuvar etkileri olan bütirat, asetat ve propionat gibi kısa zincirli yağ asitleri gibi metabolitlerin azalmasına, bağırsak geçirgenliğinin artmasına, mikrobiyal antijenlerin lamina propriaya ulaşmasına, toll benzeri reseptörler (TLR'ler) ve nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı (NOD) reseptörleri gibi patern tanıma reseptörlerinin (PRR'ler) bağışıklık hücrelerinde aktifleşmesine ve proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına yol açarak inflamasyona ortam oluşturduğu düşünülmektedir (36,37).

Genetik Faktörler

Aile çalışmaları ile Crohn hastalığı veya ülseratif kolitli bireylerin %5-30'unun İBH açısından aile öyküsü bildirdiği ve bu ilişkinin Crohn hastalığı için daha güçlü

olduğu gösterdiği gözlemlenmiştir (38). Etkilenen bireylerin akrabaları genellikle İBH tipi ve hastalığın tutulum yeri açısından uyumlu olmakla birlikte hastalığın şiddeti, aile üyeleri arasında farklılıklar gösterebilmektedir. Ayrıca, ailesinde İBH öyküsü olan hastaların, aile öyküsü olmayanlara göre daha erken yaşta hastalığa yakalanma olasılığı daha yüksektir (39). Birinci derece akrabalar, özellikle kardeşler, en yüksek riske sahiptir; Crohn hastalığı için 13-26, ülseratif kolit için 7-17 göreceli risk (RR) vardır (40). Etkilenen ebeveynlerin çocuklarında İBH riski %6,2-9,2'dir ve her iki ebeveyn de etkilendiğinde risk 28 yaşına kadar %33'e çıkmaktadır (40,41).

Crohn hastalığı ve ülseratif kolitin, patogenezinde genetik ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık etkileşimi ortaya çıkarmak için yürütülen kapsamlı araştırmalardan biri de ikiz çalışmalarıdır. Dizigotik ikizlere kıyasla monozigotik ikizlerde gözlenen daha yüksek konkordans oranlarıyla kanıtlandığı üzere genetik faktörler inflamatuvar bağırsak hastalığına yatkınlıkta önemli bir rol oynamaktadır. Monozigotik ikizlerde Crohn hastalığı için konkordans oranı %30-35 iken, ülseratif kolit için bu oran yaklaşık %10-15'tir ve bu da genetik olmayan faktörlerin ÜK gelişiminde daha önemli bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir (42)

İBH'de rol oynayan genetik faktörler karmaşıktır ve her bağımsız varyantla ilişkili kesin patofizyolojik katkıyı tanımlamak zordur ancak her biri küçük bir etki büyüklüğüne sahip olan birçok polimorfizmin toplu olarak hastalık riskine katkıda bulunduğu giderek daha iyi anlaşılmaktadır (2). 1996 yılında Crohn hastalığı ile kromozom 16'nın perisentromerik bölgesi arasındaki genetik bağlantının tanımlanması ve 2001 yılında bu bölgede yer alan *NOD2* genindeki belirli polimorfizmlerin keşfi, bu kompleks hastalık grubunun poligenik doğasının aydınlatılması için yeni bir çağ başlatmıştır (43). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) ile genomun 240 bağımsız bölgesindeki varyantların hastalığa yatkınlığa katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Hem pediatrik hem de erişkin başlangıçlı İBH olgularında tanımlanan bu bölgelerde bulunan birçok gen, mikroorganizmalara karşı hem doğal hem de edinilmiş bağışıklık tepkisini içeren konak savunmasının düzenlenmesinde kritik öneme sahiptir (2). GWAS çalışmaları, epitel bariyer fonksiyonu, doğal ve edinsel bağışıklık sistemi, immün regülasyon, hücre göçü, otofaji ve hücrel homeostazla ilişkili metabolik yollar gibi çeşitli yolların bağırsak homeostazının korunmasında önemli roller oynadığını göstermektedir (3).

Özellikle terminal ileal Paneth hücrelerinde, granülositlerde, dendritik hücrelerde ve T lenfositlerde ifade edilen *NOD2* geni, bakteriyel peptidoglikan muramil dipeptidi (MDP) tanıyan bir hücre içi mikrobiyal sensörü kodlar. Bu reseptör, bakteriyel algılama üzerine adaptör proteinleri harekete geçiren aktif bir oligomer oluşturur ve nükleer faktör kappa B (NFkB) aktivasyonu, NLRP3 inflamazomu aracılığıyla proinflamatuvar sinyalleme ve *ATG16L1* aracılığıyla otofaji indüksiyonuyla sonuçlanan bir aşağı akış sinyal kaskadı başlatılır (44). CH ilişkili *NOD2* varyantları sonucunda *NOD2* aktivasyonunun bu aşağı akış etkileri değişken bir şekilde bozulur, alternatif inflamatuvar yollar aktive edilir ve hastalarda bakterilere karşı anormal bağışıklık tepkisi, disbiyozis ve kronik inflamasyon ortaya çıkar. *NOD2* genindeki *nonsense* varyantlar *NOD2* transkripsiyonu veya lokalizasyonunu bozarken, G908R ve L1007fs gibi lösün bakımından zengin tekrar (LRR) domaini varyantları, MDP'nin kusurlu bağlanmasına neden olarak *NOD2* oligomerizasyonunu ve aşağı akış sinyalleme önlemektedir. NOD alanında yer alan varyantlar doğrudan kusurlu oligomerizasyona neden olabilmektedir. CARD alanı varyantları RIPK2'nin aktif *NOD2* ile ilişkisini azaltırken, bazı *NOD2* varyantları *ATG16L1*'nin indüklediği otofajinin bozulmasına neden olmaktadır (45).

Birçok GWAS ve meta-analiz ile en iyi tanımlanan ve en sık bildirilen üç *NOD2* varyantının (R702W, G908R ve L1007fs) protein fonksiyonu ve sinyalizasyon üzerindeki etkileri, NFkB aktivasyonunda azalma ve lipopolisakkarit ve peptidoglikan uyarımına azalmış yanıtları gösteren birçok çalışma ile gösterilmiştir (44,45). Bu üç varyant, hastalığa neden olan *NOD2* varyantlarının %80'inden fazlasını oluşturmaktadır ve bu varyantlardan birini heterozigot taşıyan bireylerde CH geliştirme riski 2-4 kat artarken, homozigot taşıyanlarda bu risk 15-40 kat artmaktadır (46).

Hem yetişkin hem de pediyatrik ve erken başlangıçlı hastaları içeren çalışmalar, ekzom dizileme ile CH'li olguların %7-10'unda otozomal resesif kalıtmı *NOD2* ilişkili hastalığı eksik penetrans ve değişken ifade gösteren monogenik bir hastalık olarak tanımlamıştır (46,47). İşlev kaybına yol açan *NOD2* varyantları Crohn hastalığında görülen striktürler ve terminal ileum tutulumu ile güçlü olarak ilişkilendirilmektedir (48). *NOD2* varyantı taşıyan hastaların steroide refrakter olma

riski yüksektir. Özellikle L1007fs varyantı taşıyan CH'li hastalarda cerrahi müdahale riski daha yüksektir (49).

Crohn hastalığı ile ilişkilendirilen genlerden bir diğeri, bağırsak homeostazının ve bağışıklık düzenlemesinin korunmasında önemli bir rol oynayan, otofagozomların oluşumu için gerekli olan bir proteini kodlayan *ATG16L1*'dir. *ATG16L1* genindeki T300A polimorfizmi, GWAS çalışmaları ile Crohn hastalığı için risk faktörü olarak tanımlanmıştır ve bu polimorfizmini homozigot taşıyan CH olgularında anormal TLR sinyali ve Paneth hücresi fonksiyonu olduğu gösterilmiştir (3,50). Bunun yanı sıra *IL23R* geninde, interlökin-23 reseptörünün işlevini veya ifadesini değiştirerek anormal bir bağışıklık tepkisine yol açarak Crohn hastalığı ve ülseratif kolite yatkınlık oluşturan birçok polimorfizm tanımlanmıştır (51).

Kromozom 6p'deki majör histokompatibilite kompleksi [*major histocompatibility complex* (MHC)] lokusu, peptit antijenlerini T hücrelerine sunan insan lökosit antijeni (HLA) ailesindeki genleri kodlar (52). Birçok HLA tipi ile inflamatuvar bağırsak hastalıkları arasında ilişkiler bulunmuştur ancak HLA bölgesinin polimorfik yapısı ve karmaşık bağlantı kalıpları nedeni ile çalışma sonuçları değişkenlik göstermektedir. Bununla birlikte HLA lokusunun Crohn hastalığına kıyasla ülseratif kolitin genetik riskine daha önemli ölçüde katkıda bulunduğu ortaya konmuştur (53). HLA-DRB1*01:03 alleli ÜK olgularında daha şiddetli seyir ve erken cerrahi tedavi ihtiyacı ile Crohn hastalığında ise izole kolon tutulumu ile ilişkilendirilmiştir (54).

Risk lokusları çoğu popülasyonda ortak olmakla birlikte bazı lokuslar popülasyonlar arasında heterojenlik gösterir; örneğin, *NOD2* ve *IL23R* varyantları Avrupa toplumlarının çoğunda bulunurken, Doğu Asya toplumlarında daha az sıklıkla görülmektedir. Birçok birey İBH ile ilişkili polimorfizmleri taşıdığı halde İBH geliştirmemektedir ve İBH'nin bu poligenik riske ek olarak çevresel faktörler ve bağırsak mikrobiyotası ile mukozal bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimler sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (3).

Toplu olarak İBH yatkınlığını artıran yaygın genetik varyantların oluşturduğu bu poligenik riskten farklı olarak, tek bir gendeki yüksek etkili genetik varyantların neden olduğu Mendelyen bozukluklar monogenik İBH olarak adlandırılır. Çoğunlukla immün disregülasyon, primer immün yetmezlik, otoinflamatuvar hastalık ve epitel

bariyer defekt genlerini içeren monogenik hastalıklar, çoğunlukla çok erken başlangıçlı İBH olgularında ve agresif fenotipleri olan hastalarda tanımlanmış olup, kişiselleştirilmiş terapötik yaklaşımlara olanak sağlamaktadır (55).

Epitel Bariyeri ve İmmünolojik Faktörler

Bağırsak epiteli, bağırsak lümeni ile alttaki dokular arasında seçici bir bariyer görevi görerek besin emilimini ve bağışıklık tepkilerini düzenleyerek patojen invazyonunu önlemektedir. İBH'de bu bariyerde sıkı bağlantıların, epitel hücre apoptozunun ve hücre sinyallemesinin bozulması bağırsak geçirgenliğinin ve inflamasyonun artmasına katkıda bulunur. Bir GWAS çalışmasında, ülseratif kolit hastalarında hücre bağlantılarının ekspresyonunu düzenleyen *HNF4A*; tutturucu bağlantıların ana bileşeni olan E-kadherini kodlayan *CDH1*; ve bağırsak bazal membranında eksprese edilen laminin beta 1 alt birimini kodlayan *LAMB1* epitel bariyer fonksiyonuyla ilgili duyarlılık lokusları olarak tanımlamıştır (56).

Bağırsak epitel hücreleri, antijenlerin mukozal bağışıklık sistemine girişini antijen örnekleyerek ve PRR'leri eksprese ederek düzenlemektedir. NFKB, İBH'de bağışıklık tepkilerini düzenlemede ve bağırsak epitel homeostazını korumada önemli bir rol oynar. Bu transkripsiyon faktörü, PRR'ler ve inflamatuvar sitokinler aracılığıyla mikrobiyal sinyallere yanıt olarak aktive edilir. NFKB'yi sitoplazmada hapseden IκB proteinlerinin fosforilasyonu ve degradasyonu sonrası serbest kalan NFKB çekirdeğe taşınır ve inflamasyon, hücre sağkalımı ve bağışıklık yanıtlarında rol alan genlerin transkripsiyonunu yönlendirmek için spesifik DNA dizilerine bağlanır. Epitel hücrelerinde, NFKB aktivasyonu bağışıklık savunması için gerekli olan antimikrobiyal peptitlerin ve sitokinlerin üretimini başlatır. Proinflamatuvar sitokinler sıkı bağlantıları bozarak ve apoptozu indükleyerek bariyer bozulmasını şiddetlendirir ve bağışıklık toleransının kaybına yol açar. Farelerde yapılan bir çalışmada bir NFKB düzenleyicisi olan NEMO'nun epitel-spesifik delesyonu sonucu, azalmış antimikrobiyal peptit ekspresyonu ve spontan kolit geliştiği gösterilmiştir (57).

Özelleşmiş epitel hücreleri, bariyer bütünlüğünün korunmasında kritik roller oynar. Goblet hücreleri, mukozayı koruyan ve onarımı kolaylaştıran MUC2 (mucin 2) ve trefoil peptitleri gibi musinler salgılar. MUC2^{-/-} farelerde goblet hücrelerinde azalma olduğu ve spontan kolit geliştiği gösterilmiştir. Benzer şekilde, α-defensinler gibi antimikrobiyal peptitleri salgılamaktan sorumlu olan Paneth hücreleri, doğuştan

gelen bağışıklığa katkıda bulunur. Özellikle *NOD2* mutasyonlu CH hastalarında, azalmış α -defensin salgılanması, bu hücrelerin bariyer homeostazındaki önemini vurgulamaktadır (56,57).

Crohn hastalığının anormal Th1 bağışıklık tepkisi ve bakteriyel antijenlere karşı aşırı IL-23/Th17 yolu aktivasyonu nedeniyle olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Crohn hastalığının başlangıç evresinde mukozal T hücreleri akut enfeksiyöz sürece benzeyen tipik bir Th1 tepkisi oluşturur. CH hastalarının kolon lamina propriasındaki T hücreleri yüksek miktarda IFN- γ üretir ve IL-12R β 2 ekspresyonunu artırırken makrofajlar yüksek miktarda IL-12 üretmektedir. Ülseratif kolit ise Th2 uyarımı ve genellikle IL-5 ve IL-13'ün artışı ile karakterizedir. Th17 ve Treg uyarımı, hem CH hem de ÜK patogeneğinde rol oynamaktadır (3).

Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler, kemokinler ve diğer moleküler sinyaller dahil olmak üzere bağışıklık araçları arasındaki denge inflamatuvar bağırsak hastalığının patogeneğinde önemli bir rol oynar. TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12, IL-18, ve IL-23 ve IFN γ gibi proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler bağışıklık hücrelerini bağırsak mukozasına çekerek kronik inflamatuvar yanıtı düzenler. IL-10 ve TGF- β gibi antiinflamatuvar sitokinler ise aşırı bağışıklık yanıt oluşmasını önler. Bu araçlar arasındaki dengesizlik, serbest radikallerin ve inflamatuvar moleküllerin aşırı üretimiyle birlikte inflamatuvar hücrelerin bağırsak mukozasına göçü ve birikimi ve epitel bariyer hasarı ile sonuçlanır (56,57).

Bağışıklık sistemindeki en etkin antijen sunan hücreler (APC) olan dendritik hücreler (DH), efektör hücreleri aktive ederek ve hangi CD4⁺ T yardımcı hücrelerinin (Th1, Th2 veya Th17) baskın olacağını belirleyerek bağışıklık tepkisini düzenler (58). İBH'li hastalarda, plazmasitoid ve miyeloid DH'ler kemokinler aracılığı ile periferik kandan bağırsağa çekilir ve inflamatuvar bölgelerde birikir CH olgularının mezenterik lenf nodlarından elde edilen DH'lerin öncelikli olarak Th1 yanıtını uyardığı ve miyeloid DH'lerin yüksek seviyelerde IL-23 ve düşük seviyelerde IL-10 ürettiği gösterilmiştir (59).

Çeşitli uyarılara yanıt olarak monositlerden farklılaşan ve bağırsakta özellikle lamina propriada bol miktarda bulunan makrofajlar, inflamasyonu tetiklemeden patojenleri ve apoptotik hücreleri fagosite ederek homeostazı korur (60). İBH olgularında, inflame mukozadaki makrofaj sayısı, yerleşik makrofajların aksine,

lüminal mikrobiyal antijenlere hızlı bir yanıt başlatabilen CD14^{hi}HLA-DR^{dim} makrofaj alt tipi lehine artar. İBH hastalarının mukozalarından izole edilen anormal CD14 eksprese eden makrofajların mikrobiyal uyarım altında in vitro yüksek seviyelerde IL-12 ve IL-23 ürettiği gösterilmiştir (61,62).

İBH patogenezi hastalığın karmaşık doğası gereği tam olarak aydınlatılamamakla birlikte immün disregülasyon, genetik duyarlılık, bağırsak mikrobiyotası ve çevresel faktörler arasındaki ilişkilere yönelik araştırmalar, İBH olgularındaki değişken fenotipik bulguların anlaşılması ve inflamasyonun olası tetikleyicilerinin belirlenerek hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir.

2.1.4. Tedavi

Çocuklarda İBH'nın hasta üzerindeki etkisine ve hasta deneyimine odaklanan, Tablo 2.2.'de Pediyatrik Ülseratif Kolit Aktivite İndeksi (PUCAI), Tablo 2.3.'te ayrıntılandırılan Pediyatrik Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi (PCDAI) ve klinik remisyonun değerlendirilmesinde önemli rol oynamaktadır (63,64). PCDAI öykü, fiziksel muayene ve büyümeyi ve laboratuvar değerlerini içerirken PUCAI yalnızca öznel semptomları içerir. Klinik remisyon tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde önemli olmakla birlikte öznel ve hastalık kontrolü için tek başına yetersizdir. Güncel tedavilerin hedefi olan mukozal iyileşmeyi değerlendirmenin temel yöntemi endoskopik incelemedir ve endoskopik remisyon kabul edilebilir bir tedavi hedefidir. Histolojik inflamasyonun yokluğuna "derin remisyon" denir. Serum ve dışkı inflamasyon belirteçleri (C-reaktif protein, eritrosit sedimentasyon hızı, kalprotektin) kendi başlarına yetersiz olmakla birlikte tedavi yanıtını değerlendirmede önemlidir. MRE gibi görüntüleme yöntemleri belirli olgulara remisyonu değerlendirmede kullanılabilir. Tüm bunların yanı sıra normal bir büyüme ve puberte gelişiminin sağlanması önemli tedavi hedeflerinden biridir (21)

Tablo 2.2. Pediyatrik Ülseratif Kolit Aktivite İndeksi (PUCAI)

Ölçütler	Puan
Karın ağrısı	
Yok	0
Önemszenmeyen ağrı	5
Önemszenen ağrı	10
Rektal kanama	

Tablo 2.2. “Devam” Pediyatrik Ülseratif Kolit Aktivite İndeksi (PUCAI)

Ölçütler	Puan
Yok	0
Az miktarda kan (dışkıların < % 50)	10
Az miktarda kan (dışkıların çoğunda)	20
Çok miktarda kan (dışkı içeriğinin > % 50)	30
Dışkı kıvamı	
Şekli	0
Kısmen şekilli	5
Tamamen şekilsiz	10
24 saatte dışkılama sayısı	
0-2	0
3-5	5
6-8	10
>8	15
Gece dışkılama	
Yok	0
Var	10
Aktivite düzeyi	
Aktivitede kısıtlama yok	0
Aktivitede sınırlı kısıtlılık	5
Belirgin olarak kısıtlanmış aktivite	10
Toplam	85
Toplam skora göre hastalık aktivitesi	
Ağır	≥ 65
Orta	35-64
Hafif	10-34
Remisyon	<10

Tablo 2.3. Pediyatrik Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi (PCDAI)

Ölçütler	Puan
Karın ağrısı	
Yok	0
Önemszenmeyen ağrı	5
Önemsenen ağrı	10
Günlük dışkı miktarı	
1-2 sıvı dışkılama, kan yok	0
2-5 sıvı dışkılama (az kanlı veya kansız) veya 1-2 yarı katı ve az kanlı dışkılama	5
Belirgin kanama, >6 ishal veya gece dışkılama	10
Aktivite düzeyi	
Aktivitede kısıtlama yok	0
Aktivitede sınırlı kısıtlılık	5
Aktivitede belirgin kısıtlılık	10
Fizik muayene	
Vücut ağırlığı	
Kilo alımı veya istemli kilo kaybı	0
İstemsiz %1-9 kilo kaybı	5
Kilo kaybı > %10	10

Tablo 2.3. “Devam” Pediyatrik Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi (PCDAI)

Ölçütler				Puan
Boy				
<1 eğri düşüşü				0
1-2 eğri düşüşü				5
>2 eğri düşüşü				10
Karın				
Hassasiyet/kitle yok				0
Hassasiyet var veya hassasiyet olmadan kitle				5
Hassasiyet/istemsiz defans/belirgin kitle				10
Peri-rektal hastalık				
Yok/asemptomatik “skin tag”				0
1-2 ağrısız fistül, sınırlı drenaj, apse (hassas)				5
Aktif fistül, drenaj, apse (hassas)				10
Ekstraintestinal Bulgular (haftada üç gün >38.5 °C ateş, artrit, üveit, eritema nodozum, piyoderma gangrenozum)				
Yok				0
1				5
2				10
Laboratuvar				
Hematokrit (%)				
<10 yaş	11-14 yaş (erkek)	11-19 yaş (kız)	15-19 yaş (erkek)	
>33	>35	>34	>37	0
28-32	30-34	29-33	32-36	2.5
<28	<30	<29	<32	5
Eritrosit Sedimentasyon Hızı (mm/saat)				
<20				0
20-50				2.5
>50				5
Albümin (g/L)				
>35				0
31-34				5
<30				10
Toplam				150
Toplam skora göre hastalık aktivitesi				
Ağır				≥40
Orta				30-37.5
Hafif				10-27.5
Remisyon				<10

Medikal tedavi, remisyonun sağlandığı indüksiyon ve bu remisyonun idamesi olmak üzere iki aşamadan oluşur. İnflamasyon kontrolünde yaygın kullanılan kortikosteroidler indüksiyon için kullanılmaktadır. 5-aminosalisilik asitler, hem indüksiyon hem de idame ajanı olarak hafif ila orta şiddetli ÜK için etkili ve güvenli olarak kullanılan ilaçlardır. İmmünomodülatörlerden 6-merkaptopurin ve azatioprin idamede kullanılabilir ancak kanser riski oluşturmaları nedeni ile kullanımı sınırlandırılmıştır. Metotreksat, ilaç antikor oluşumunu baskılamayan önemli bir idame ajanıdır. Biyolojik ilaçlar CH ve şiddetli ÜK için temel tedavi haline gelmiştir. Anti-

TNF'ler infliximab ve adalimumab hem indüksiyon hem de idame tedavisinde oldukça etkilidir (21). Yeni biyolojik ajanlar olan anti-IL-12/23 (ustekinumab), anti-integrin (vedolizumab, karotegrast metil) ve JAK inhibitörlerinin (tofasitinib, filgotinib, upadasitinib) erişkin İBH olgularında etkinliği gösterilmiştir ancak henüz çocuklarda birinci basamak tedaviler değildir (65). İBH'ye eşlik eden enfeksiyöz gastroenteritler ve intraabdominal apselerin tedavisi ve disbiyozun modülasyonu için çeşitli antibiyotikler kullanılır. Cerrahi girişimler, acil komplikasyonlar (örn. perforasyon), geri döndürülemez bağırsak hasarı (örn. fibrotik darlık) ve medikal tedaviye dirençli, şiddetli hastalık varlığında uygulanmaktadır (21).

2.2. Monogenik İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları

Temel olarak immün disregülasyon, primer immün yetmezlik, otoinflamatuvar hastalık ve epitel bariyer defekti genlerini içeren monogenik hastalıklar, çoğunlukla çok erken başlangıçlı İBH olgularında ve atipik veya agresif fenotipleri olan hastalarda tanımlanmaktadır (55). Monogenik İBH çalışmalarının çoğu ÇEB-İBH grubuna odaklanmıştır ancak birçok yeni çalışma, İBH başlangıcı 6 yaşından büyük olan çocuklarda da monogenik İBH'nin yüksek prevalansını ortaya koymuştur. İBH'li kohortlarda yapılan çalışmalarda hastaların ön seçimine bağlı olarak değişken oranlarda: infantil başlangıçlı grubun %13-41'inde, ÇEB-İBH grubunun %0-33'ünde, 6-18 yaş aralığında başlayan İBH'li olguların ise %0-38'inde monogenik hastalık tanımlanmıştır (9). Erken başlangıç yaşının yanı sıra, immün yetmezlik veya otoinflamatuvar hastalık lehine bağışıklık bozukluğu düşündüren klinik (atipik veya tekrarlayan enfeksiyonlar, hemofagositik lenfositosis, otoimmün hastalıklar vb.) ve/veya laboratuvar bulgularının varlığı (lenfosit alt grupları, immünoglobulin düzeyleri, nötrofil fonksiyonu testleri vb.), şiddetli perianal hastalık, tedavi direnci, ailede erken başlangıçlı İBH, yoğun otoimmün hastalık öyküsü ve akrabalık varlığının monogenik İBH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (9,66,67).

Monogenik hastalıklarda İBH özelliklerine sahip bağırsak inflamasyonu, 1973 yılında kronik granümatöz hastalık (KGH) hastalarında, ardından genetik olarak iyi karakterize edilmiş immün yetmezlikler veya immün disregülasyon sendromları olan bir dizi hastada tanımlanmıştır (68,69). 2009 yılında, yaşamın ilk yıllarında başlayan kronik enterokolit, refrakter şiddetli ishal ve şiddetli perianal hastalığı olan ve ebeveynleri akraba olan hastalarda gen haritalama ve aday gen yaklaşımları yoluyla,

IL-10 reseptör genlerinde patojenik varyantlar keşfedilerek infantil İBH'nin altındaki monogenik bir hastalık aydınlatılmıştır. Bu mutasyonlar sonucunda, IL-10 ile indüklenen sinyalleme ortadan kalktığı, IL-10 ile uyarım üzerine STAT3 (sinyal transdüktörü ve transkripsiyon 3 aktivatörü) fosforilasyonunun azaldığı, hastaların periferik kan mononükleer hücrelerinden salınan TNF- α ve diğer proinflatuar sitokinlerin arttığı gösterilmiştir (70).

Konağın mukozal yüzeydeki çok sayıda bakteriden korunmasını sağlayan doğal ve edinilmiş bağışıklık sistemi hücrelerinde ve bariyer işlevi gören bağırsak epitel ve stromasında yüksek etkiye sahip protein kodlayan genlerdeki varyantların keşfi işlevsel mekanizmaları anlamamıza katkıda bulunmuştur. Fenotiplerin penetransa, benzerliklerine, yollara ve ilgili genlerin ifade edildiği hücre tiplerine dayalı multiomik yaklaşımla monogenik İBH için çok boyutlu bir taksonomi modeli oluşturulmuştur (8). Bu çalışmada bağırsak inflamasyonu penetransına göre düşük, orta ve yüksek penetranslı olarak sınıflandırılan genler Tablo 2.4.'te verilmiştir. İBH ilişkili genler ayrıca ait oldukları yollara ve hücresel ekspresyon profillerine göre sınıflandırmaya çalışılmıştır. Çoğu genin birden fazla yolda ve hücre grubunda rol aldığı izlenmekle birlikte kantitatif entegre taksonomi ile, yüksek ve orta penetransa sahip 102 gende (21'i validasyon geni olmak üzere) monogenik İBH gen ekspresyonunun hücresel dağılımı ve mekanizmaları tanımlanmıştır (Tablo 2.5.).

Tablo 2.4. Monogenik gen defektlerinin penetransa göre sınıflandırılması

Yüksek penetranslı genler		Orta penetranslı genler	Düşük penetranslı genler
<i>IL10RB</i>	<i>RELA</i>	<i>TRNT1</i>	<i>NEUROG3</i>
<i>IL10RA</i>	<i>TNFAIP3</i>	<i>STIM1</i>	<i>AICDA</i>
<i>IL10</i>	<i>SLC9A3</i>	<i>IL2RG</i>	<i>PCSK1</i>
<i>RIPK1</i>	<i>RTEL1</i>	<i>LIG4</i>	<i>STXBP2</i>
<i>BACH2</i>	<i>LACC1</i>	<i>SLCO2A1</i>	<i>GPIHBP1</i>
<i>TRIM22</i>	<i>FOXP3</i>	<i>DCLRE1C</i>	<i>PLCG2</i>
<i>ANKZF1</i>	<i>DOCK2</i>	<i>NCF2</i>	<i>SH2D1A</i>
<i>ALPI</i>	<i>WIPF1</i>	<i>ITGB2</i>	<i>CMT4C</i>
<i>NCF4</i>	<i>SIRT1</i>	<i>CD3G</i>	<i>PIK3R1</i> GoF
<i>CD55</i>	<i>TTC37</i>	<i>MASP2</i>	<i>PTEN</i>
<i>MALT1</i>	<i>NLRCA4</i>	<i>SLC26A3</i>	<i>EPCAM</i>
<i>IL21</i>	<i>ITCH</i>	<i>TGFBRI</i>	<i>PEPD</i>
<i>BCL10</i>	<i>HPS4</i>	<i>CYBA</i>	<i>GATA2</i>
<i>NFAT5</i>	<i>LRBA</i>	<i>ADA</i>	<i>CYLD</i>
<i>POLA1</i>	<i>NFKB1A</i>	<i>G6PC3</i>	<i>DOCK8</i>
<i>CYBC1</i>	<i>GUCY2C</i>	<i>RAG2</i>	<i>PIK3CD</i> GoF

Tablo 2.4. “Devam” Monogenik gen defektlerinin penetransa göre sınıflandırılması

Yüksek penetranslı genler		Orta penetranslı genler	Düşük penetranslı genler
<i>SLC37A4</i>	<i>IKBKG</i>	<i>NPC1</i>	<i>ZBTB24</i>
<i>DKC1</i>	<i>SKIV2L</i>	<i>ADA2</i>	<i>MEFV</i>
<i>CYBB</i>	<i>FERMT1</i>	<i>TYMP</i>	<i>DUOX2</i>
<i>IRF2BP2</i>	<i>CTLA4</i>	<i>WAS</i>	<i>POLG2</i>
<i>ARPC1B</i>	<i>MVK</i>	<i>BTK</i>	<i>MYO5B</i>
<i>PIK3R1</i> LoF	<i>COL7A1</i>	<i>STAT1</i>	<i>SBDS</i>
<i>RBCK1</i>	<i>HPS1</i>	<i>HPS3</i>	<i>AIRE</i>
<i>STAT3</i>	<i>XIAP</i>	<i>RAG1</i>	<i>CFTR</i>
<i>PIK3CD</i> LoF	<i>ICOS</i>	<i>TGFBR2</i>	
<i>TGFB1</i>	<i>ZAP70</i>	<i>CD40LG</i>	
<i>TTC7A</i>	<i>NCF1</i>		
<i>IL2RA</i>			

Gof - Gain of function, LoF - loss of function

Bolton ve arkadaşlarının yayınladığı taksonomi çalışmasından uyarlanmıştır (8).

Tablo 2.5. Kantitatif entegre taksonomi ile sınıflandırılan monogenik İBH genleri

Orta-yüksek penetranslı genler					Validasyon genleri	
<i>ADA</i>	<i>HPS3</i>	<i>LRBA</i>	<i>RAG2</i>	<i>TGFBR1</i>	<i>AGR2</i>	<i>PTPN2</i>
<i>ADA2</i>	<i>HPS4</i>	<i>MALT1</i>	<i>RBCK1</i>	<i>TGFBR2</i>	<i>CARD11</i>	<i>SAMD9</i>
<i>ALPI</i>	<i>ICOS</i>	<i>MASP2</i>	<i>RELA</i>	<i>TNFAIP3</i>	<i>CARD8</i>	<i>SCGN</i>
<i>ANKZF1</i>	<i>IKBKG</i>	<i>MVK</i>	<i>RIPK1</i>	<i>TRIM22</i>	<i>CARMIL2</i>	<i>STXBP3</i>
<i>ARPC1B</i>	<i>IL10</i>	<i>NCF1</i>	<i>RTEL1</i>	<i>TRNT1</i>	<i>CASP8</i>	<i>SYK</i>
<i>BACH2</i>	<i>IL10RA</i>	<i>NCF2</i>	<i>SIRT1</i>	<i>TTC37</i>	<i>CDC42</i>	<i>WNT2B</i>
<i>BCL10</i>	<i>IL10RB</i>	<i>NCF4</i>	<i>SKIV2L</i>	<i>TTC7A</i>	<i>ELF4</i>	
<i>BTK</i>	<i>IL21</i>	<i>NFAT5</i>	<i>SLC26A3</i>	<i>TYMP</i>	<i>FMNL2</i>	
<i>CD3G</i>	<i>IL2RA</i>	<i>NFKB IA</i>	<i>SLC37A4</i>	<i>WAS</i>	<i>HPSA1L</i>	
<i>CD40LG</i>	<i>IL2RG</i>	<i>NLRC4</i>	<i>SLC9A3</i>	<i>WIPF1</i>	<i>IKZF1</i>	
<i>CD55</i>	<i>IRF2BP2</i>	<i>NPC1</i>	<i>SLCO2A1</i>	<i>XIAP</i>	<i>IL2RB</i>	
<i>COL7A1</i>	<i>ITCH</i>	<i>PIK3CD</i>	<i>STAT1</i>	<i>ZAP70</i>	<i>IL37</i>	
<i>G6PC3</i>	<i>ITGB2</i>	<i>PIK3R1</i>	<i>STAT3</i>		<i>NOP10</i>	
<i>GUCY2C</i>	<i>LACC1</i>	<i>POLA1</i>	<i>STIM1</i>		<i>PI4KA</i>	
<i>HPS1</i>	<i>LIG4</i>	<i>RAG1</i>	<i>TGFB1</i>		<i>PRKCD</i>	

Bolton ve arkadaşlarının yayınladığı taksonomi çalışmasından uyarlanmıştır (8).

Taksonomi çalışmalarının ortaya koyduğu üzere tek boyutlu bir monogenik İBH sınıflaması olmamakla birlikte IL-10 sinyalleme bozukluğu, fagositer bozukluklar, otoinflamatuvar hastalıklar, lenfosit ve epitel defektleri gibi bazı temel mekanizmalar gruplandırılabilir (8,69)

2.2.1. IL-10 Sinyalleme Bozukluğu

Başta makrofajlar, T ve B lenfositler olmak üzere çeşitli doğal ve edinilmiş bağışıklık hücreleri tarafından salgılanan IL-10, özellikle TNF- α ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını sınırlayarak anti-inflamatuvar etki göstermektedir ve bağırsak mukozal homeostazının korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (70). IL-10 reseptörü iki alfa (IL10R1) ve iki beta (IL10R2) zincirden oluşur. Bu heterotetramerik reseptöre bağlanan IL-10, proinflamatuvar gen ekspresyonunu sınırlayan JAK1 (Janus tirozin kinaz 1)/STAT3 kaskadını aktive eder (71). IL-10 ligandını veya IL-10 reseptörünün iki bileşenini kodlayan genlerdeki (*IL10*, *IL10RA*, *IL10RB*) biallelik işlev kaybı varyantları genellikle şiddetli perianal hastalığın görüldüğü neonatal veya infantil başlangıçlı ve tedaviye dirençli İBH'ye neden olur. IL-10 sinyalleme bozukluğu, bağırsak inflamasyonuna ek olarak, artrit, folikülit ve solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkilidir (70). Hastalarda kolit çoğunlukla standart immünsüpresif tedaviye yanıtızsızdır. Bağışıklık sisteminin baskın olarak etkilendiği bu hasta grubunda hematopoietik kök hücre nakli tek küratif tedavi yöntemidir (72).

2.2.2. Fagositer Bozukluklar

Fagositler, hastalığa neden olan mikroorganizmaları parçalayarak ve sitokin yanıtını ve bağışıklık hücrelerini yönlendirerek inflamatuvar savunma sağlayan, doğal bağışıklığın temel araçlarıdır. Bakteriyel öldürme, hücre göçü veya inflamatuvar yollar dahil olmak üzere fagositik işlevleri etkileyen genlerdeki mutasyonlar, monogenik İBH'ye neden olmaktadır (69).

Kronik granülomatöz hastalık (KGH), bakteri öldürme ve temizlemeden sorumlu olan bağırsak fagositlerinin kusurlu antimikrobiyal aktivite göstermesi sonucu ortaya çıkmaktadır. KGH, hücre içi mikropları öldürmek için gerekli olan reaktif oksijen türlerini üreten NADPH oksidaz kompleksinin kusurlarıyla karakterizedir. NADPH oksidaz kompleksinin herhangi bir alt birimini (*CYBA*, *CYBB*, *NCF1*, *NCF2*, *NCF4*) kodlayan genlerin mutasyonları hastalığa neden olur ve hastaların yarısına kadarında İBH gelişir (73). NADPH oksidaz kompleksi alt birimlerinin dimerizasyonunda rol oynayan şaperon proteini kodlayan *CYBC1* geninin mutasyonları da KGH'ye neden olmaktadır (74). *CYBA*, *CYBC1*, *NCF1*, *NCF2* ve *NCF4* genlerindeki biallelik patojenik varyantlar otozomal resesif, *CYBB*'nin patojenik

varyantları ise X'e bağı KGH'ye neden olur. KGH, şiddetli tekrarlayan bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar (pnömoni, lenfadenit, karaciğer absesi, osteomyelit, cilt apsisi, selülit) granülomlar ve fistülizan kolit gibi diğer inflamatuvar bozukluklarla sonuçlanan düzensiz inflamatuvar yanıtlarla karakterizedir. Granülomlar tipik olarak genitoüriner ve gastrointestinal sistemde ortaya çıkmaktadır (75). NADPH oksidaz kompleksinin aktivasyonu için gerekli olan protein kinaz C delta'yı (PKC- δ) kodlayan *PRKCD* geninin ve NADPH oksidaz kompleksinin oluşumu için gerekli olan ve hücrel sinyal düzenlemede rol alan bir rat sarcoma virus homolog (Rho) guanozin trifosfatazı (GTPaz) kodlayan *RAC2* geninin patojenik varyantları KGH semptomlarıyla ve monogenik İBH ile ilişkilendirilmiştir (69).

Hücre iskeletinin yeniden şekillenmesindeki kusurlar fagositlerin göç kapasitelerini ve işlevlerini bozar. Hematopoietik hücrelerde aktin filamentlerinin oluşumunu düzenleyerek hücre iskeleti organizasyonunda rol oynayan WAS proteini, makrofajlarda ve dendritik hücrelerde, ekstraselüler matriksi parçalayabilen ve hücre göçü için önemli olan aktin yoğun yapılar olan podozomlar içinde yer alır. Bu hücrelerde bozulmuş podozom ve fagositik kap oluşumuna neden olan patojenik WAS varyantlarından kaynaklanan Wiskott–Aldrich Sendromu (WAS), X'e bağı kalıtılan bir primer immün yetmezliktir. Hastalarda mikrotrombositopeni, egzama, tekrarlayan enfeksiyonlar, hemolitik anemi, vaskülit, artrit ve İBH gibi çeşitli bulgular görülür (69). Hücre iskeleti değişikliklerini başlatmak için aktive WAS proteinine bağlanan ARP2/3 kompleksini (aktin ilişkili protein) kodlayan *ARPC1B* geni ve WAS proteinini stabilize eden WAS etkileşimli proteini (WIP) kodlayan *WIPF1* genindeki biallelik varyantlar WAS benzeri semptomlara neden olmaktadır. WAS proteinini aktive eden bir proteini kodlayan *CDC42* genindeki bazı varyantlar, dishematopoez, HLH ve intestinal inflamasyona neden olmaktadır (76). CDC42 ile etkileşime girerek aktin ve hücre iskeleti dinamiğini düzenleyen FMNL2 (formin benzeri 2) proteinini kodlayan FMNL2 geninde podozom işlevini bozan heterozigot patojenik varyantların da bağırsak inflamasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (77).

Lökosit adezyon eksikliği (LAD), lökositlerin (özellikle nötrofillerin) kan damarı duvarına tutunmasındaki kusurlardan kaynaklanan bir immün yetmezliktir. Lökosit adezyon molekülü beta-2 integrinin β alt birimini kodlayan *ITGB2* mutasyonları beta-2 integrin eksikliği yaparak, Golgi sisteminin GDP-fukoz

taşıyıcısını kodlayan *SLC35C1* geni mutasyonları ise selektin ligandların fukozilasyonunu bozarak lökosit adezyonunu engeller. Sırasıyla *ITGB2* ve *SLC35C1* genlerinin biallelik patojenik varyantları sonucu oluşan LAD tip I ve II hastalarında erken başlangıçlı İBH, sık bakteriyel enfeksiyon ve periferik granülositlerde artış görülür (78).

Glikoz-6-fosfat'ın (G6P) sitoplazma ve ER membranından lümenine taşınmasını sağlayan taşıyıcı proteini kodlayan *SLC37A4* geninin biallelik patojenik varyantları sonucu ortaya çıkan Glikojen Depo Hastalığı Tip 1b'de nötropeni ve nötrofil disfonksiyonu görülmektedir ve bazı hastalarda bağırsak inflamasyonu, özellikle CH benzeri İBH, ortaya çıkabilmektedir (79). Glikoz-6-fosfataz enzimleri, glikojenolizin son adımı olan ER'de G6P'nin hidrolizini katalize eder. Dokularda yaygın olarak ifade edilen glikoz-6-fosfataz enzimini kodlayan *G6PC3* geninin biallelik patojenik varyantları, şiddetli konjenital nötropeni tip 4 olarak da adlandırılan *G6PC3* eksikliğine neden olur. *G6PC3* eksikliği şiddetli konjenital nötropeni, tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar, aralıklı trombositopeni, konjenital kardiyak ve genitoüriner anomalilerle karakterizedir. İnflamatuar bağırsak hastalığı hastalığının hematolojik olmayan nadir özelliklerinden biridir (80).

2.2.3. Otoinflamatuvar ve Hiperinflamatuvar Hastalıklar

Birçok otoinflamatuvar ve hiperinflamatuvar hastalık, erken başlangıçlı İBH olgularında bağırsak inflamasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar arasında *MVK*, *MEFV*, *CARD8*, *STXBP3*, *SYK*, *PLCG2* ve *XIAP* gibi gen defektleri sayılabilir. (81–87).

MVK (*mevalonate kinase*) geninin biallelik varyantları sonucu ortaya çıkan mevalonat kinaz eksikliği, bozulmuş izoprenoid biyosentezi ile karakterize otoinflamatuvar bir hastalıktır. Etkilenen bireylerde periyodik ateş, lenfadenopati ve alevlenmeler sırasında yükselen akut faz reaktanları gibi sistemik otoinflamatuvar semptomların yanı sıra çok erken başlangıçlı İBH görülebilmektedir (83,88).

CARD8 (*caspase recruitment domain family member 8*) geninin dominant negatif etki ve işlev kaybı oluşturan bazı varyantları, NLRP3 inflamazomunun aktivitesinde artışa ve aşırı IL-1 β üretimine neden olarak bağırsak inflamasyonunu tetiklemektedir (84,89). Edinsel veya doğal bağışıklık sisteminin çeşitli reseptörlerinin (B hücresi reseptörleri, Fc reseptörleri ve C tipi lektin reseptörleri, TLR) aşağı akışında

bulunan SYK (*spleen tyrosine kinase*) sinyal molekülünü kodlayan olan SYK genindeki işlev kazanımı oluşturan *de novo* varyantlar çoklu organ inflamasyonuna neden olmaktadır (85).

XIAP geninde işlev kaybı mutasyonlar sonucu ortaya çıkan X'e bağlı lenfoproliferatif sendromlu hastaların yaklaşık %20'si İBH ile başvurmaktadır. NOD2 aracılı NFkB sinyallemede ve T hücrelerinin apoptozunda önemli rol oynayan XIAP proteinin eksikliğinde, bakteri algılama ve temizleme bozukluğu ve sitokin üretiminin artmasıyla HLH ve İBH ile sonuçlanan hiperinflamatuvar bir durum vardır. Bu hastalığa sahip olgularda şiddetli kolonik ve perianal fistülizan hastalık görülür (82).

2.2.4. Lenfosit Defektler

İBH ile ilişkili birçok T ve B hücresi defekti tanımlanmıştır. Lenfosit gelişiminde veya işlevindeki defektlerle karakterize ağır kombine immün yetmezlik (AKİY) ile ilişkili birçok genin hipomorfik varyantları İBH fenotipine yol açabilir (69). *RAG1* (*recombination activating 1*), *RAG2* (*recombination activating 2*) ve *DCLRE1C* (*DNA cross-link repair 1C protein*) genleri ile ilişkili Omenn sendromunda eritrodermi, lenfadenopati ve hepatosplenomegalinin yanı sıra sıklıkla kronik kolit görülmektedir (90).

Treg hücrelerinin gelişimini ve işlevini düzenleyen transkripsiyon faktörünü kodlayan *FOXP3* (*forkhead box P3*) genindeki patojenik varyantlar IPEX (immün disregülasyon, poliendokrinopati, enteropati, X'e bağlı kalıtım) sendromuna neden olur. IPEX sendromu, erkeklerde infantil dönemde başlayan enteropati, egzama ve diyabetes mellitus, tirodit gibi endokrin hastalıklar ile karakterizedir (91). T hücre aracılı bağışıklık yanıtının negatif düzenleyicisi olan *CTLA4* (*cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4*) ve CTLA4'ün ekspresyonu, işlevi ve taşınmasını düzenleyen *LRBA* (*Lipopolysaccharide-responsive beige-like anchor protein*) genlerindeki varyantlar İBH ile ilişkilendirilmiştir (92,93).

IKBKG, *CARD11*, *CARMIL2* ve *CASP8* gibi NFkB sinyal yolu genlerindeki mutasyonlar T hücre işlevinin bozulması ve TNF aracılı hücre ölümünde artışa neden olarak monogenik İBH'ye neden olmaktadır (94–97).

2.2.5. Epitel Bariyer Defektleri

Bağırsak epitel bariyerinin bütünlüğü, konağı mikrobiyomdan korumada önemli rol oynar. Kolumnar epitelde iyon taşınmasını, hücre polarizasyonunu veya bağışıklığı etkileyen kusurlar bağırsak inflamasyonuna yol açabilir. Konjenital sodyum ve konjenital klor ishalleri, kolumnar epitelin iyon taşıyıcı işlevlerinin bozulması sonucu ortaya çıkar. *SLC9A3*'teki patojenik varyantlar sodyum-hidrojen değiştirici 3'ün (NHE3) işlevini bozarak konjenital sodyum ishaline neden olurken, *SLC26A3* genindeki patojenik varyantlar klorür/bikarbonat değiştiricinin işlevini bozarak konjenital klor ishaline neden olmaktadır. Bu hastalıklarda bağırsak inflamasyonunun bağırsak lümeninde değişen salinitenin neden olduğu disbiyozise bağlı ortaya çıktığı düşünülmektedir (69).

PI4KA (*phosphatidylinositol 4-kinase alpha*) epitel, mezenkimal ve bazı bağışıklık hücrelerinde ifade edilir ve temel hücresel sinyalleme işlevleri için kritik olan bir membran fosfolipidi oluşturmak üzere *TTC7A* (*tetratricopeptide repeat domain-7A*) ile bir kompleks oluşturur. Bu genlerin hatalı epitel hücre adezyonu ve polarizasyonuna neden olan patojenik varyantları ağır nörolojik, immünolojik ve bağırsak bozuklukları olan değişken fenotiplere yol açar (98,99).

Epitel ve bağışıklık hücrelerinde ifade edilen ve inflamasyonu negatif düzenleyen bir transkripsiyon faktörünü olan *ELF4*'nin (*E74-like ETS transcription factor 4*) işlev kaybı hiperinflamatuvar makrofajlara ve T hücrelerine yol açar. Hastalarda ateş ve oral ülserlerle birlikte gastrointestinal inflamasyonla görülür (100). Doğal ve edinilmiş bağışıklığı baskılayan bir sitokin olan interlökin-37 (*IL37*) eksikliği infantil İBH olgularında tanımlanmıştır(101). Epitel hücrelerinde ekspresyonu yüksek olan *ELF4* ve *IL37*, monogenik İBH taksonomisinde epitelyal defektler içinde kümelenmekle birlikte, esas olarak doğal ve edinilmiş bağışıklık sisteminin hücreleri üzerinde etki eder (8).

Anterior-gradient 2 (*AGR2*), endoepitelial hücreler olan goblet hücrelerinde üretilen ana intestinal müsin olan *MUC2* protein katlanmasında ve endoplazmik retikulum (ER) stres tepkisinde önemli bir rol oynayan bir protein disülfid izomerazdır. *AGR2* eksikliği, mukus bariyerinin bozulmasına ve bağırsak epitelinde ER stresinin artmasına neden olarak infantil İBH'ye yol açmaktadır (102).

Goblet hücrelerinde eksprese olan *ST6GALNAC1* (*ST6 alpha-N-acetylneuraminyl-2,3-beta-galactosyl-1,3-N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase 1*) geninin kodladığı sialiltransferaz, bağırsak mukusundaki glikanların terminal sialilasyonunu gerçekleştiren ana enzimdir ve mukus bütünlüğünün sağlanması ve aşırı bakteriyel proteolitik degradasyona karşı koruma için gereklidir. Bozulmuş bir mukus bariyeri ile sonuçlanan *ST6GALNAC1* patojenik varyantları mukus bariyerinin bozulması sonucunda İBH'ye yol açmaktadır (103). *SCGN* (*Secretagogin*) geni, nöroendokrin kökenli enteroendokrin hücreler ve bağırsak nöronlarında özel olarak eksprese olan bir kalsiyum sensörünü kodlar. *SCGN*, vezikülün plazma membranıyla füzyonu için gerekli olan SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors) kompleksiyle etkileşime girer. SNARE kompleksi ortağı SNAP25'in (*synaptosomal-associated protein*, 25kDa) lokalizasyonunu etkileyerek hormon salınımının bozulmasına yol açan *SCGN* varyantlarının erken başlangıçlı İBH'a neden olduğu gösterilmiştir (104).

2.3. Kılavuzlarda Genomik Test Endikasyonları

Son on yılda, yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerindeki ilerlemeler, maliyet etkin ve güvenilir hedefli gen panellerinden ekzom ve genom dizileme gibi daha geniş yaklaşımlara doğru bir geçişe işaret etmektedir. Hedefli gen panellerinin monogenik İBH için yararlılıkları birçok çalışmada gösterilmiş olsa da, içeriklerinin panelden panele değişkenlik göstermesi, statik olması ve yeni tanımlanan genleri barındırmak için sık güncelleme ihtiyacı olması bu yaklaşımın tanı gücünde kısıtlılıklar oluşturmaktadır (5,105,106). Ekzom dizileme, filtreleme yoluyla dinamik gen seçimi ve gelecekte yeniden analize olanak tanıyan esnek ve maliyet etkin bir alternatif olması nedeni ile kullanımı yaygınlaşmıştır ve birçok kohort çalışması ile ekzom dizilemenin tanısal potansiyeli vurgulanmıştır (107–109).

Son yıllarda yeni nesil dizileme teknolojilerinin yaygın kullanımı sayesinde giderek artan sayıda monogenik hastalığın İBH ile ilişkisi keşfedilmektedir. Monogenik İBH ile ilişkisi kanıtlanmış gen sayısı 2013'te 40 iken bu sayı günümüzde 100'ün üzerindedir ve giderek artmaya devam etmektedir (69).

2.3.1. Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Koleji (ACMG) 2021

Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Koleji Teknik Standardı: Klinik Laboratuvarlarda Konstitüsyonel Varyantlar İçin Yeni Nesil Dizileme Kullanımı, 2021 revizyonuna göre Tüm Ekzom Dizileme ve Tüm Genom Dizileme teknolojilerinin aşağıda listelenen durumlarda kullanılması uygundur (110).

1. Kompleks fenotip ve heterojen genetik etiyoloji varlığında
2. Atipik fenotipik bulgu, atipik klinik seyir veya atipik başlangıç yaşı varlığında
3. Fenotip, hastalığa yönelik testlerin henüz mevcut olmadığı, yakın zamanda tanımlanmış hastalık genleriyle ilişkili olduğunda
4. Hedeflenmiş panel çalışmalarıyla tanıya ulaşamadıysa
5. Testler sıralı uygulandığında oluşacak zaman kaybının tedavide gecikmeye neden olacağı durumlarda
6. Fenotip tanımlanmış bir genetik durumla uyumlu olmadığı, birden fazla genetik tanı varlığı şüphesinde

2.3.2. Kuzey Amerika Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği 2020

ÇEB-İBH'li hastalarda altta yatabilecek monogenik hastalıkların belirlenmesini kolaylaştırabilecek genetik çalışmalara dair öneriler, Kuzey Amerika Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği Çok Erken Başlangıçlı İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Olan Hastaların Değerlendirilmesi ve Yönetimine İlişkin Görüş Belgesi 2020'de şu şekilde belirtilmiştir (55):

Genetik dizileme, ÇEB-İBH'nin spesifik monogenik formlarını tanımlamak veya şüphelenilen bir hastalığı doğrulamak için genellikle gereklidir. ÇEB-İBH'nin yaygın monogenik formlarını test etmek için hedefli dizileme panelleri geliştirilmiştir. Hedefli paneller, infantil başlangıçlı İBH'de, fenotip bilinen bir hastalık ile tutarlı olduğunda, akrabalık öyküsü olduğunda ve anormal immünolojik bulguların varlığında önce gerçekleştirilmelidir. Ancak ticari olarak mevcut ÇEB-İBH hedefli panellerin analitik pipelineleri ve dizilenen gen içeriklerinde farklılıklar vardır ve bu panellerin hassasiyeti titizlikle test edilmemiştir. Hem teknoloji hem de biyoinformatik analizlerin gelişmesi ile TED, ÇEB-İBH için önemli tanısal rol oynamıştır. TED

çoğunlukla hedefli panellerin negatif sonuçlanması üzerine gerçekleştirilmektedir ancak daha önce tanımlanmamış bir fenotipe sahip seçilmiş hastalarda TED, hedefli paneller yerine endikedir.

Tüm genom dizileme (WGS), TED'e benzer şekilde ve daha uygun maliyetli hale geldikçe, ÇEB-İBH dahil olmak üzere birçok konjenital hastalığın tanımlanmasında giderek artan bir merkezi rol oynayacaktır. WGS, başlangıç yaşı, hastalığın şiddeti, aile öyküsü ve ilişkili otoimmünite dahil fenotipik bulgular göz önünde bulundurularak monogenik hastalık şüphesi yüksek olan hastalarda, TED'in negatif sonuçlanması durumunda kullanılmalıdır. Üretilen verilerin büyüklüğü ve karmaşıklığı göz önüne alındığında, TED'in ve kesinlikle WGS'nin yorumlanması genellikle biyoenformatik, genetik, immünoloji ve ÇEB-İBH uzmanlarından oluşan bir ekip gerektirir. Çoğunlukla, hastalığın tespit edilen kusurların hızla anlaşılıyor olması nedeniyle, daha önce bildirilen bir ÇEB-İBH'ye neden olduğu doğrulanmamış bir varyant (VUS) TED veya WGS'de tespit edilebilir ve daha fazla araştırma gerekebilir. Bu araştırmada kalıtım şekli kritik öneme sahiptir, bu nedenle mümkünse her iki ebeveyni de içeren üçlü analiz en değerli bilgiyi sağlayacaktır. Ayrıca bir aday varyantın önemini belirlerken, varyantın sağlıklı toplumdaki potansiyel patojenitesi ve sıklığı dikkate alınmalıdır. NASPGHAN kılavuzunda, ÇEB-İBH'nin sık görülen monogenik formlarına ait tablo 2.6.'da listelenen 57 gen tanımlanmıştır.

Tablo 2.6. NASPGHAN kılavuzunda ÇEB-İBH için tanımlanan genler

Edinsel bağışıklık defektleri		Regülatör T hücre defektleri	Fagosit ve NADPH oksidaz kompleksi defektleri	Otoinflamatuvar/hiperinflamatuvar defektler	Epitel bariyer defektleri
<i>IL10</i>	<i>PTEN</i>	<i>FOXP3</i>	<i>CYBA</i>	<i>SKIV2L</i>	<i>ADAM17</i>
<i>IL10RA</i>	<i>ITCH</i>	<i>CTLA4</i>	<i>CYBB</i>	<i>TTC37</i>	<i>IKBKG</i>
<i>IL10RB</i>	<i>RAG1</i>	<i>LRBA</i>	<i>NCF1</i>	<i>RTEL</i>	<i>GUCY2C</i>
<i>BTK</i>	<i>RAG2</i>	<i>STAT1</i>	<i>NCF2</i>	<i>STXBP2</i>	<i>TTC7A</i>
<i>DKC1</i>	<i>ZAP70</i>	<i>STAT3</i>	<i>NCF4</i>	<i>XIAP</i>	<i>SLC26A3</i>
<i>DOCK8</i>	<i>IL7R</i>	<i>STAT5b</i>	<i>G6PC3</i>	<i>NLRC4</i>	<i>COL7A1</i>
<i>ICOS</i>	<i>WAS</i>	<i>IL2RB</i>	<i>SLC37A4</i>	<i>MEFV</i>	<i>FERMT1</i>
<i>ITGB2</i>	<i>ARPC1B</i>	<i>IL21R</i>		<i>MVK</i>	
<i>ZBTB24</i>	<i>TGFB1</i>	<i>IL21</i>		<i>HPS1</i>	
<i>PIK3CD</i>	<i>TGFB2</i>			<i>HPS4</i>	
<i>PIK3R1</i>				<i>TRIM22</i>	
				<i>CASP8</i>	
				<i>PLCG2</i>	

2.3.3. Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme

Derneği, Pediatrik İBH Porto Grubu 2021

Monogenik İnflamatuvar Bağırsak Hastalığının Tanısı İçin Klinik Genomik: Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği Pediatrik İBH Porto Grubu Pozisyon Belgesi-2021 şu şekildedir (9):

1. Şüpheli veya doğrulanmış monogenik İBH'li bir hastanın tanı ve takip süreci, en iyi şekilde, gastroenteroloji, genetik, immünoloji ve ilgili gen defekti, eşlik eden hastalıklar ve bağırsak dışı belirtilere bağlı olarak diğer alanlar dahil olmak üzere multidisipliner bir uzman ekibi tarafından koordine edilir.

2. Rutin klinik uygulamada bilinen monogenik İBH nedenlerinin tanısında yeni nesil DNA dizileme teknolojilerinin kullanımı önerilir.

3. Monogenik İBH için genetik tarama, infantil başlangıçlı İBH'li olan tüm hastalarda önerilir ve çok erken başlangıçlı İBH'li hastalarda, özellikle ilgili komorbidite, bağırsak dışı belirtiler ve/veya aile öyküsü olduğunda düşünülmelidir.

4. Nadir bir tanı da olsa, ilgili komorbidite, bağırsak dışı belirtiler ve/veya aile öykü varlığında pediatrik veya yetişkin yaş başlangıçlı her İBH'li hastada monogenik İBH düşünülmelidir.

5. 6 yaş üstü İBH başlangıcı olan hastalarda, özellikle İBH başlangıcı ergenlik veya yetişkinlik döneminde olanlarda, ilgili komorbiditenin yokluğunda monogenik İBH'nin nadir olması nedeni ile tüm İBH hastaları için rutin genetik tarama önerilmemektedir.

6. Bağırsak inflamasyonunun nedeni açıkça açıklanamadığı sürece hematopoietik kök hücre nakli öncesinde monogenik İBH'yi tespit etmek için genetik araştırmalar önerilir.

7. Panel, ekzom ve genom dizileme teknolojileri tamamlayıcı tanı gücüne sahiptir; birinci basamak teknoloji, kullanılabilirlik ve tanısal şüphenin derecesine göre yönlendirilmelidir.

8. Yeni gen defektlerinin ve klinik önemi bilinmeyen varyantların nedenselliğini tespit etmek için fonksiyonel çalışmalar gereklidir.

9. Şüpheli veya doğrulanmış monogenik İBH'si olan hastalara ve ailelerine araştırma çalışmalarına katılma fırsatı sunulmalıdır. Araştırma çalışmalarında belirlenen terapötik önemi olabilecek genetik sonuçlar doğrulanmalıdır.

ESPGHAN Pediyatrik İBH Porto Grubu monogenik İBH için Tablo 2.7.'de listelenen 75 gen tanımlamıştır.

Tablo 2.7. ESPGHAN kılavuzunda tanımlanan monogenik İBH genleri

<i>ADA</i>	<i>DKC1</i>	<i>IL2RA</i>	<i>PIK3CD</i>	<i>STIM1</i>
<i>ADAM17</i>	<i>DOCK8</i>	<i>IL2RB</i>	<i>PIK3R1</i>	<i>STXBP2</i>
<i>AICDA</i>	<i>FERMT1</i>	<i>IL2RG</i>	<i>PLCG2</i>	<i>STXBP3</i>
<i>ALPI</i>	<i>FOXP3</i>	<i>ITCH</i>	<i>POLA1</i>	<i>TGFB1</i>
<i>ARPC1B</i>	<i>G6PC3</i>	<i>ITGB2</i>	<i>RAG1</i>	<i>TGFBR1</i>
<i>BTB</i>	<i>GUCY2C</i>	<i>LIG4</i>	<i>RAG2</i>	<i>TGFBR2</i>
<i>CASP8</i>	<i>HPS1</i>	<i>LRBA</i>	<i>RIPK1</i>	<i>TNFAIP3</i>
<i>CD3G</i>	<i>HPS4</i>	<i>MALT1</i>	<i>RTEL1</i>	<i>TRIM22</i>
<i>CD40LG</i>	<i>HPS6</i>	<i>MASP2</i>	<i>SH2D1A</i>	<i>TRNT1</i>
<i>CD55</i>	<i>ICOS</i>	<i>MVK</i>	<i>SKIV2L</i>	<i>TTC7A</i>
<i>COL7A1</i>	<i>IKBKG</i>	<i>NCF1</i>	<i>SLC9A3</i>	<i>TTC37</i>
<i>CTLA4</i>	<i>IL10</i>	<i>NCF2</i>	<i>SLC37A4</i>	<i>WAS</i>
<i>CYBA</i>	<i>IL10RA</i>	<i>NCF4</i>	<i>SLCO2A1</i>	<i>XIAP</i>
<i>CYBB</i>	<i>IL10RB</i>	<i>NLRC4</i>	<i>STAT1</i>	<i>ZAP70</i>
<i>DCLRE1C</i>	<i>IL21</i>	<i>NPC1</i>	<i>STAT3</i>	<i>ZBTB24</i>

2.3.4. İngiliz Pediyatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme

Derneği 2023

Çocuklarda ve Yetişkinlerde Monogenik İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı İçin Genomik Tanı ve Bakım Koordinasyonu: İngiliz Gastroenteroloji Derneği ve İngiliz Pediyatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği Konsensüs Kılavuzu 2023 şu şekildedir (67):

Çocuklarda ve Yetişkinlerde Monogenik İBH İçin Genomik Tanı ve Bakım Koordinasyonu Uygulama Önerileri

1. ÇEB-İBH ve özellikle infantil başlangıçlı İBH hastalarında, doğal bağışıklık bozukluklarını değerlendirmek için immünolojik testler (tam kan sayımı, serum immünoglobulin düzeyleri, lenfosit alt grupları ve nötrofil oksidatif patlama testi) önerilir.
2. Tedaviye dirençli ve fistülizan Crohn hastalığı, doğal bağışıklık bozukluklarının ek tanısal belirtileri olmasa bile kronik granümatöz hastalık veya XIAP eksikliğinin bir bulgusu olabilir. Bu iki nadir hastalık adolesan veya genç erişkin başlangıçlı Crohn hastalığı olan erkeklerde ayırıcı tanıda olduğundan, bu hastalarda nötrofil fonksiyon testi ve XIAP ekspresyon testinin dikkate alınması önerilir.
3. Genomik analizden önce, klinisyenler genetik tanının potansiyel etkisini hastayla veya ebeveynleri ile görüşmelidir. Patojenik varyant saptanması halinde genetik danışmanlık sunulmalıdır.
4. Monogenik İBH'li hastaların tedavisi bireyseldir ve genotipe, bağırsak inflamasyonuna neden olan fonksiyonel mekanizmalara, hastanın yaşına, fenotipine ve prognostik faktörlere bağlıdır.
5. Şüpheli veya doğrulanmış monogenik İBH'li hastalara araştırma çalışmalarına katılma fırsatı sunulmalıdır.
6. İBH'li hastalarda olası monogenik nedenlere yönelik genomik analiz gerçekleştiren araştırma çalışmalarında, varyant önceliklendirme sürecini ve potansiyel olarak klinik açıdan önemli bulguların genetik bilgi almak isteyen hastalara ve klinik ekiplerine nasıl iletileceğini açıklığa kavuşturmak için işletme prosedürleri bulunmalıdır. Klinik ekip, doğrulayıcı klinik genetik testlerini kolaylaştırmalıdır.
7. Genomik tıbbı erişimin olmadığı kaynakların sınırlı olduğu durumlarda, hasta bakımı yerel olarak mevcut kaynaklar tarafından yönlendirilebilir ve ulusal ve uluslararası uzman ağlarına ve araştırma çalışmalarına erişimle tamamlanabilir.
8. Klinik genomik kaynakların mevcut olduğu durumlarda tüketici tabanlı genetik testler önerilmemektedir.

Klinisyenler infantil İBH'li ve ÇEB-İBH'li tüm hastalarda, özellikle bir veya daha fazla ek test kriterinin varlığında genomik test çalışmayı düşünmelidir. İBH başlangıcı >6 yaş olan hastalarda genomik testin verimi düşüktür, ancak genomik test kriterlerinden en az birini karşılayan hastalarda düşünülebilir.

Monogenik İBH İçin Genomik Test Kriterleri

1. İBH başlangıç yaşı: <2 yaş veya özellikle ek kriterler gözlemlendiğinde <6 yaş başlangıç
2. Primer immün yetmezliğin tanı kriterlerini karşılayan anormal laboratuvar testlerinin (örneğin; konjenital lenfopeni veya nötropeni veya kombine immünoglobulin düzeyi anormallikleri) varlığında enfeksiyon duyarlılığı (örneğin; bağışıklık baskılayıcı veya düzenleyici tedavi ile açıklanmayan tekrarlayan sinopulmoner, gastrointestinal, kutanöz veya sistemik enfeksiyonlar nedeniyle)
3. Karmaşık otoimmün özellikler gibi doğuştan gelen bir bağışıklık düzensizliği göstergesi olan inflamatuvar özellikler [pediyatrik popülasyonda özellikle IPEX (İmmün disregülasyon, poliendokrinopati, enteropati, X'e bağlı kalıtım) sendromunun özellikleri veya yetişkin popülasyonda ciddi çoklu organ tutulumlu otoimmün hastalık bulguları] veya hemofagositik lenfohistiyositoz varlığı
4. Konjenital çoklu bağırsak atrezileri veya konjenital diyare
5. Erken başlangıçlı malignite (yaş <25 yaş)
6. Monogenik İBH düşündüren aile öyküsü
7. Geri döndürülemez sonuçları ve olumsuz sonuç riski yüksek olan işlem veya tedavilerden önce (örneğin; hematopoietik kök hücre nakli veya çoklu bağırsak rezeksiyonu)

Destekleyici Bulgular

1. Aile öyküsü (akrabalık veya resesif, X'e bağlı veya yüksek penetranslı dominant hastalık düşündüren çoklu nesil etkilenimi)
2. Büyüme geriliği
3. Şiddetli perianal hastalık ve bozulmuş yara iyileşmesi

4. Çoklu tedaviye dirençli İBH (Çoklu tedaviye dirençli İBH, yeterince iyi tanımlanmamış bir terimdir ve bu kohortta monogenik İBH'nin prevalansı ve klinik genomik verilerin etkisi veya faydası bilinmemesi nedeni ile bu durum tek başına genetik tarama gerektirmemektedir.)



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olgu Grubu

2016-2024 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversite Hastanesi Çocuk Gastroenteroloji kliniğinde inflamatuvar bağırsak hastalığı tanısı ile izlenen 130 hasta içerisinde, İBH bulguları 10 yaşından önce başlayan erken başlangıçlı İBH tanılı 16 olgu ile İBH bulguları 10 yaşından sonra başlayan ancak atipik/agresif hastalık seyri, tedavi direnci veya ailede İBH öyküsü olan 6 olgu olmak üzere toplam 22 olgu çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen olguların bilgileri, Hastane Bilgi Yönetim Sistemi'nden (Enlil HBYS), Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Çocuk Gastroenteroloji ve Hepatoloji Bilim Dalı dosya arşivinden geriye dönük olarak tarandı. Aileler ile iletişime geçilerek onamları alındı, soygeçmiş bilgileri ve pedigrileri güncellendi.

3.2. Moleküler Yöntemler

3.2.1. Tüm Ekzom Dizileme Verileri

Haziran 2016 – Aralık 2023 tarihleri arasında, MGI DNBSEQ-G40 cihazında Twist Human Core Exome capture kiti kullanılarak gerçekleştirilen tüm ekzom dizileme (TED), [*Whole Exome Sequencing* (WES)] çalışmaları sonucunda elde edilen ham veriler Genomize-Seq varyant analiz programına yüklendikten sonra, *Burrows-Wheeler Aligner* (BAW) ile *Genome Reference Consortium Human Build 37* (GRCh37/hg19) referans genomuna hizalandı. Varyant çağırma Freebayes ile; PCR duplikelerinin dışlanması Freebayes PCR dedup ile yapıldı.

Tüm Ekzom Dizileme Verilerinin Biyoinformatik Analizi

Tez kapsamına dahil edilen olguların TED verileri Genomize-Seq varyant analiz programında toplanarak biyoinformatik analizleri yapıldı. 22 olgunun 11'inde üçlü; 5'inde tekli; 3'ünde dördü; 3'ünde ikili TED analizi yapıldı. Okuma derinlikleri, kaplanan hedef bölge oranları, zigosite oranları, transisyon ve transversiyon oranları incelenerek dizileme verilerinin kalitesi değerlendirildi. Kalite kontrolü sonrası varyantlar, öncelikle her olgunun özgeçmişi ve klinik bulguları açısından *Human Phenotype Ontology* (HPO) terimleri kullanılarak fenotipik filtreleme ile soygeçmişi ve kalıtım paterni göz önünde bulundurularak değerlendirildi. Üçlü-TED çalışılan

olguların verileri Genomize-Seq varyant analiz programının sağladığı üçlü analiz ile değerlendirildi ve bu olgularda saptanan varyantlar için zigosite açısından filtreleme ve segregasyon analizi yapıldı.

Genomize-Seq varyant analiz programında VCF (*Variant Calling File*) formatında bulunan varyantların allel frekanslarını değerlendirmek için *Genome Aggregation Database* (gnomAD) *Exome Aggregation Consortium* (ExAC) ve *Turkish Varioma* popülasyon veritabanları kullanıldı. Anabilim dalımızın ve Genomize platformunun sağladığı isimsiz diğer merkezlerin verileri ile oluşturulan ‘in-house veri’ ile karşılaştırılarak sık saptanan varyantlar dışlandı. Varyantların değerlendirilmesinde *Single Nucleotide Polymorphism Database* (dbSNP), *The Human Gene Mutation Database* (HGMD), *Leiden Open Variation Database* (LOVD), ClinVAR, UniProt ve Infevers gibi veritabanlarındaki veriler dikkate alındı.

Varyantlar, mutasyon türlerine göre *missense*, erken durdurma kodonu oluşturan, çerçeve kayması meydana getiren, *splice* bölgesi, intronik ve sessiz varyantlar şeklinde sınıflandırıldı ve hastalık oluşturma mekanizmalarına göre işlev kaybı, işlev kazancı ve dominant negatif etkiler temelinde değerlendirildi. Hastalık yapıcı mekanizmanın bilinmediği genler için, işlev kaybı veya kazancı değişimlere toleransın değerlendirilmesi amacıyla pLI (*probability of being loss-of-function intolerant*), LOEUF (*loss-of-function observed / expected upper bound fraction*) ve pTriplo (*predicted probability of triplosensitivity*) skorları ile ClinGen (*Clinical Genome Resource*) Dozaj Sensitivitesi Kürasyonu çalışma grubunun haployetmezlik ve triplosensitivite verileri kullanıldı. *Missense* ve *splicingi* etkileyen varyantların patojenite tahminleri için *in silico* araçlar kullanıldı. *Missense* varyantlar için REVEL (*Rare Exome Variant Ensemble Learner*) aracı, *splice* bölgesi varyantları için *Human Splicing Finder* (HSF) aracı ve SpliceAI skorlaması kullanıldı.

Varyantların İsimlendirilmesi

Çalışmamızda saptanan varyantların genomik pozisyonlarının belirlenmesi ve isimlendirmesi GRCh37/hg19’a göre yapıldı. Varyantlar kanonik Ensembl transkriptlerindeki pozisyonları ile *Human Genome Variation Society* (HGVS) dizi varyant nomenklatürüne uygun olacak şekilde raporlandı.

Varyantların sınıflandırılması

Varyantların sınıflandırılmasında, ACMG'nin dizi varyantlarının sınıflandırma kılavuzu ve önerileri ve ClinGen Dizi Varyantı Yorumlama Çalışma Grubu'nun [Sequence Variant Interpretation Working Group (SVI WG)] düzenlediği modifiye ACMG kriterleri kullanıldı (111). ACMG kılavuzu, bir varyantın farklı özelliklerine göre patojenik ve benign etkiyi destekleyen kriterlerin kullanıldığı puanlama temelli bir sınıflama önermektedir. Patojenik etkiyi destekleyen kriterler Tablo 3.1'de, benign etkiyi destekleyen kriterler Tablo 3.2'de, puanlama tablosu ise Tablo 3.3'te ayrıntılandırılmıştır.

Tablo 3.1. Patojenik etkiyi destekleyen ACMG kriterleri

Kanıt düzeyi	Patojenik etkiyi destekleyici kriterler	
Çok güçlü	PSV1	Hastalık mekanizmasının işlev kaybı olduğu bilinen genlerde erken dur kodonu oluşturan, çerçeve kayması oluşturan varyantlar, kanonik ± 1 veya ± 2 uçbirleştirme bölgesi, başlangıç kodonu, tek ya da çoklu ekzon delesyonu varyantları
Güçlü	PS1	Aynı amino asit değişimine neden olan farklı bir patojenik varyantın varlığı
	PS2	Aile öyküsü olmayan probandda saptanan ve parental doğrulama yapılmış olan <i>de novo</i> varyant
	PS3	<i>In vivo/in vitro</i> fonksiyonel çalışmalar ile gen/gen ürününe ortaya çıkan zarar verici etkinin desteklenmesi
	PS4	Etkilenmiş bireylerdeki varyant prevalansının sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı olarak yüksek olması
Orta	PM1	Varyantın genin benign yanlış anlamlı varyantların bulunmadığı, patojenik yanlış anlamlı varyantların sık izlendiği iyi bilinen fonksiyonel domainde bulunması
	PM2	Popülasyon veritabanlarında varyantın kontrollerde bulunmaması ya da düşük frekansta bulunması
	PM3	Resesif kalıtılan hastalıklarda varyantın patojenik bir varyantla <i>trans</i> konumda saptanması
	PM4	Tekrarlamayan bölgelerde okuma çerçevesini bozmayan delesyon/insersiyonlar ya da dur kodonu kaybı ile proteininin uzunluğunun değişmesi
	PM5	Aynı rezidüde farklı bir amino asit değişimine neden olan patojenik varyant varlığı
	PM6	Aile öyküsü olmayan probandda saptanan ve parental doğrulama yapılmamış olan <i>de novo</i> varyant

Tablo 3.1. “Devam” Patojenik etkiyi destekleyen ACMG kriterleri

Kanıt düzeyi	Patojenik etkiyi destekleyici kriterler	
Destekleyici	PP1	Varyantın aile üyelerinde iyi segregasyon olması
	PP2	Yanlış anlamlı varyantların hastalık mekanizmasında rol oynadığı bilinen ve benign yanlış anlamlı varyant frekansı düşük olan bir gende saptanan yanlış anlamlı varyant
	PP3	<i>In silico</i> algoritmalar ile gen ya da gen ürünüde ortaya çıkan zarar verici etkinin desteklenmesi
	PP4	Hasta fenotipi veya aile öyküsünün tek bir genetik etiyoloji için spesifik olması
	PP5	Güvenilir kaynaklarca varyantın patojenik olarak bildirilmiş olması

PVS, *pathogenic very strong* (çok güçlü patojenik); PS, *pathogenic strong* (güçlü patojenik); PM, *pathogenic moderate* (orta patojenik); PP, *pathogenic supporting* (destekleyici patojenik)

2015 yılında yayınlanan ACMG dizi varyantlarını sınıflandırma kılavuzundan uyarlanmıştır (111).

Tablo 3.2. Benign etkiyi destekleyen ACMG kriterler

Kanıt düzeyi	Benign etkiyi destekleyici kriterler	
Tek başına yeterli	BA1	Popülasyon veritabanlarında allel frekansının $>5\%$ olması
Güçlü	BS1	Allel frekansının hastalığın görülme sıklığından yüksek olması
	BS2	Varyantın, sağlıklı bir yetişkin bireyde, erken yaşta penetransının tam olması beklenen resesif hastalık için homozigot, dominant hastalık için heterozigot, X'e bağlı kalıtılan hastalık için hemizigot oluşumda saptanması
	BS3	<i>In vivo/in vitro</i> fonksiyonel çalışmalar ile varyantın protein işlevi ya da uçbirleştirme üzerinde zarar verici etkisinin olmadığı gösterilmesi
	BS4	Varyantın aileden etkilenmiş bireylerinde segregasyon olmaması
Destekleyici	BP1	Güçük protein oluşturan varyantların hastalık mekanizmasında rol oynadığı bilinen bir gende saptanan yanlış anlamlı varyant
	BP2	Varyantın tam penetranslı dominant bir hastalık için patojenik bir varyant ile <i>trans</i> konumda bulunması veya herhangi bir kalıtım paterninde patojenik bir varyant ile <i>cis</i> konumda bulunması
	BP3	İşlevi bilinmeyen tekrar bölgelerinde yer alan çerçeveyi bozmayan delesyon veya insersiyon varyantları
	BP4	<i>In silico</i> algoritmalar ile gen ya da gen ürünü üzerinde hiçbir etki olmadığı desteklenmesi
	BP5	Hastalık için alternatif moleküler temeli olan bir olguda bulunan varyant
	BP6	Güvenilir kaynaklarca varyantın benign olarak bildirilmiş olması
	BP7	Uçbirleştirmeyi etkilemeyen ve yüksek korunmuş bölgede yer almayan sessiz varyantlar

BSA, *benign stand-alone* (tek başına benign); BS, *benign strong* (güçlü benign); BP, *benign supporting* (destekleyici benign)

2015 yılında yayınlanan ACMG dizi varyantlarını sınıflandırma kılavuzundan uyarlanmıştır (111).

Tablo 3.2. ACMG varyant puanlama tablosu

Varyant Sınıfı	Gerekli Kriterler
Patojenik	1 çok güçlü (PVS1) ve ≥ 1 güçlü (PS1-PS4) veya ≥ 2 orta (PM1-PM6) veya 1 orta (PM1-PM6) ve 1 destekleyici (PP1-PP5) veya ≥ 2 destekleyici (PP1-PP5) veya ≥ 2 güçlü (PS1-PS4) veya 1 güçlü (PS1-PS4) ve ≥ 3 orta (PM1-PM6) veya 2 orta (PM1-PM6) ve ≥ 2 destekleyici (PP1-PP5) veya 1 orta (PM1-PM6) ve ≥ 4 destekleyici (PP1-PP5)
Olası Patojenik	1 çok güçlü (PVS1) ve 1 orta (PM1-PM6) veya 1 güçlü (PS1-PS4) ve 1-2 orta (PM1-PM6) veya 1 güçlü (PS1-PS4) ve ≥ 2 destekleyici (PP1-PP5) veya ≥ 3 orta (PM1-PM6) veya 2 orta (PM1-PM6) ve ≥ 2 destekleyici (PP1-PP5) veya 1 orta (PM1-PM6) ve ≥ 4 destekleyici (PP1-PP5)
Klinik Önemi Belirsiz (VUS)	- Kriterlerin karşılanmaması veya - Benign ve patojenik kriterlerin çelişmesi
Olası Benign	1 güçlü (BS1-BS4) ve 1 destekleyici (BP1-BP7) veya ≥ 2 destekleyici (BP1-BP7)
Benign	1 tek başına (BA1) veya ≥ 2 güçlü (BS1-BS4)

2015 yılında yayınlanan ACMG dizi varyantlarını sınıflandırma kılavuzundan uyarlanmıştır (111).

Varyantların Raporlandırılması

Otozomal resesif kalıtmıli hastalıklarla ilişkili genlerde saptanan homozigot ve üçlü-TED analizi ile bileşik heterozigot oluşum saptanan; otozomal dominant kalıtmıli hastalıklarla ilişkili genlerde saptanan heterozigot patojenik/olası patojenik varyantlar raporlandı. Dominant ve resesif kalıtım gösteren hastalıklar ile ilişkili genlerde saptanan heterozigot varyantlar, bulunduğu domain, varyantın çeşidi, olası mekanizma ve literatür verileri ile değerlendirilerek raporlandı. Otozomal resesif kalıtmıli hastalıkla ilişkili genlerde saptanan heterozigot patojenik/olası patojenik varyantlar için karşı allelde tüm geni içeren veya gen içi delesyon/duplikasyonlar açısından mikrodizin verileri incelendi. İlgili gende veya kromozomal bölgede kopya sayısı değişimi saptanmaması durumunda, ilişkili hastalık klinik ve aile öyküsü için spesifik değilse varyant raporlandırılmadı. X'e bağıli kalıtım gösteren genlerde saptanan patojenik/olası patojenik varyantlar için hastalığın kadınlardaki penetransı ve ekspresivitesi değerlendirilerek X'e bağıli resesif hastalıklarda saptanan varyantlar

kadın olgularda raporlanmadı. X'e bağılı tam penetranslı ve değışken ekspresiviteli hastalıklarda ilişkili fenotipe göre karar verildi. Erkek olgularda saptanan hemizigot patojenik/olası patojenik varyantlar raporlandı.

Üçlü-TED verisi olan olgularda otozomal resesif kalıtmımlı bir hastalık geninde iki veya daha fazla olan varyantlar, otozomal dominant kalıtmımlı bir hastalık geninde heterozigot ve X'e bağılı kalıtmımlı bir hastalık geninde hemizigot oluşumda saptanan varyantlar için segregasyon değerlendirildi. *De novo* oluşumdaki varyantların değerlendirilmesinde ACMG kriterleri ve ClinGen Dizi Varyant Yorumlama Çalışma Grubu tarafından geliştirilen modifiye ACMG kriterleri kullanıldı (112). Parental segregasyonla *de novo* olduğu gösterilen ve kriterler ile patojenik/olası patojenik olarak değerlendirilen varyantlar raporlandı. Klinik bulgular ile ilişkili olan ancak eksik penetrans ve değışken ekspresivite gösteren genlerdeki heterozigot varyantlar raporlandı. *De novo* olmayan veya segregasyon analizi yapılamayan varyantlar için aile bireylerinden özgün varyant analizi planlandı. Otozomal resesif hastalıklar ile ilişkili genlerde saptanan homozigot veya bileşik heterozigot klinik önemi belirsiz varyantlar, aile öyküsü ve klinik bulgular ilişkili fenotip için spesifik değilse raporlanmadı.

Klinik Önemi Belirsiz Genlerdeki Varyantların Değerlendirilmesi

Morbid olduğu kesin kanıtlanmamış klinik önemi belirsiz genlerde [*gene of uncertain significance* (GUS)] saptanan varyantlar ACMG önerileri ile klinik önemi bilinmeyen varyant olarak sınıflandırıldı ve raporlanmadı (111).

İkincil Bulgular

Saptanan ikincil varyantlar, ACMG İkincil Bulgular Çalışma Grubu tarafından düzenlenen kılavuz göz önünde bulundurularak raporlandı. Bu kılavuzda yer alanlar dışındaki erişkin başlangıçlı hastalıklar ile ilişkili varyantlar raporlanmadı (113).

3.2.2. Mikrodizin Verileri

Mikrodizin çalışmaları Haziran 2016 – Aralık 2023 tarihleri arasında Infinium Global Screening Array with Cytogenetics-24 v1.0 BeadChip 700K (Illumina Inc, USA) kiti kullanılarak iScanSystem cihazında gerçekleştirildi.

Mikrodizin Verilerinin Biyoinformatik Analizi

Çalışmaya dahil edilen olguların mikrodizin verilerinin biyoinformatik analizi, GRCh37/hg19 genom versiyonuna sahip Bionano NxClinical yazılım programı ile yapıldı. CNV (*Copy Number Variation*) ve BAF (*B-Allele Frequency*) kalite skorları <0.05 olarak saptanarak verilerin analiz edilebilir olduğu teyit edildi. Üretici firmanın önerisi doğrultusunda prob sayısı 10 ve üzerinde olan CNV'ler analiz edildi.

2018 Avrupa Konstitüsyonel Sitogenomik Analiz Kılavuzu önerileri doğrultusunda 200 Kb'dan büyük kopya sayısı değişimleri (CNV) dikkate alındı (114). 200 Kb'dan küçük CNV'ler, gen içeriğine göre klinik önemleri açısından değerlendirildi ve anlamlı olabilecek varyantlar için ek tetkikler (RT-PCR, MLPA) ile doğrulama planlandı.

Genomik damgalama (*imprinting*) hastalıkları ile ilişkili genleri içeren kromozom bölgelerinde (6q24, 7p11.2-p12, 7q32.2, 11p15.5, 14q32.2, 15q11-q13, 20q13.3) saptanan kesintisiz 10 Mb'dan büyük heterozigotisme kayıpları (LOH/AOH) uniparental dizomi (UPD) açısından değerlendirildi. Olgularda saptanan 1 Mb'dan büyük homozigotisme alanları, ekzom verileriyle bu kromozomal bölgeler filtrelenerek otozomal resesif kalıtmı hastalıklar açısından detaylı şekilde incelendi (115).

Mikrodizin Verilerinin Sınıflandırılması ve Raporlandırılması

Saptanan kopya sayısı değişimleri (CNV), 2020 yılında ACMG ve ClinGen'in ortak görüşü ile oluşturulan konstitüsyonel kopya sayısı değişimlerinin yorumlanması ve raporlanmasına ilişkin teknik standartlar ve önerilere göre sınıflandırıldı (116). Saptanan CNV'ler bu kriterlere göre, CNV boyutu, içerdikleri genler, bu genlerin hastalık yapıcı mekanizmaları, ClinGen haployetmezlik/triplosensitivite verileri, UCSC Genome Browser (*University of California, Santa Cruz*), ClinVar, DECIPHER (*DatabasE of genomC varIation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources*), DGV (*Database of Genomic Variants*) veritabanları ve literatür verileri ile birlikte incelendi. Anabilim dalımızın verileri ile oluşturulan *in-house* veriler ile karşılaştırılarak sık saptanan CNV'ler ve kriterlere göre benign/olası benign olarak sınıflandırılan CNV'ler dışlandı. Klinik ile ilişkili genleri içeren patojenik, olası patojenik veya klinik önemi belirsiz kopya sayısı değişimleri raporlandı.

İkincil Bulgular

ACMG İkincil Bulgular Çalışma Grubu tarafından düzenlenen kılavuzda raporlandırılması önerilen genlerin hastalık oluşum mekanizmaları ve dozaj sensitivite skorları göz önünde bulundurularak patojenik/olası patojenik CNV'ler raporlandı (113).

3.3. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler, IBM SPSS sürüm 30.0 istatistik yazılım programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler verilirken, kategorik değişkenler için sayı ve yüzde (%); sayısal değişkenler için ise ortalama $\pm$ standart sapma, minimum, maksimum ve ortanca (*interquartile range*-IQR) değerleri kullanıldı.

Bu çalışma, T.C. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı tarafından, 27.02.2024 tarihinde, 15 sayılı kararla onaylanmıştır.

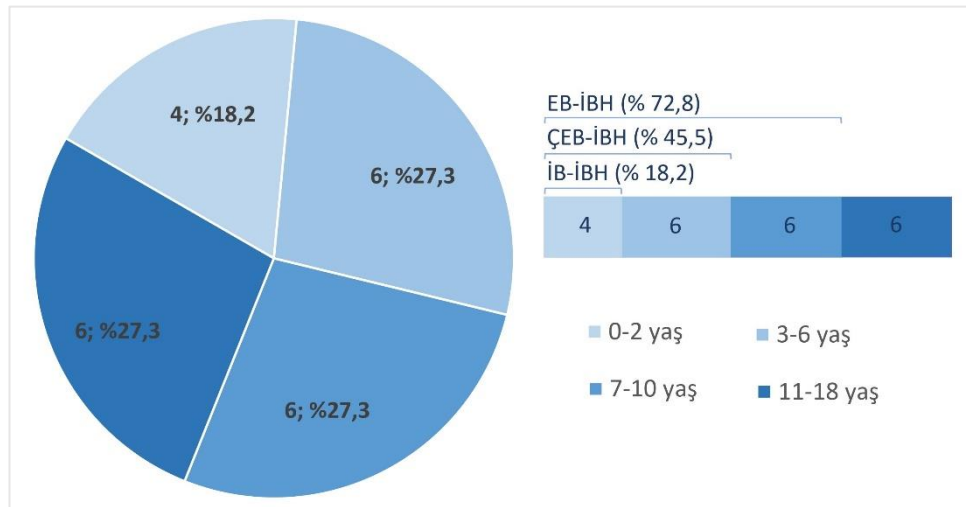
4. BULGULAR

4.1. Tanımlayıcı Bulgular

Çalışmamızdaki olguların yaş ortancası 11,5 (IQR 8,5-14,75); İBH tanı yaşı ortancası 8,5 (5,25-11,75); İBH başlangıç yaşı ortancası ise 7,5 (IQR 5-11,5) yıl olarak saptandı. Olguların %40,9'u (9/22) erkek, %59,1'i (13/22) kadındı. Çalışmaya dahil edilen olguların %45,5'i (10/22) ÜK, %22,7'si (5/22) CH ve %31,8'i (7/22) S-İBH tanılı idi (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Olguların demografik bulguları ve tanıları

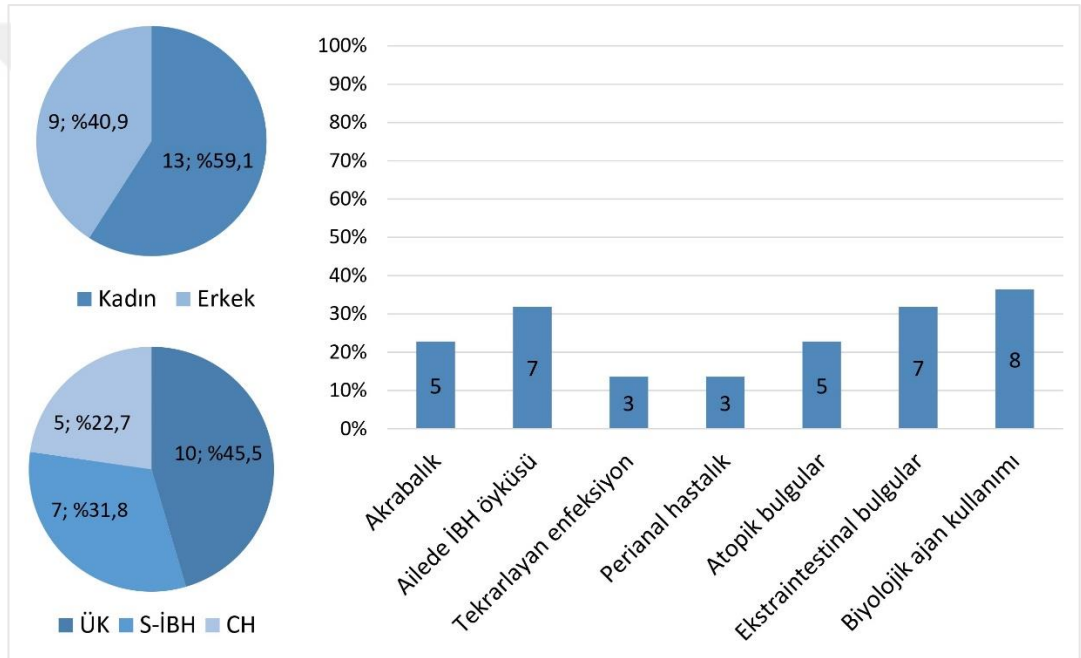
		Ortalama $\pm$ SS (Min-Maks)	Ortanca (IQR)
Yaş (Yıl)		11,5 $\pm$ 4,3 (5-18)	11,5 (8,5-14,75)
Başlangıç Yaşı		8 $\pm$ 4,8 (1-17)	7,5 (5-11,5)
Tanı Yaşı		8,5 $\pm$ 4,7 (1-17)	8,5 (5,25-11,75)
n (%)			
Cinsiyet	Erkek	9 (40,9)	
	Kadın	13 (59,1)	
Tanı	Ülseratif kolit	10 (45,5)	
	Crohn hastalığı	5 (22,7)	
	S-İBH	7 (31,8)	



Şekil 4.1. Olguların İBH başlangıç yaşına göre dağılımı

Olguların %72,8'inde İBH, erken başlangıçlıydı (16/22). İBH başlangıcı, olguların %18,2'sinde 0-2 yaş (infantil başlangıçlı) (4/22), %27,3'ünde 3-6 yaş (6/22), %27,3'ünde 7-10 yaş (6/22), %27,3'ünde 10-18 (6/22) yaş aralığındaydı (Şekil 4. 1.).

Olguların soygeçmişleri incelendiğinde, %77,3'ünde ebeveynler arasında akrabalık olmadığı (17/22) ve bu olgulardan birinin ebeveynlerinin aynı köyden, bir diğerinin ise yakın köylerden olduğu öğrenildi. Olguların %22,7'sinde (5/22), ebeveynler arasında 1. derece (3/22), 1.5 derece (1/22) veya 2. derece (1/22) kuzen evliliği olduğu ve %31,8'inde (7/22) ise ailede İBH öyküsü olduğu öğrenildi (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Kohort özelliklerinin yüzdelik oranları

Olguların %13,6'sında perianal hastalık (3/22); %13,6'sında tekrarlayan enfeksiyon (3/22); %22,7'sinde atopik hastalık (5/22); %31,8'inde ekstraintestinal bulgular saptandı (7/22). Olguların %36,4'ünde (8/22) tedavide biyolojik ajan kullanımı mevcuttu (Şekil 4.2.). Takipten çıkan O1 hariç olguların tümü Tablo 4.2.'de belirtilen tedavi rejimleri altında remisyondaydı.

Tablo 4.2. Olguların klinik bulguları ve tedavileri

Olgular	Cinsiyet	Başlangıç yaşı	Yaş grubu	Tanı	Ailede İBH öyküsü	Akrabalık	Perianal hastalık	Ekstraintestinal bulgular	Tekrarlayan enfeksiyon	Atopik hastalık	Tedavi	Tedavi yanıtı
O1 ¹	K	1	İB-İBH	S-İBH	-	aynı köy	-	-	+	AD	PRE, MES, İVİG	takipsiz
O2	K	1	İB-İBH	S-İBH	-	yakın köy	-	aftöz stomatit DEA	-	-	AZA, MES, KOL, ANA	R
O3	K	2	İB-İBH	S-İBH	-	-	-	-	-	-	AZA	R
O4 ²	K	2	İB-İBH	S-İBH	+	2. DK	-	-	+	AD	PRE, AZA, MES, IFX, İVİG	R
O5	K	4	ÇEB-İBH	S-İBH	-	-	-	-	-	-	AZA, MES, KOL	R
O6	K	5	ÇEB-İBH	ÜK	-	1. DK	-	-	-	-	AZA, MES	R
O7	E	5	ÇEB-İBH	CH	-	-	+	-	-	AD	AZA, IFX	R
O8	E	6	ÇEB-İBH	ÜK	+	-	-	-	-	-	PRE, AZA, MES	R
O9	E	6	ÇEB-İBH	ÜK	+	-	-	PSK	-	-	MES, IFX, UDCA	R
O10	E	6	ÇEB-İBH	S-İBH	-	-	-	PSK	-	-	PRE, AZA, MES, UDCA	R
O11	E	7	EB-İBH	ÜK	-	-	-	-	-	alerji	AZA, MES, KOL	R
O12	K	9	EB-İBH	ÜK	-	-	-	sakroileit	-	-	AZA, SSZ	R
O13	K	8	EB-İBH	ÜK	-	-	-	-	-	-	PRE, AZA, MES	R
O14	K	10	EB-İBH	ÜK	+	1.5 DK	-	-	-	-	PRE, AZA, MES	R
O15	K	10	EB-İBH	ÜK	+	-	-	-	-	-	MES, IFX, CURCUMIN	R
O16	K	10	EB-İBH	CH	-	1. DK	+	-	-	-	ADA	R
O17	E	12	P-İBH	ÜK	+	-	-	-	-	-	PRE, MES	R
O18	E	12	P-İBH	CH	-	-	+	-	-	-	ADA, MTX	R
O19	E	13	P-İBH	CH	-	-	-	OİH	+	-	PRE, IFX, UDCA	R
O20	K	15	P-İBH	ÜK	-	-	-	PSK İTP	-	-	PRE, AZA, MES, KOL, IFX, UDCA	R
O21	E	17	P-İBH	S-İBH	-	-	-	PSK OİH	-	-	PRE, AZA, MES, UDCA	R
O22	K	17	P-İBH	CH	+	1. DK	-	-	-	astım	BUDESONİD	R

AD, Atopik Dermatit; ADA, Adalimumab; ANA, Anakinra; AZA, Azatioprin; CH, Crohn Hastalığı; ÇEB-İBH, Çok Erken Başlangıçlı İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı; DEA, Demir Eksikliği Anemisi; DK, Derece Kuzen; E, Erkek; IFX, İnfliksımab; İB-İBH, İnfanıl Başlangıçlı İBH; İTP, İmmün Trombositopeni; İVİG, İntravenöz İmmünglobulin; K, Kadın; KOL, Kolşisin; OİH, Otoimmün Hepatit; MES, Mesalalmin; MTX, Metotreksat; P-İBH, Pediatrik İBH; PRE, Prednizolon; PSK, Primer Sklerozam Kolanjit; R, Remisyon; S-İBH, sınıflandırılmayan İBH; SSZ, Sülfasalazin; UDCA, Ursodeoksikolik asit; ÜK, Ülseratif Kolit

¹Hemofagositik lenfositosis, minor fasiyal dismorfizm, impetiginöz cilt lezyonları

²Özefageal darlık

4.2. Moleküler Bulgular

Çalışmamızda, 22 olgunun 11'unda tüm ekzom analizinde İBH ile ilişkili genlerde olası patojenik/patojenik ve/veya klinik önemi belirsiz varyantlar saptandı. Altı olguda İBH ilişkili moleküler etiyojoloji saptanarak, pediatrik İBH olgularında TED analizinin çalışmamızdaki tanı gücü %27,3 olarak bulundu (6/22). Olguların mikrodizin analizlerinde İBH ilişkili genleri içeren kromozomal bölgelerde anlamlı kopya sayısı değişimi saptanmadı. Olgularda saptanan homozigosite bölgeleri ekzom verisi ile değerlendirildiğinde klinik ile ilişkili olabilecek anlamlı varyant saptanmadı.

TED analizinde saptanan 15 varyanttan 4'ü, daha önce literatürde tanımlanmamış, *novel* varyantlardı. Saptanan 15 varyantın 2'si patojenik, 3'ü olası patojenik olmak üzere toplam 5 varyantın patojenite sınıflandırması aksiyon alınabilir nitelikte iken diğer 10 varyantın sınıflandırması klinik önemi belirsiz olarak belirlendi. ACMG'ye göre patojenik ve olası patojenik olarak sınıflandırılan varyantların üçü erken durdurma kodonu oluşturan *nonsense*, biri amino asit kaybı oluşturan biri çerçeve içi delesyon, biri ise farklı amino asit kodonu oluşturan *missense* mutasyondur. Tablo 4.3.'te saptanan patojenik varyantlar ve ilişkili oldukları fenotipler özetlenmiştir.

Tablo 4.3. İBH ilişkili genlerde saptanan patojenik ve olası patojenik varyantlar

Olgu	Gen Transkript	Varyant	Zigosite	Varyant Tipi	İlişkili Fenotip	Patojenite
O1	PEPD ENST00000244137. 7	c.157G>T p.Glu53Ter <i>novel</i>	homozigot	<i>nonsense</i>	Prohidaz eksikliği MIM #170100 OR	Olası Patojenik
	TNFRSF13B ENST00000261652. 2	c.586C>T p.Gln196Ter <i>novel</i>	heterozigot	<i>nonsense</i>	Yaygın değişken immün yetmezlik 2 MIM #240500 OD/OR	Olası Patojenik
O4	CARMIL2 ENST00000334583. 6	c.1109C>A p.Ser370Ter	homozigot	<i>nonsense</i>	İmmün yetmezlik 58 MIM #618131 OR	Patojenik
O19	XIAP ENST00000371199. 3	c.612_614del p.Gly205del	hemizigot <i>de novo</i>	çerçeve içi delesyon	X'e bağlı lenfoproliferat if sendrom 2 MIM #300635 XLR	Olası Patojenik

Tablo 4.3. “Devam” İBH ilişkili genlerde saptanan patojenik ve olası patojenik varyantlar

Olgu	Gen Transkript	Varyant	Zigosite	Varyant Tipi	İlişkili Fenotip	Patojenite
O2	MEFV ENST000002195 96.1	c.2080A>G p.Met694Val	homozigot	missense	Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) MIM #249100 OR MIM #134610 OD	Patojenik
O11		c.2080A>G p.Met694Val	heterozigot (maternal)			
O20		c.2080A>G p.Met694Val	heterozigot (paternal)			

Uluslararası İmmünoloji Toplulukları Birliği [*International Union of Immunological Societies (IUIS)*] Doğuştan Bağışıklık Bozuklukları Sınıflandırması 2022’ye göre değerlendirildiğinde, olası patojenik/patojenik varyant saptanan genler ile ilişkili fenotiplerin Tablo 4.4.’te ayrıntılandırıldığı gibi otoinflamatuvar hastalık, immün disregülasyon hastalıkları ve antikor eksikliği gruplarında olduğu görüldü (117,118).

Tablo 4.4. Olgularda saptanan hastalıkların IUIS sınıflandırılması

IUIS Sınıfı – alt grubu		Gen	Hastalık	Olgu
İmmün Disregülasyon Hastalıkları	Hemofagositik lenfhistiositoz ve/veya Epstein-Barr virüs enfeksiyonu yatkınlığı	<i>XIAP</i>	XIAP eksikliği	O19
		<i>CARMIL2</i>	CARMIL2 eksikliği	O4
	Otoimmünitenin eşlik ettiği hastalıklar	<i>PEPD</i>	Prolidaz eksikliği	O1
Antikor Eksiklikleri	Yaygın değişken immün yetmezlik	<i>TNFRSF13B</i>	TACI eksikliği	
Otoinflamatuvar Hastalıklar	İnflamazom defekti	<i>MEFV</i>	Ailesel Akdeniz Ateşi	O2 O11 O20

Sekiz olguda ACMG patojenite sınıflandırılması klinik önemi belirsiz olan varyantlar saptandı. Bu varyantların 8’i *missense* mutasyon, biri kanonik *splice* bölgesi mutasyonu idi. Üç olguda, tanımlanan patojenik varyantların yanı sıra, O2 ve O20’de bir; O11’de iki gende olmak üzere klinik önemi belirsiz varyantlar saptandı. O3, O5,

O7 ve O16'da tek gende, O15'da üç gende olmak üzere toplam 5 olguda sadece klinik önemi belirsiz varyantlar saptandı. O7'de bir gende 3 farklı *missense* varyant saptandı. Bu varyantların detayları ve ilişkili olduğu fenotipler Tablo 4.5.'te belirtilmiştir.

Tablo 4.5. İBH ilişkili genlerde saptanan klinik önemi belirsiz varyantlar

Gen Transkript	Olgu	Varyant	Varyant Tipi	Zigosite	İlişkili Fenotipler
<i>PLCG2</i> ENST00000359376.3	O2	c.304A>T p.Thr102Ser	<i>missense</i>	heterozigot (maternal)	Otoinflamasyon, antikor eksikliği ve immün düzensizlik sendromu (MIM #614878) OD Ailesel soğuk ilişkili otoinflamatuvar sendrom 3 (MIM #614468) OD
<i>MEFV</i> ENST00000219596.1	O3	c.442G>C p.Glu148Gln	<i>missense</i>	heterozigot (paternal)	FMF (MIM #249100) OR (MIM #134610) OD
	O5			homozigot	
	O7			heterozigot (maternal)	
	O15			heterozigot	
	O7	c.1223G>A p.Arg408Gln	<i>missense</i>	heterozigot (paternal)	
	O7	c.1105C>T p.Pro369Ser	<i>missense</i>	heterozigot (paternal)	
<i>CARD8</i> ENST00000391898.3	O11	c.1375C>T p.Arg459Trp	<i>missense</i>	heterozigot	İnflamatuvar bağırsak hastalığı (Crohn hastalığı) 30 (MIM #619079) OD
<i>CARD11</i> ENST00000396946.4	O11	c.207G>C p.Lys69Asn <i>novel</i>	<i>missense</i>	heterozigot	Atopik dermatit ile immün yetmezlik 11B (MIM #617638) OD NFKB ve T hücre anerjisi ile B hücre ekspansiyonu (MIM #616452) OD İmmün yetmezlik 11A (MIM #615206) OR

Tablo 4.5. “Devam” İBH ilişkili genlerde saptanan klinik önemi belirsiz varyantlar

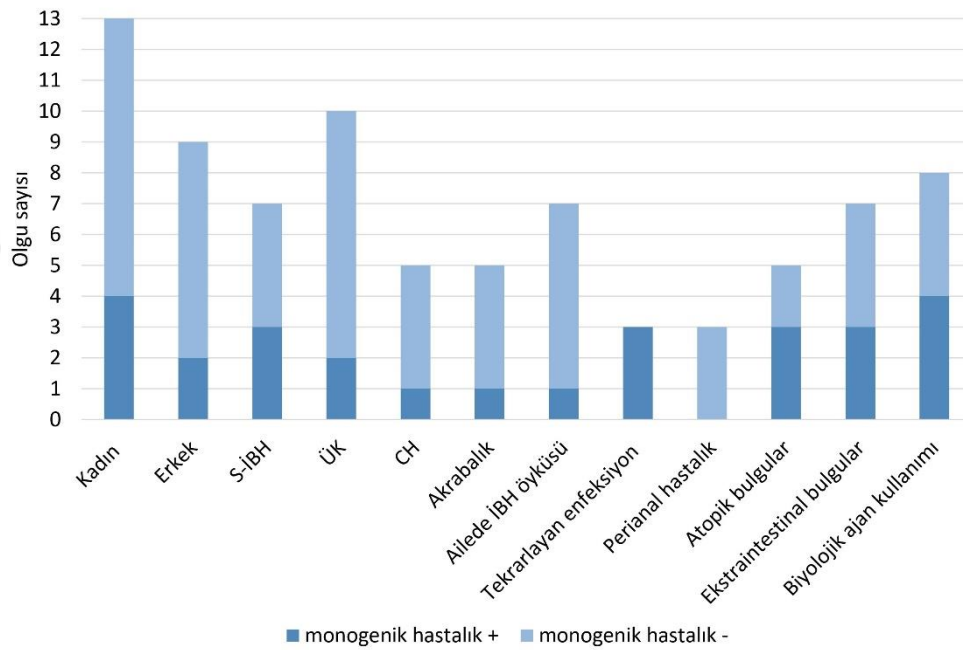
Gen Transkript	Olgu	Varyant	Zigosite	Varyant Tipi	İlişkili Fenotipler
<i>NLRP3</i> ENST00000336119.3	O15	c.598G>A p.Val200Met	heterozigot	<i>missense</i>	Ailesel soğuk inflamatuvar sendrom 1 MIM #120100 OD CINCA sendromu MIM #607115 OD Otozomal dominant sağırılık 34 +/- inflamasyon MIM #617772 OD Keratoendotelit fugaks MIM #148200 OD Muckle-Wells sendromu MIM #191900 OD
<i>NOD2</i> ENST00000300589.2	O16	c.1087A>T p.Ile363Phe	homozigot	<i>missense</i>	İnflamatuvar bağırsak hastalığı 1, Crohn hastalığı MIM #266600
<i>IFIH1</i> ENST00000263642.2	O20	c.2807+1G>A	heterozigot (maternal)	kanonik <i>splice</i> bölgesi	İmmün yetmezlik 95 MIM #619773 OR Aicardi-Goutieres sendromu 7 MIM #615846 OD Singleton-Merten sendromu 1 MIM #182250 OD

O15’te İBH ilişkili genlerdeki VUS varyantlara ek olarak, bir aday gende, tablo 4.6’da detaylandırılan çoklu baz insersiyonu sonucu çerçeve kayması oluşturan bir varyant saptandı. Bu varyant ACMG’nin önemi belirsiz gen (GUS) varyantları açısından önerileri doğrultusunda klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırıldı.

Tablo 4.6. Klinik önemi bilinmeyen aday gende saptanan varyantın ayrıntıları

Gen Transkript	Varyant	Zigosite	Varyant Tipi	Patojenite
SARM1 ENST00000585482.6	c.1781_1782insTCAAT p.Glu594AspfsTer3	heterozigot	çerçeve kayması	VUS

Monogenik hastalık saptanan olgularda başlangıç yaşı minimum, maksimum ve ortancası sırası ile 1, 15 ve 11,5 yıldır (IQR 6,25-14,5). Tanı alan altı olgunun üçünde (%50) semptomların 2 yaşından önce; üçünde (%50) ise 6 yaşından sonra başladığı saptandı. Monogenik hastalık saptanan altı olgudan dördü (%66,6) kadın, ikisi (%33,3) erkekti. Monogenik hastalık tanısı alan olguların üçü (%50) S-İBH, ikisi (%33,3) ülseratif kolit, biri (%16,7) CH tanılıydı.



Şekil 4.3. Özelliklerine göre monogenik hastalık saptanan olgu sayıları

İBH başlangıç yaşı 0-2 yaş aralığında olan olguların %75'inde (3/4); 3-6 yaş arasındakilerin hiçbirinde (0/6); 7-10 yaş aralığındaki olguların %16,7'sinde (1/6); 11-18 yaş aralığındaki olguların ise %33,3'ünde (2/6) monogenik hastalık saptandı. Dolayısıyla infantil başlangıçlı İBH grubunun %75'inde (3/4); ÇEB-İBH grubunun %30'unda (3/10); EB-İBH grubunun %25'inde (4/16); tüm olguların %27,3'sinde

(6/22) monogenik hastalık saptandı. Kohorttaki erkeklerin %22,2'si (2/9), kadınların %30,8'si (4/13) moleküler tanı aldı. S-İBH tanılı olguların %42,9'i (3/7), ÜK tanılı olguların %20'si (2/10) CH tanılı olguların %20'si (1/5) monogenik İBH tanısı aldı. Akrabalık öyküsü olan beş olgunun birinde (%20); ailede İBH öyküsü olan yedi olgunun birinde (%14,3) monogenik İBH saptandı. Tekrarlayan enfeksiyon öyküsü olan olguların hepsi monogenik İBH tanısı aldı (3/3); perianal apse ve/veya fistülü olan olguların ise hiçbirinde patojenik/olası patojenik varyant saptanmadı (0/3). Atopik bulguları olan olguların %60'ında (3/5); ekstraintestinal bulguları olan olguların %42,9'unda (3/7); biyolojik ajan kullanımı olan olguların %50'sinde (4/8) monogenik İBH saptandı (Şekil 4.3.).

4.3. Olgular

Olgu 1 (O1)

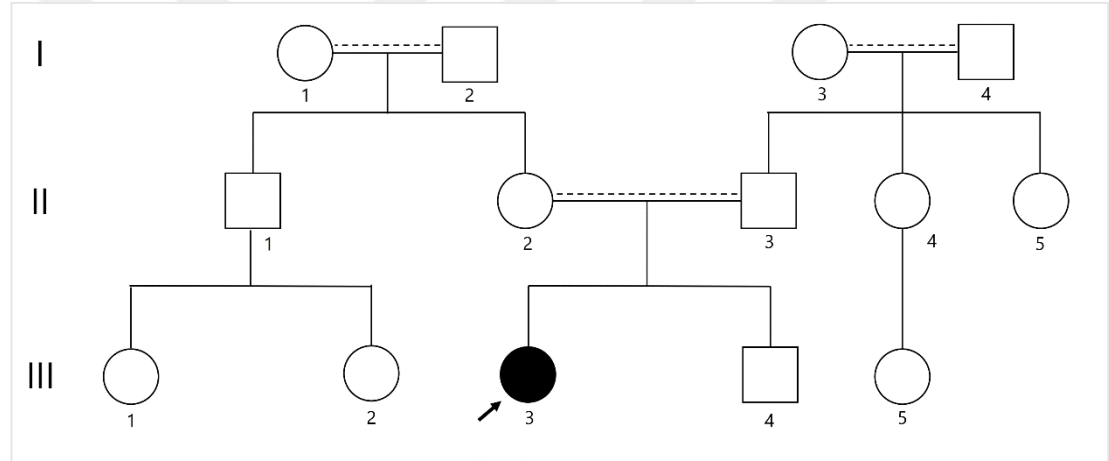
Özgeçmiş: Prenatal takiplerinde özellik olmayan, 37. gestasyonel haftada normal spontan vajinal yolla doğan ve doğumundan beri sulu ishali olan olgu, 3 aylık iken huzursuzluk, beslenememe ve idrarda azalma şikayetleri ile başvurdu. Fizik muayenesinde splenomegaliye ek olarak belirgin alın, ekzoftalmos, kısa burun, basık burun kökü, dolgun yanaklar, derin filtrum ve ince dudaklar gibi minör dismorfik bulgular gözlemlendi. Yatışı sırasında konjenital CMV enfeksiyonu ve HLH tanısı alan olgunun tedavi sonrası takibinde kronik, ara ara kanlı ishali olması nedeni ile İBH açısından değerlendirildi. Endokolonoskopi ve histopatolojik bulguları ile olgu infantil başlangıçlı S-İBH tanısı aldı. Atopik dermatit ve tekrarlayan bronşit, otit, moniliazis, fronkül öyküsü olan olgunun lenfosit alt grupları ve immünglobulin düzeyleri yaşa göre normal aralıkta saptandı. Olguya prednizolon, mesalamin ve intravenöz immünglobulin (İVİG) tedavisi başlandı. YDIY açısından İmmünoloji Bölümü takibinde izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynlerinin aynı köyden olduğu ancak aralarında bilinen akrabalık olmadığı ve ailede benzer hastalık öyküsü olmadığı öğrenildi (Şekil 4.4.).

Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlandı. TED analizinde *PEPD* (*Peptidase D*, 19q13.11 lokusu) ve *TNFRSF13B* (*Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily, Member 13B*, 17p11.2 lokusu) genlerinde Tablo 4.7.'de detaylandırılan varyantlar saptandı.

Tablo 4.7. O1 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSp	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
PEPD	ENST00000244137.7 c.157G>T ENSP00000244137.5 p.Glu53Ter	-	Homozigot (0/51)	Prolidaz eksikliği (MIM #170100) OR	Olası Patojenik
TNFRSF13B	ENST00000261652.2 c.586C>T ENSP00000261652.2 p.Gln196Ter	-	Heterozigot (55/44)	Yaygın değişken immün yetmezlik 2 (MIM #240500) OD/OR	Olası Patojenik

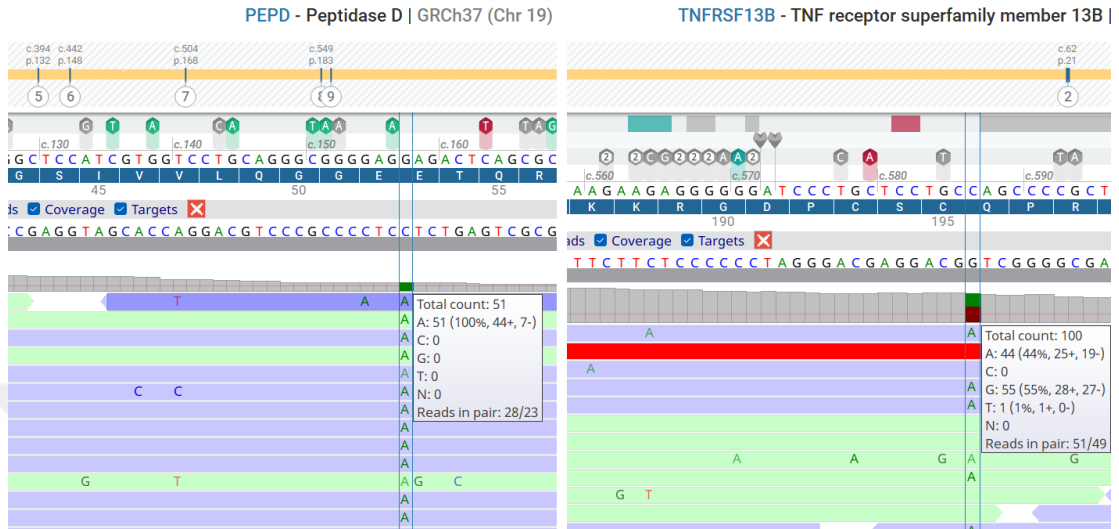


Şekil 4.4. O1 pedigri

PEPD geninde saptanan c.157G>T varyantı popülasyon veritabanlarında bulunmayan ve literatürde daha önce tanımlanmamış *novel* bir varyanttır (PM2). Varyant, primer hastalık yapıcı mekanizmanın işlev kaybı olduğu bilinen *PEPD* geninin 15 ekzonlu kanonik transkriptinin 2. ekzonda erken durdurma kodonu oluşturmaktadır (PVS1). ACMG kriterleriyle değerlendirilen varyant “Olası Patojenik” olarak sınıflandırılmıştır.

TNFRSF13B geninde saptanan c.586C>T varyantı literatürde daha önce tanımlanmamış *novel* bir varyanttır ve popülasyon veritabanlarında bulunmamaktadır (PM2). Varyant, primer hastalık yapıcı mekanizmanın işlev kaybı olduğu bilinen *TNFRSF13B* geninin 5 ekzonlu kanonik transkriptinin 4. ekzonda erken durdurma

kodonu oluşturmaktadır (PVS1_S). ACMG kriterleriyle değerlendirilen varyant “Olası Patojenik” olarak sınıflandırılmıştır.



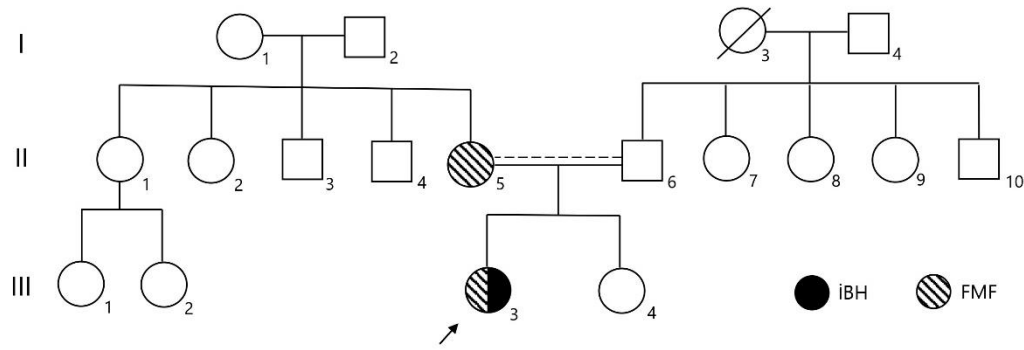
Şekil 4.5. O1 varyantlarının IGV görüntüsü

Olgu 2 (O2)

Özgeçmiş: Prenatal ve perinatal öyküsünde özellik olmayan olgu, 1 yaşından önce başlayan tekrarlayan ateş ve oral aft şikayetleri ile FMF tanısı aldı ve kolşisin tedavisi başlandı. 11 aylık iken kolşisin tedavisi altında tekrarlayan ateşi, kronik ishali ve artrit bulgusunun olması, akut faz reaktanlarının yüksek seyretmesi ve derin anemi saptanması nedeni ile yatırılarak kolonoskopik ve patolojik bulguları ile infantil başlangıçlı S-İBH tanısı aldı. Olgu azatioprin, mesalamin, kolşisin ve anakinra tedavisi ile remisyonda takip ediliyor.

Soygeçmiş: Ebeveynlerinin yakın köylerden olduğu ancak aralarında akrabalık olmadığı, annesinin FMF tanısı ile takip edildiği öğrenildi.

Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlandı. Üçlü-TED analizinde *MEFV* ve *PLCG2* (Phospholipase C Gamma-2, 16q23.3 lokusu) genlerinde Tablo 4.8.’de detaylandırılan varyant saptandı.



Şekil 4.6. O2 pedigrisi

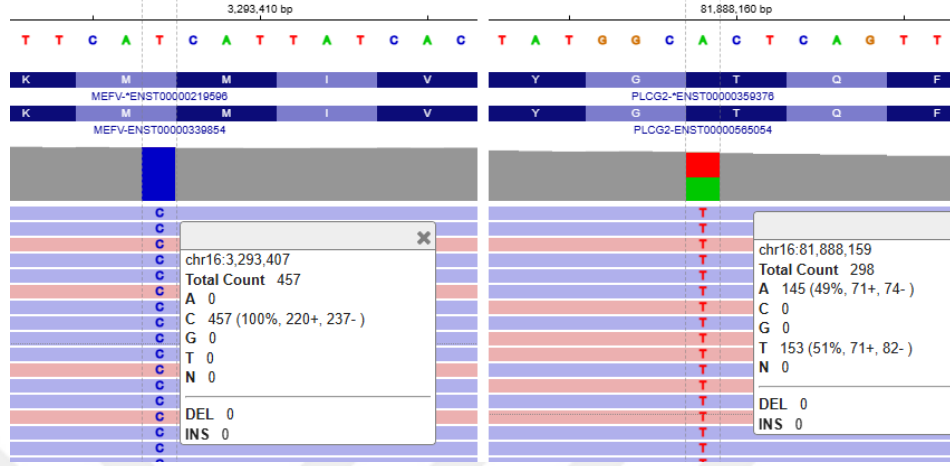
Tablo 4.8. O2 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSp	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
MEFV	ENST00000219596.1 c.2080A>G ENSP00000219596.1 p.Met694Val	rs6175271 7	Homozigot (0/457)	Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) (MIM #249100) OR	Patojenik
PLCG2	ENST00000359376.3 c.304A>T ENSP00000352336.3 p.Thr102Ser	rs9919654 95	Heterozigot Maternal (145/153)	Otoinflamasyon, antikor eksikliği ve immün düzensizlik sendromu (MIM #614878) Ailesel soğuk ilişkili otoinflamatuvar sendrom 3 (MIM #614468) OD	VUS

MEFV geninde saptanan c.2080A>G varyantı literatürde, ClinVar ve Infevers veritabanlarında patojenik olarak bildirilen iyi tanımlanmış bir varyanttır (PM3). Popülasyon veritabanlarında frekansı genellikle düşük olan (gnomAD-Max %0.0969, ExAC %0.0231, Turkish Variome %1.8006) bu varyant (PM2), patojenik varyantların sık izlendiği bir bölgede yer alır (PM1). Nükleotid değişiminden bağımsız olarak aynı amino asit dönüşümüne neden olan bir varyant (PS1) ve aynı rezidüde farklı bir missense değişime neden olan bir varyant (PM5) patojenik olarak yorumlanmaktadır. ACMG kriterleriyle değerlendirilen varyant “Patojenik” olarak sınıflandırılmıştır.

PLCG2 genindeki c.304A>T varyantı popülasyon veritabanlarında bulunmamaktadır (PM2) ve Clinvar veritabanında ise “VUS” olarak bildirilmiştir. İn

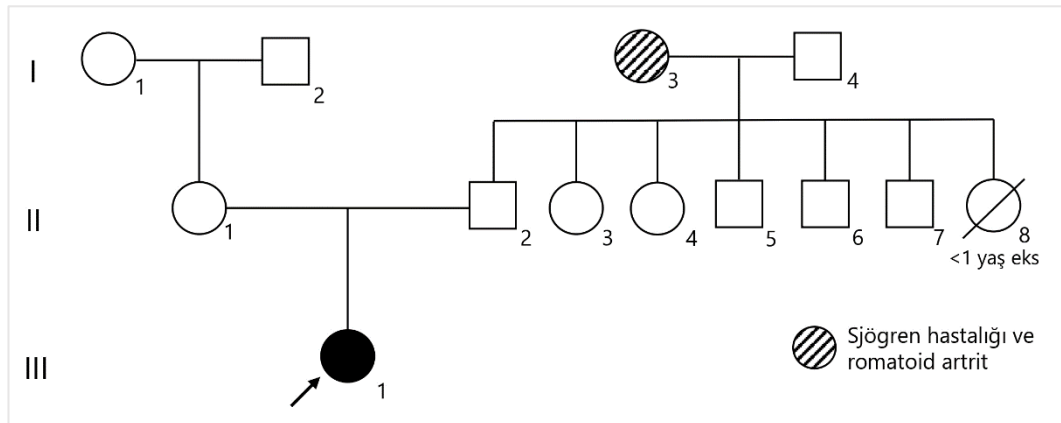
silico tahmin programları ile hastalık yapıcı etkisinin olmadığı öngörülmektedir (BP4). ACMG kriterleriyle değerlendirilen değişim “VUS” olarak sınıflandırılmıştır.



Olgu 3 (O3)

Özgeçmiş: Prenatal ve perinatal öyküsünde özellik olmayan ve bilinen hastalık öyküsü olmayan olgu, 22 aylık iken ağır anemi ve kanlı ishal şikayeti ile başvurdu. Kolonoskopi ve histopatoloji bulguları ile infantil başlangıçlı S-İBH tanısı aldı. İmmünolojik testlerde anomali saptanmadı. Olgu azatioprin ile remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynleri arasında akrabalık olmadığı, annesinde astım ve epilepsi, babaannesinde romatoid artrit ve Sjögren hastalığı olduğu öğrenildi.

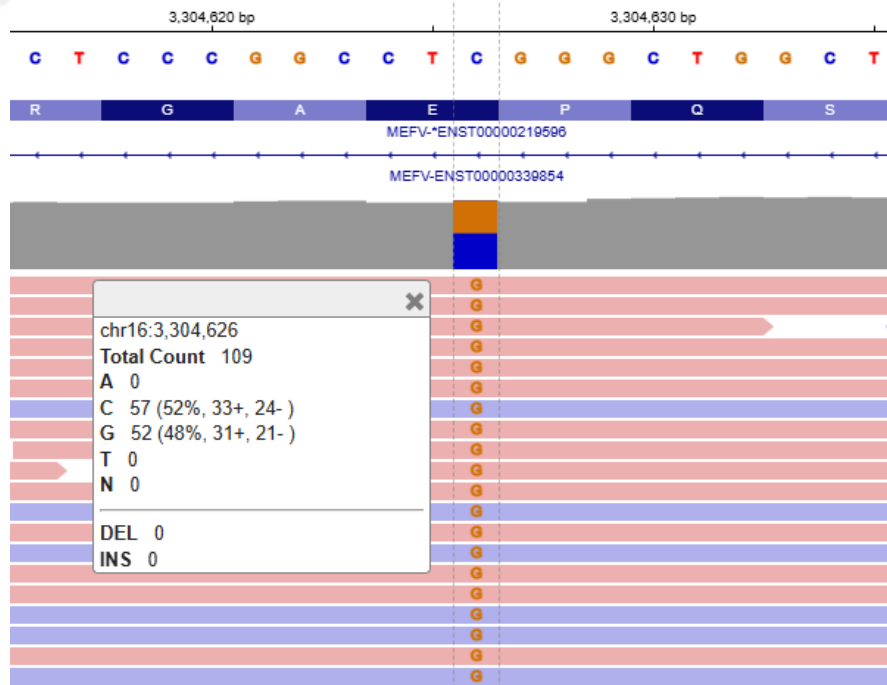


Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlandı. Üçlü-TED analizinde *MEFV* geninde Tablo 4.9.'da detaylandırılan varyant saptandı.

Tablo 4.9. O3 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSp	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
<i>MEFV</i>	ENST00000219596.1 c.442G>C	rs3743930	Heterozigot Paternal (0/497)	Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) (MIM #134610) OD	VUS
	ENSP00000219596.1 p.Glu148Gln				

MEFV geninde saptanan c.442G>C varyantı popülasyon veritabanlarında yüksek sıklıkta (GnomAD-Max %29.1506, ExAC %9.001, Turkish Variome %6.533) olarak yer almaktadır (BA1). Infervers veritabanında VUS, Clinvar veritabanında ise VUS [13], olası benign [5], benign [4] olarak bildirilen varyant, “patojenite sınıfı çelişkili” olarak tanımlıdır. ACMG kriterleri ile "VUS" olarak sınıflandırılmaktadır.

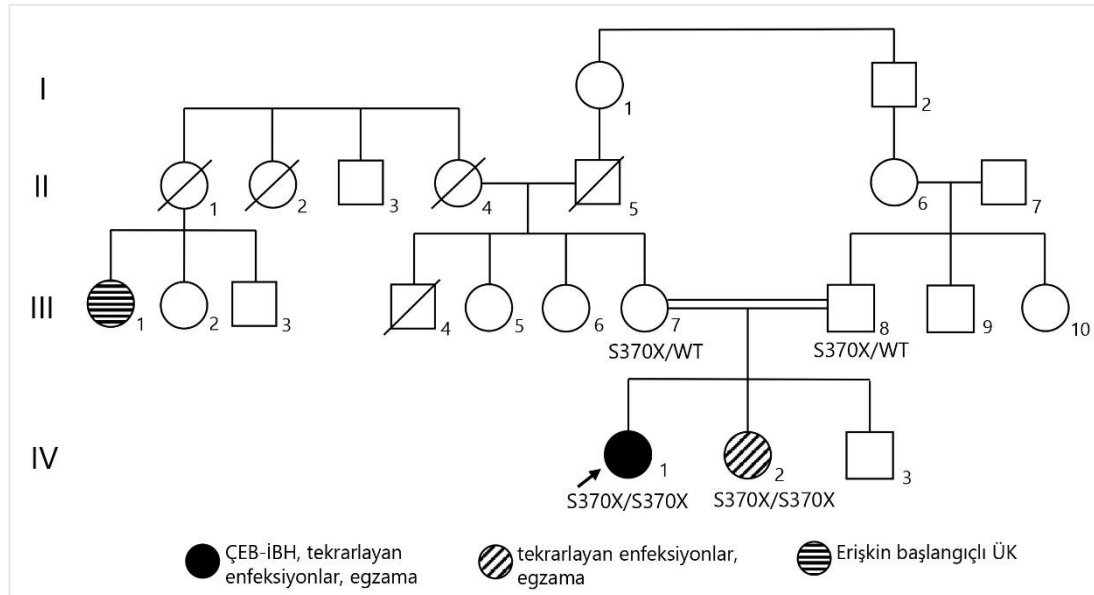


Şekil 4.9. O3 varyantının IGV görüntüsü

Olgu 4 (O4)

Özgeçmiş: Prenatal ve natal öyküsünde özellik olmayan, 18 aylık iken başlayan fişkırr tarzda kusma şikayeti ile başvuran olgunun takiplerinde kronik ishal ve ara ara gaitada kan görülmesi üzerine yapılan kolonoskopide rektumda ülserler izlendi. Olgu patolojik inceleme ile infantil başlangıçlı S-İBH tanısı aldı. Tekrarlayan kolit atakları, ara ara kulaklarının arkasında çıkan egzamatöz lezyonlar ve sık enfeksiyon öyküsü (üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları, zona, paronişi) olan olgunun immünolojik testlerinde patolojik bulgu saptanmadı. Takibinde endoskopide özofagus proksimalinde darlık saptanan olgunun, özofagus biyopsi histopatolojik incelemesinde lenfositik özofajit saptandı. Özofagus mide duodenum grafisinde C5-C6 diski düzeyinde proksimal özefagusta konsantrik çevresel özellikte kısa segment darlık görüldü. Özofagus darlığı için endoskopik balon dilatasyon yapıldı. Prednisolon, azatioprin, mesalamin, infliksimab ve İVİG tedavisi ile olgu remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynleri ikinci derece kuzen olan olgunun ablasında astım, atopik dermatit ve sık solunum yolu enfeksiyonu öyküsü olduğu, annesinin teyze kızında erişkin başlangıçlı ÜK olduğu öğrenildi.



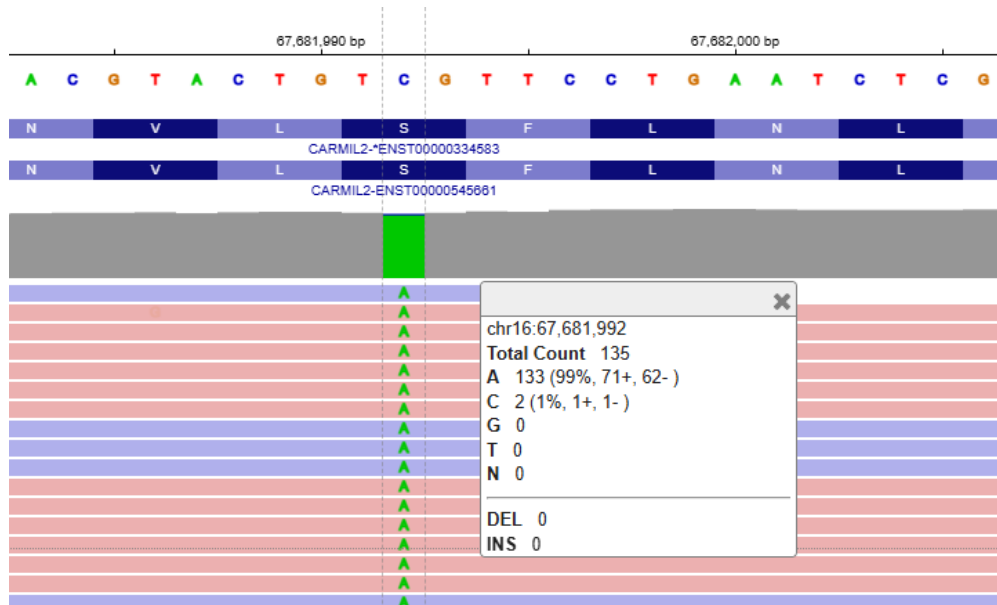
Şekil 4.10. O4 pedigri

Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlandı. Dörtlü-TED analizinde *CARMIL2* (Capping Protein Regulator And Myosin 1 Linker 2, 16q22.1 lokusu) geninde Tablo 4.10.'da detaylandırılan varyant saptandı.

Tablo 4.10. O4 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSg	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
<i>CARMIL2</i>	ENST00000334583.6 c.1109C>A ENSP00000334958.5 p.Ser370Ter	rs903777283	Homozigot (2/133)	İmmün Yetmezlik 58 (MIM #618131) OR	Patojenik

CARMIL2 geninde saptanan c.1109C>A varyantı “İmmün Yetmezlik 58” hastalığı ile ilişkili olarak bildirilmiş ve tanımlanmış patojenik bir varyanttır (PM3). Popülasyon veritabanlarında frekansı düşük olan (gnomAD-Max %0.0018, ExAC %0, Turkish Variome %0) bu nadir varyant (PM2), primer hastalık yapıcı mekanizmanın işlev kaybı olduğu bilinen *CARMIL2* geninin 38 ekzonlu kanonik transkriptinin 14. ekzonda erken durdurma kodonu oluşturmaktadır (PVS1). ACMG kriterleriyle değerlendirilen varyant “Patojenik” olarak sınıflandırılmıştır.

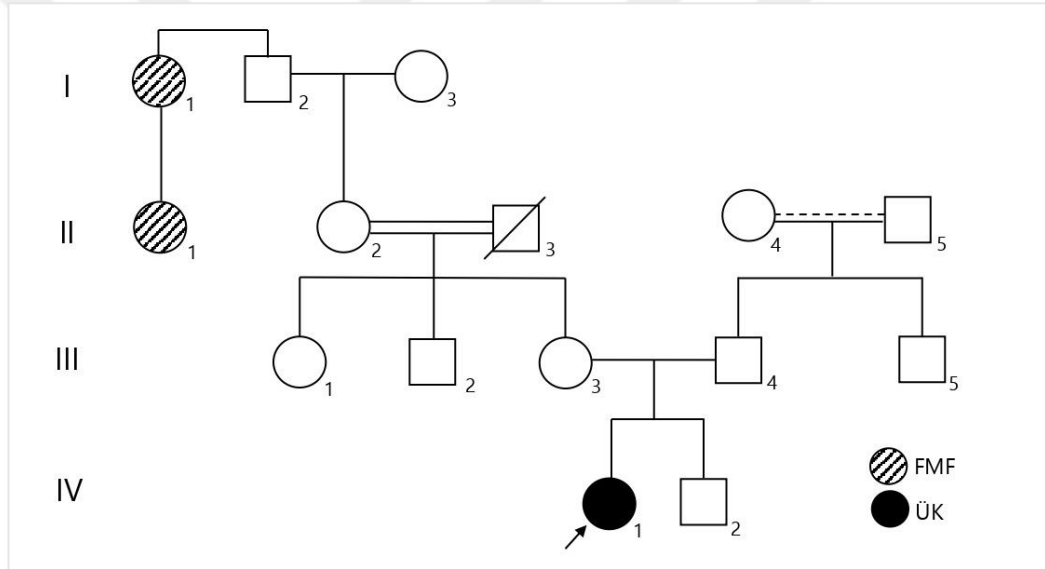


Şekil 4.11. O4 varyantının IGV görüntüsü

Olgu 5 (O5)

Özgeçmiş: Prenatal ve natal öyküsünde özellik ve bilinen hastalık öyküsü olmayan olgu, 3,5 yaşında başlayan karın ağrısı ve kanlı ishal şikayeti ile acile başvurusunda servise yatırılarak tetkik edildi. Kolonoskopik ve patolojik bulguları ile olgu S-İBH tanısı aldı. Ailede FMF öyküsü olması üzerine yapılan MEFV analizinde tablo 4.11’de detaylandırılan varyant saptandı. Sık idrar yolu enfeksiyonu öyküsü olan olgunun immünolojik değerlendirmesinde anormal bulgu saptanmadı. Azatioprin, mesalamin ve kolşisin tedavisi ile olgu remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynler arasında akrabalık olmadığı ve abisinde astım, annesinin ailesinde FMF hastalığı olduğu öğrenildi.



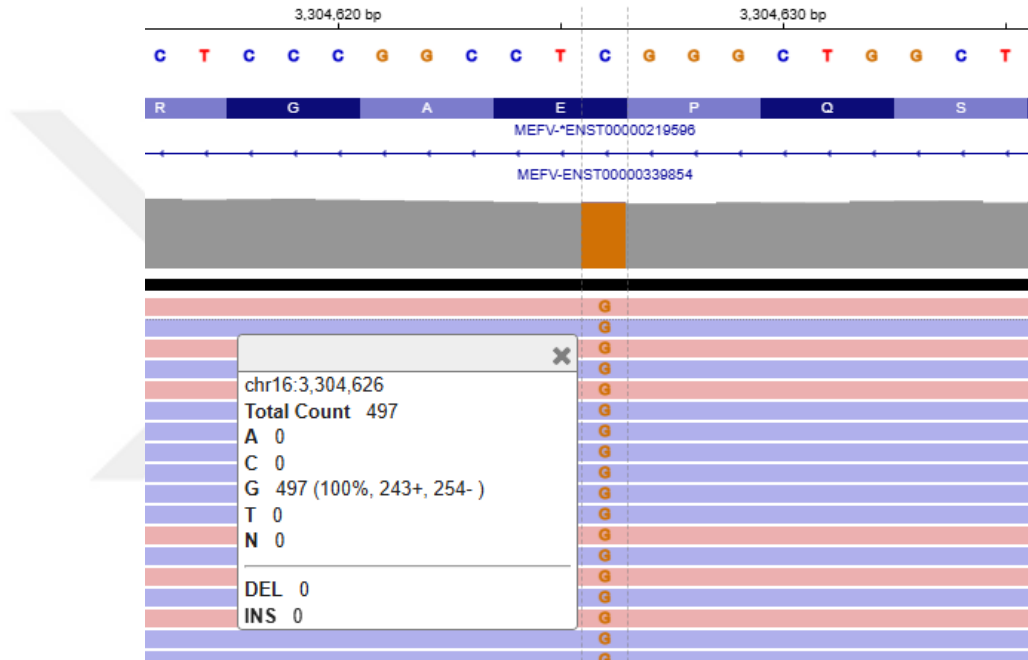
Şekil 4.12. O5 pedigr

Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlandı. Üçlü-TED analizinde *MEFV* geninde Tablo 4.11.’de detaylandırılan varyant saptandı.

MEFV geninde saptanan c.442G>C varyantı popülasyon veritabanlarında yüksek sıklıkta (GnomAD-Max %29.1506, ExAC %9.001, Turkish Variome %6.533) olarak yer almaktadır (BA1). Infervers veritabanında VUS, Clinvar veritabanında ise VUS [13], olası benign [5], benign [4] olarak bildirilen varyant, “patojenite sınıfı çelişkili” olarak tanımlıdır. ACMG kriterleri ile "VUS" olarak sınıflandırılmaktadır.

Tablo 4.11. O5 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSp	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
MEFV	ENST00000219596.1 c.442G>C ENSP00000219596.1 p.Glu148Gln	rs3743930	Homozigot (0/497)	FMF (MIM #249100) OR	VUS

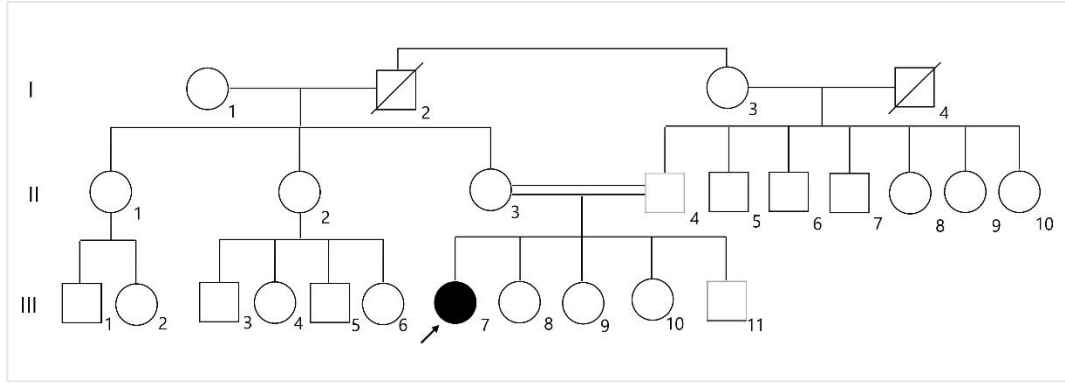


Şekil 4.13. O5 varyantın IGV görüntüsü

Olgu 6 (O6)

Özgeçmiş: Bilinen talasemi majör tanılı olgu, 4 yaş 3 aylık iken başlayan günde 15-20 kez sulu gaita deşarjı olması üzerine başvurdu. Kolonoskopi ve histopatolojik bulguları ile olgu çok erken başlangıçlı ÜK tanısı aldı. İmmün yetmezlik açısından çalışılan tetkiklerde anomali saptanmadı. Azatioprin ve mesalamin ile olgu remisyonda takip ediliyor.

Soygeçmiş: Ebeveynlerinin birinci derece kuzen olduğu ve ailede bilinen İBH, immün yetmezlik öyküsü olmadığı öğrenildi.



Şekil 4.14. O6 pedigrisi

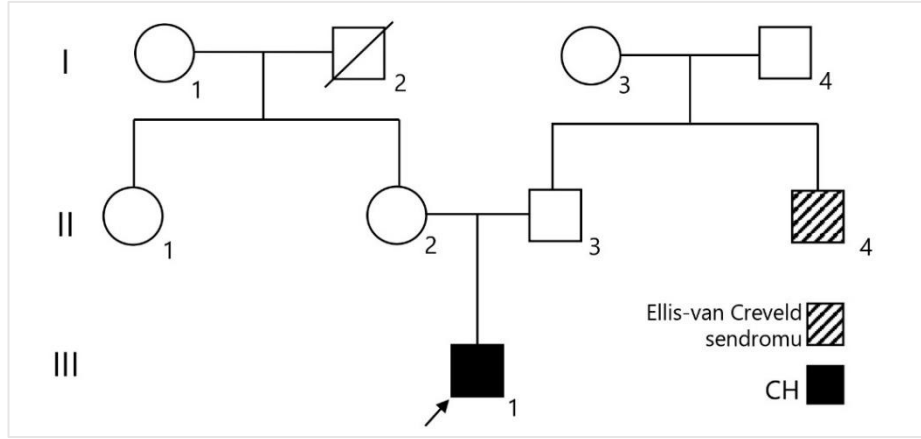
Moleküler bulgular: Mikrorray ve TED analizleri normal sonuçlandı.

Olgu 7 (O7)

Özgeçmiş: Prenatal ve natal takiplerinde özellik olmayan 6,5 yaşındaki olgu, iki yıldır tekrarlayan perianal abseler ve üç aydır devam eden günde 5-6 kez, çoğu zaman sulu ve kan içermeyen ishal ve kilo kaybı şikayeti başvurusunda servise yatırılarak tetkik edildi. Perianal apselerin antibiyoterapi ile gerilediği, drenaj yapılmadığı öğrenildi. Endokolonoskopide Crohn hastalığı ile uyumlu bulgular ve perianal fistül izlenmesi üzerine yapılan MR enterografide anal kanalda proksimalde iç ağzı solda saat 5 ve sağda 8 hizasından başlayarak distalde cilde uzanan iki adet interhemisferik seyirli fistül traktı izlendi. Olgu bu bulgularla fistülizan CH tanısı aldı. Özellikle kronik granülomatöz hastalık ve fagositer defektler açısından değerlendirilen olgunun immünolojik panelinde anormal bulgu saptanmadı. İnfantil dönemde atopik dermatit ve kserozis dışında cilt bulgusu olmadığı öğrenildi. Olgu, azatioprin ve infliksimab tedavisi ile remisyonda takip ediliyor.

Soygeçmiş: Ebeveynler arasında akrabalık olmadığı ve ailede İBH, immün yetmezlik öyküsü olmadığı; amcasının Ellis-van Creveld tanısı ile takip edildiği öğrenildi.

Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlandı. Üçlü-TED analizinde *MEFV* geninde Tablo 4.12.'de detaylandırılan varyantlar saptandı.



Şekil 4.15. O7 pedigri

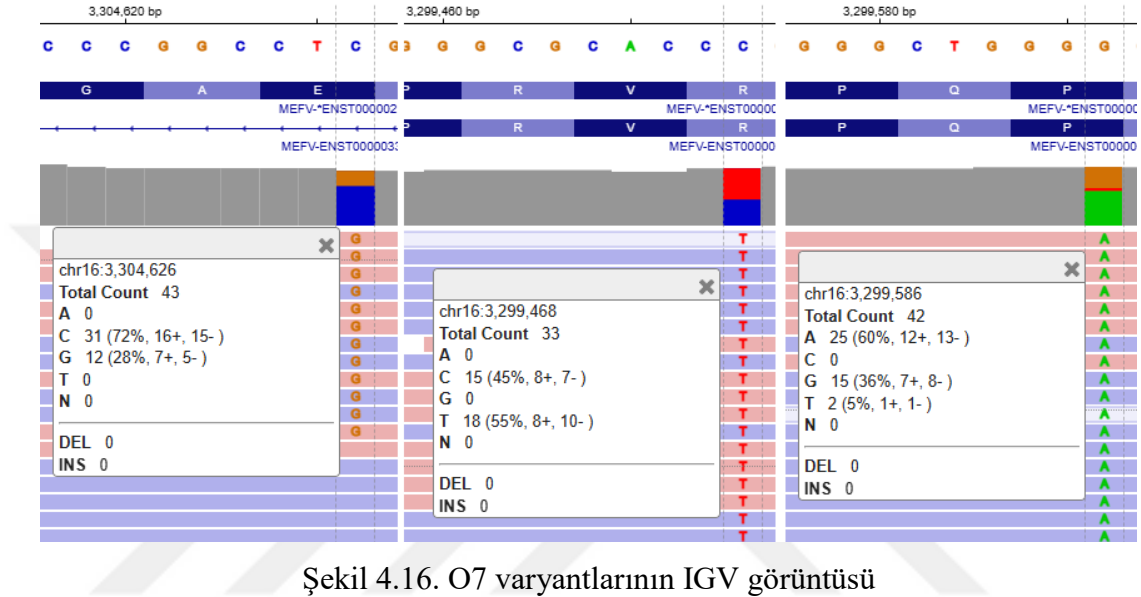
Tablo 4.12. O7 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSg	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
MEFV	ENST00000219596.1 c.442G>C ENSP00000219596.1 p.Glu148Gln	rs3743930	Heterozigot Maternal (31/12)	Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) (MIM #249100) OD/OR	VUS
MEFV	c.1223G>A p.Arg408Gln	rs11466024	Heterozigot Paternal (15/18)		VUS
MEFV	c.1105C>T p.Pro369Ser	rs11466023	Heterozigot Paternal (15/25)		VUS

MEFV geninde saptanan c.442G>C varyantı popülasyon veritabanlarında yüksek sıklıkta (GnomAD-Max %29.1506, ExAC %9.001, Turkish Variome %6.533) olarak yer almaktadır (BA1). Infervers veritabanında VUS, Clinvar veritabanında ise VUS [13], olası benign [5], benign [4] olarak bildirilen varyant, “patojenite sınıfı çelişkili” olarak tanımlıdır. ACMG kriterleri ile "VUS" olarak sınıflandırılmaktadır.

c.1223G>A varyantı popülasyon veritabanlarında yüksek sıklıkta (GnomAD-Max %5.3777, ExAC %1.2952, Turkish Variome %1.3558) olarak yer almaktadır (BA1). Infervers veritabanında VUS, Clinvar veritabanında ise VUS [9], olası benign [4], benign [2] olarak bildirilen varyant, “patojenite sınıfı çelişkili” olarak tanımlıdır. ACMG kriterleri ile "VUS" olarak sınıflandırılmaktadır.

c.1105C>T varyantı popülasyon veritabanlarında yüksek sıklıkta (GnomAD-Max %7.1479, ExAC %1.4232, Turkish Variome %1.446) olarak yer almaktadır (BA1). Infevers veritabanında VUS, Clinvar veritabanında ise VUS [9], olası benign [4], benign [2] olarak bildirilen varyant, “patojenite sınıfı çelişkili” olarak tanımlıdır. ACMG kriterleri ile "VUS" olarak sınıflandırılmaktadır.



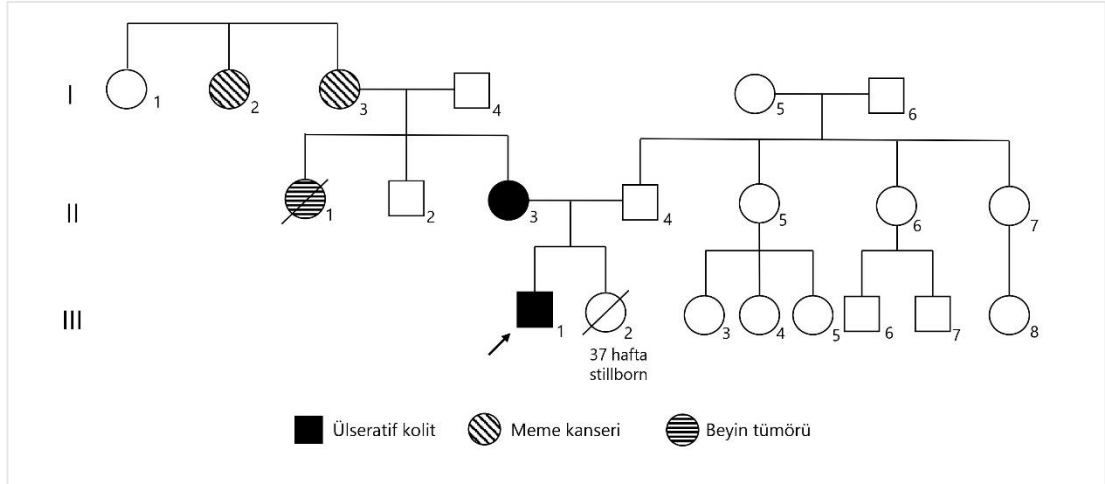
Şekil 4.16. O7 varyantlarının IGV görüntüsü

Olgu 8 (O8)

Özgeçmiş: Prenatal ve natal öyküsünde özellik ve bilinen hastalık öyküsü olmayan olgu, 5 yaş 7 aylık iken başlayan günde 6-8 kez olan kanlı ishal şikayeti ile dış merkeze başvurusunda amip kisti görülmesi üzerine bir hafta metronidazol tedavisi almış. Şikayetleri geçtikten sonra tekrar kanlı ishali olması nedeni ile 10 gün ara ile iki kez daha metronidazol tedavisi başlanmış. Sonrasında hemen her gün gaitasında kan gören olgu, İBH ön tanısı ile değerlendirilmek üzere servise yatırıldı ve kolonoskopik ve patolojik bulguları ile ülseratif kolit tanısı aldı. Prednizolon, azatrioprin ve mesalamin tedavisi alan olgu remisyonda takip ediliyor.

Soygeçmiş: Ebeveynleri arasında akrabalık olmadığı, annesinin ÜK tanısı ile takip edildiği öğrenildi.

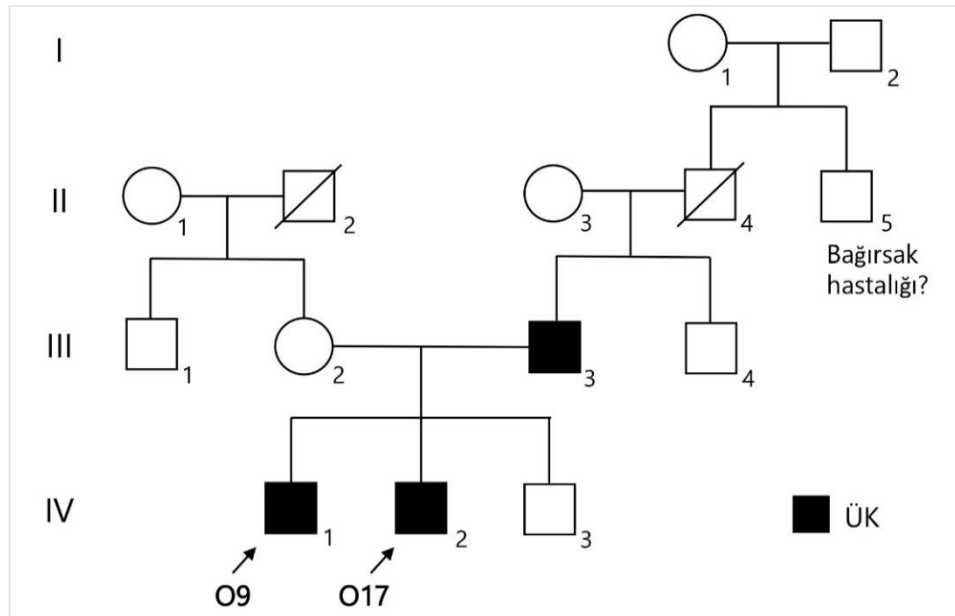
Moleküler bulgular: Mikrodizin ve üçlü-TED analizinde anlamlı varyant saptanmadı.



Şekil 4.17. O8 pedigrisi

Olgu 9 (O9)

Özgeçmiş: Bilinen hastalık öyküsü olmayan olgu, 6 yaşında iken yaklaşık bir yıldır olan yemekle artan, defekasyon ile azalan karın ağrısı ve son birkaç aydır tuvalet kağıdına bulaş şeklinde kan görme şikayetleri ile başvurdu. Enfeksiyöz kolit ve İBH ön tanıları ile değerlendirilen olgunun kolonoskopisinde inen kolon ve transvers kolonun distalinde ülser alanlar gözlemlendi. Patolojik incelemede ülseratif kolit ile uyumlu bulgular saptandı. Takibinde olguda primer sklerozan kolanjit saptandı. Mesalamin, infliksimab ve UDCA tedavisi ile takip edilen olgu remisyonda izleniyor.



Şekil 4.18. O9 ve O17 pedigrisi

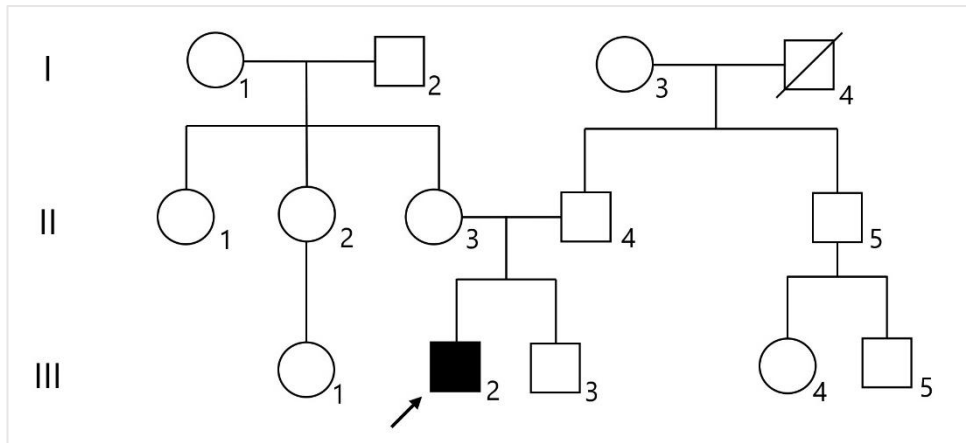
Soygeçmiş: Ebeveynleri arasında akrabalık olmadığı, babasının ve erkek kardeşinin (O17) ÜK tanısı ile takip edildiği öğrenildi.

Moleküler bulgular: Mikrorray ve dörtlü-TED analizleri normal sonuçlandı.

Olgu 10 (O10)

Özgeçmiş: Bilinen demir eksikliği anemisi dışında hastalık öyküsü ve şikayeti olmayan olgu, 6 yaşında iken rutin kan tetkiklerinde transaminaz yüksekliği saptanması nedeniyle tetkik edilirken, USG ve MRG'de porta hepatitis düzeyinde koledok boyunca uzanan yumuşak doku kitlesi izlendi ve olgunun izleminde bunun konglomere lenfadenopati olduğu saptandı. MRCP'de intrahepatik safra yollarında hafif genişleme ve santral kanallarda hafif düzensizlikler izlenen, kanda anti-düz kas antikoru ve pANCA pozitifliği bulunan olgunun karaciğer biyopsisinde primer sklerozan kolanjit saptandı. Eşlik edebilecek İBH açısından değerlendirilen olgu kolonoskopik ve histopatolojik bulguları ile S-İBH tanısı aldı. Prednisolon, azatioprin, mesalamin ve UDCA tedavisi ile olgu remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynler arasında akrabalık olmadığı ve ailede bilinen İBH veya karaciğer hastalığı öyküsü olmadığı öğrenildi.



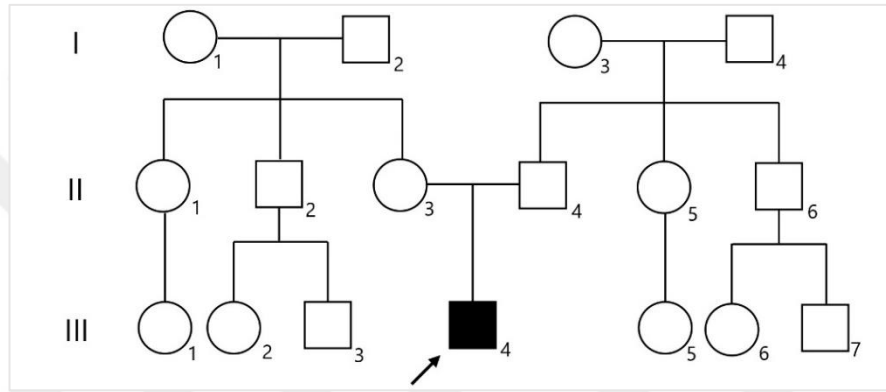
Şekil 4.19. O10 pedigree

Moleküler bulgular: Mikrorray ve TED analizleri normal sonuçlandı.

Olgu 11 (O11)

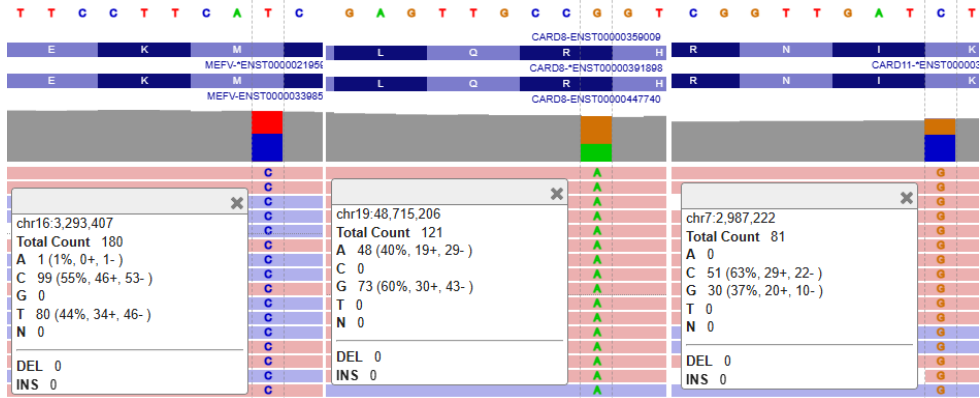
Özgeçmiş: Çimen ve polen alerjisi dışında bilinen hastalık öyküsü olmayan 8 yaşındaki olgu, 9 aydır gece uykudan uyandıran kanlı ishal ve kilo kaybı şikayetleri ile başvurması üzerine yatış yapılarak tetkik edildi. Ara ara ateş, karın ağrısı ve bulantı atakları olduğu öğrenildi. Kolonoskopik ve histopatolojik bulguları ile ÜK tanısı alan olgu azatioprin, mesalamin ve kolşisin tedavisi ile remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynler arasında akrabalık olmadığı ve ailede bilinen İBH'lı birey olmadığı, babasında allerjik rinit olduğu öğrenildi.



Şekil 4.20. O11 pedigrisi

Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlandı. Üçlü-TED analizinde *MEFV*, *CARD8* (*Caspase Recruitment Domain-Containing Protein 8*, 19q13.3 lokusu), *CARD11* (7p22.2 lokusu) genlerinde Tablo 4.13'te detaylandırılan varyantlar saptandı.



Şekil 4.21. O11 varyantlarının IGV görüntüsü

Tablo 4.13. O11 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSp	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
<i>MEFV</i>	ENST00000219596.1 c.2080A>G ENSP00000219596.1 p.Met694Val	rs61752 717	Heterozigot Maternal (80/99)	FMF (MIM # 134610) OD	Patojenik
<i>CARD8</i>	ENST00000391898.3 c.1375C>T ENSP00000375767.3 p.Arg459Trp	rs15050 4639	Heterozigot (73/48)	İnflamatuvar bağırsak hastalığı (Crohn hastalığı) 30 (MIM #619079) OD	VUS
<i>CARD11</i>	ENST00000396946.4 c.207G>C ENSP00000380150.4 p.Lys69Asn	-	Heterozigot (51/30)	Atopik dermatit ile immün yetmezlik 11B (MIM #617638), OD NFKB ve T hücre anejisi ile B hücre ekspansiyonu (MIM #616452), OD İmmün yetmezlik 11A (MIM #615206), OR	VUS

MEFV geninde saptanan c.2080A>G varyantı literatürde, ClinVar ve Infevers veritabanlarında patojenik olarak bildirilen iyi tanımlanmış bir varyanttır (PM3/PS4). Popülasyon veritabanlarında frekansı genellikle düşük olan (gnomAD-Max %0.0969, ExAC %0.0231, Turkish Variome %1.8006) bu varyant (PM2), patojenik varyantların sık izlendiği bir bölgede yer alır (PM1). Nükleotid değişiminden bağımsız olarak aynı amino asit dönüşümüne neden olan bir varyant (PS1) ve aynı rezidüde farklı bir missense değişime neden olan bir varyant (PM5) patojenik olarak yorumlanmaktadır. ACMG kriterleriyle değerlendirilen varyant “Patojenik” olarak sınıflandırılmıştır.

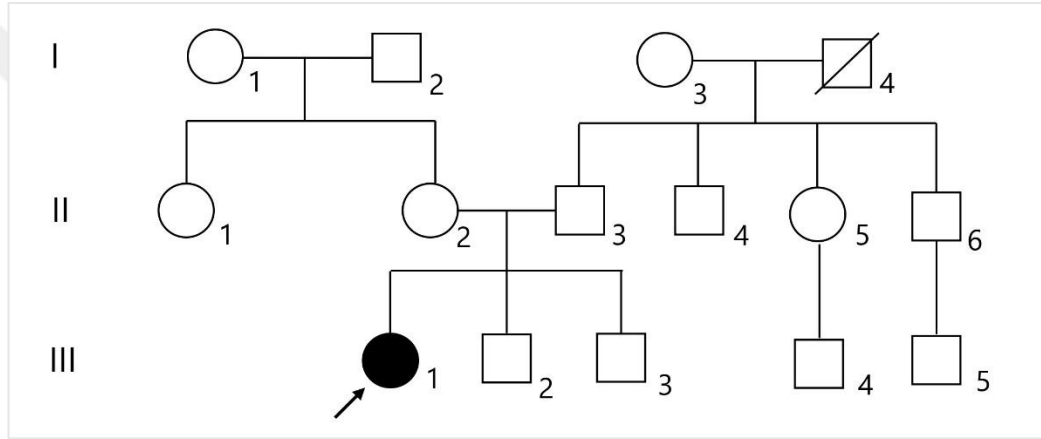
CARD8 geninde saptanan c.1375C>T varyantı popülasyon veritabanlarında frekansı düşük olan (gnomAD-Max %0.1402, ExAC %0.014) nadir bir varyanttır (PM2). İn silico tahmin programları varyantın benign olduğunu öngörmektedir (BP4). Varyant daha önce literatürde ve ClinVar veritabanında “VUS” olarak bildirilmiştir. ACMG kriterleriyle değerlendirilen varyant “VUS” olarak sınıflandırılmıştır.

CARD11 geninde saptanan c.207G>C varyantı literatürde daha önce tanımlanmamış *novel* bir varyanttır ve popülasyon veritabanlarında bulunmamaktadır (PM2). Patojenik varyantların sık izlendiği bir bölgede yer alır (PM1). İn silico tahmin programları varyantın benign olduğunu öngörmektedir (BP4). ACMG kriterleriyle değerlendirilen varyant “VUS” olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 12 (O12)

Özgeçmiş: Bilinen hastalık öyküsü olmayan olgu, 8,5 yaşında başlayan dört aydır gaitada kan görme, kilo kaybı, gece uykudan uyandıran defekasyon isteği, defekasyon ile rahatlayan periumbilikal karın ağrısı şikayetleri ile başvurdu. Endokolonoskopi ve histopatoloji bulguları ÜK ile uyumluydu. Takibinde bel ağrısı şikayeti olan olguda sakroileit saptandı. Olgu azatioprin ve sülfasalazin tedavisi ile remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynler arasında akrabalık olmadığı ve ailede İBH, immün yetmezlik öyküsü olmadığı öğrenildi.



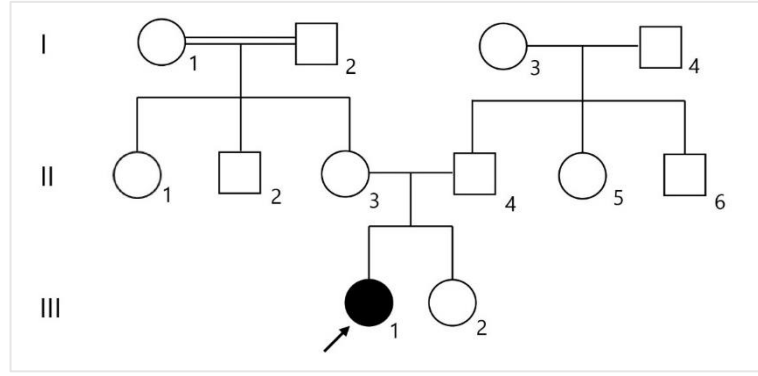
Şekil 4.22. O12 pedigri

Moleküler bulgular: Mikrorray ve TED analizleri normal sonuçlandı.

Olgu 13 (O13)

Özgeçmiş: Anemi tanısı ile 3 kez eritrosit transfüzyonu yapılan, iki yıldır ayda 5-10 gün süren karın ağrısı ve kanlı dışkılama şikayetleri olan 9 yaşındaki olgu, son 2-3 aydır şikayetlerinin daha da sıklaşması üzerine başvurusunda alt GİS kanama etiolojisinin araştırılması amacıyla yatış yapılarak değerlendirildi. Kolonoskopik ve histopatolojik bulguları ile ÜK tanısı alan olgu prednizolon, mesalamin ve azatioprin tedavisi ile remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynler arasında akrabalık olmadığı ve ailede İBH, immün yetmezlik öyküsü olmadığı öğrenildi.



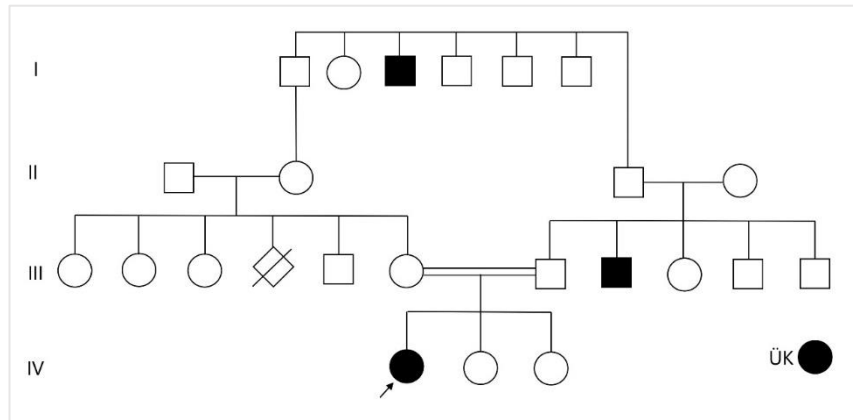
Şekil 4.23. O13 pedigri

Moleküler bulgular: Mikrorray ve üçlü-TED analizleri normal sonuçlandı.

Olgu 14 (O14)

Özgeçmiş: Bilinen hastalık öyküsü olmayan olgu, 10 yaşında iken, beş aydır aralıklı olarak devam eden ve gece uykudan uyandıran ishal, gaitada kan, kilo kaybı, halsizlik ve iştahsızlık şikayetleri ile acil servise başvuran olgunun tetkiklerinde ağır anemi saptanması üzerine servise yatırıldı. Gaitada *Blastocystis hominis* kistleri saptandı. Eritrosit süspansiyonu replasmanı ve antibiyoterapi başlandı. Kolonoskopik ve histopatolojik bulguları ile ÜK tanısı alan olgu, prednizolon, mesalamin ve azatioprin tedavisi ile remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynleri 1.5 derece kuzen olan olgunun amcasında ve babasının amcasında ÜK nedenli kolektomi öyküsü olduğu öğrenildi.



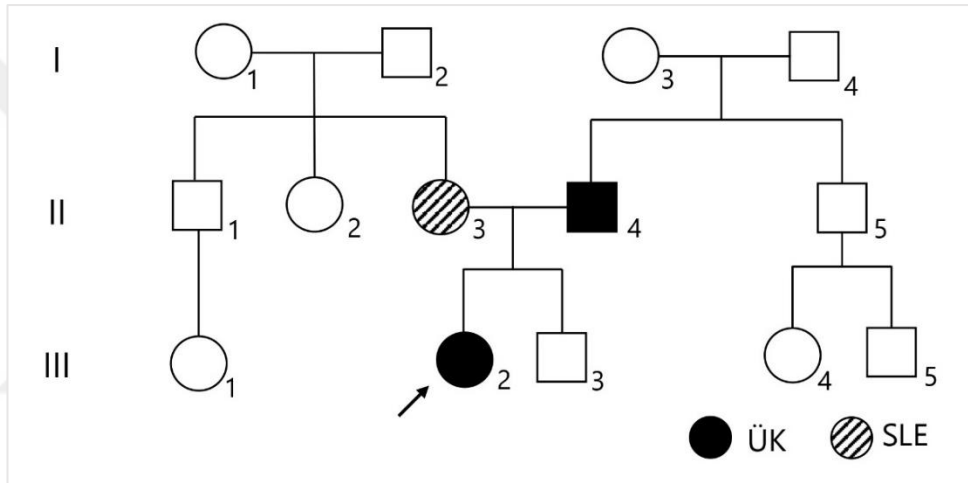
Şekil 4.24. O14 pedigri

Moleküler bulgular: Mikrorray ve üçlü-TED analizleri normal sonuçlandı.

Olgu 15 (O15)

Özgeçmiş: Bilinen hastalık öyküsü olmayan olgu, 10 yaşında başlayan kanlı ishal şikayeti ile başvurdu. Kolonoskopik ve histopatolojik bulguları ile ÜK tanısı alan olgu tedavi başlangıcından 2,5 yıl sonra ağır kolit atağı ve CMV koliti geçirdi. Şu anda mesalamin, infliksimab ve kurkumin tedavisi ile remisyonda izleniyor.

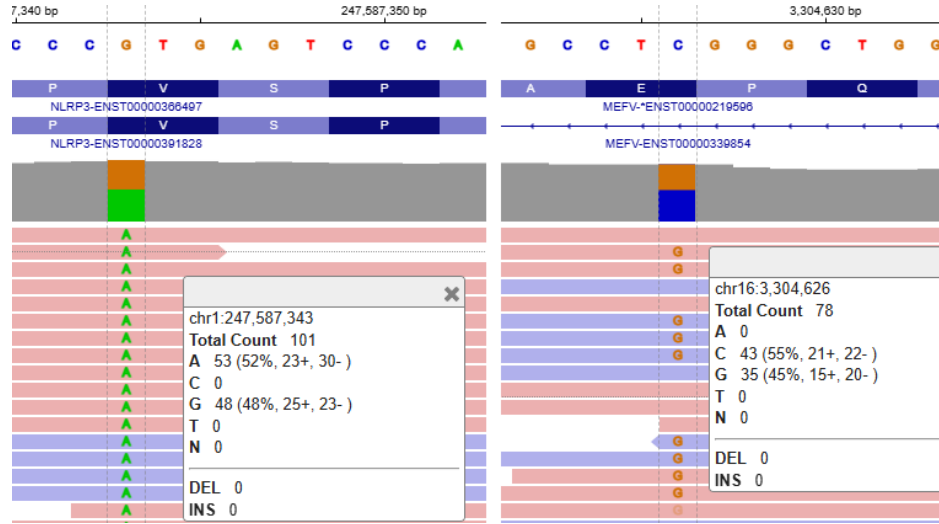
Soygeçmiş: Ebeveynleri arasında akrabalık olmadığı, babasının ÜK tanısı ile takip edildiği öğrenildi.



Şekil 4.25. O15 pedigrisi

Moleküler bulgular: Mikrodizin analizinde anlamlı kopya sayısı değişimi saptanmadı. TED analizinde *MEFV*, *NLRP3* (*NLR Family Pyrin Domain-Containing 3*, 1q44 lokusu) ve *SARM1* (*Sterile alpha and TIR motif containing 1*, 17q11.2 lokusu) genlerinde Tablo 4.14.'te detaylandırılan varyantlar saptandı.

MEFV geninde saptanan c.442G>C varyantı popülasyon veritabanlarında yüksek sıklıkta (GnomAD-Max %29.1506, ExAC %9.001, Turkish Variome %6.533) yer almaktadır (BA1). Infevers veritabanında VUS, Clinvar veritabanında ise VUS [13], olası benign [5], benign [4] olarak bildirilen varyant, "patojenite sınıfı çelişkili" olarak tanımlıdır. ACMG kriterleri ile "VUS" olarak sınıflandırılmaktadır.



Şekil 4.26. O15 varyantlarının IGV görüntüsü

NLRP3 geninde saptanan c.598G>A varyantı popülasyon veritabanlarında yüksek sıklıkta (GnomAD-Max %2.343, ExAC %0.8256, Turkish Variome %0.8634) yer almaktadır (BA1). Infevers veritabanında VUS, Clinvar veritabanında ise VUS [8], olası benign [6], benign [2] olarak bildirilen varyant, “patojenite sınıfı çelişkili” olarak tanımlıdır. ACMG kriterleri ile "VUS" olarak sınıflandırılmaktadır.

SARM1 geninde saptanan c.1781_1782insTCAAT varyantı popülasyon veritabanlarında bulunmamaktadır (PM2). Çerçeve kaymasına neden olarak erken terminasyon oluşturan bir varyant olmakla birlikte önemi belirsiz bir gende olması nedeni ile PVS1 skoru uygulanamamıştır. ACMG kriterleri ile "VUS" olarak sınıflandırılmaktadır.

Tablo 4.14. O15 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSsp	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
<i>NLRP3</i>	ENST00000336119.3 c.598G>A ENSP00000337383.3 p.Val200Met	rs121908147	Heterozigot (48/53)	-Ailesel soğuk inflamatuvar sendrom 1 (MIM #120100) -CINCA sendromu (MIM #607115) -Muckle-Wells sendromu (MIM #191900) OD	VUS

Tablo 4.14. “Devam” O15 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSp	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
<i>MEFV</i>	ENST00000219596.1 c.442G>C ENSP00000219596.1 p.Glu148Gln	rs3743930	Heterozigot (43/35)	Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) (MIM # 134610) OD	VUS
<i>SARM1</i>	ENST00000585482.6 c.1781_1782insTCAAT ENSP00000468032 p.Glu594AspfsTer3	-	Heterozigot (43/24)	-	VUS

Olgu 16 (O16)

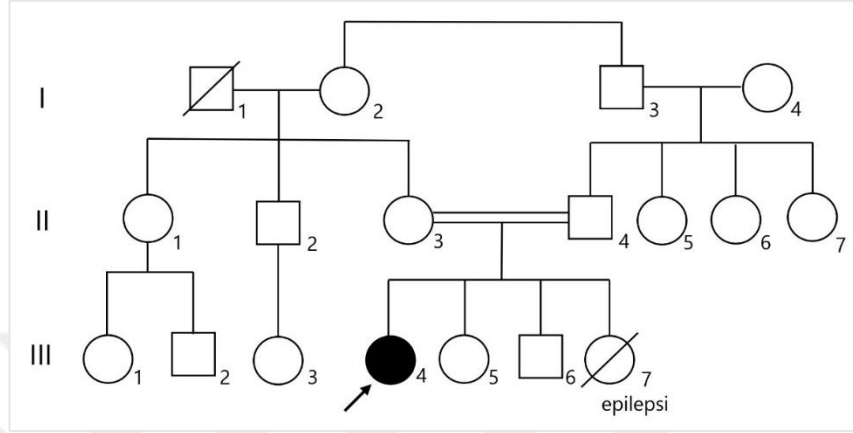
Özgeçmiş: Prenatal ve natal öyküsünde özellik olmayan ve cihaz ile kapatılmış atrial septal defekt dışında bilinen hastalık öyküsü olmayan olguya, 11 yaşında karın ağrısı ile başvurusunda perfore apandisit tanısı ile apendektomi yapıldığı öğrenildi. Olgu, operasyon sonrası ataklar şeklinde karın ağrısı, ateş, bulantı, kusma, ishal ve kabızlık şikayetlerinin olması ve operasyondan bir ay sonra gluteal bölgede ağrı ile başvurusunda anal apse ve fistül saptanması üzerine inflamatuvar bağırsak hastalıkları açısından değerlendirilmesi amacı ile yatış yapılarak tetkik ve tedavi edildi. Klinik, kolonoskopik ve histopatolojik bulguları ile fistülizan Crohn hastalığı tanısı alan olguya perianal apse drenajı ve fistülektomi yapıldı. Olgu adalimumab tedavisi ile remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynleri birinci derece kuzen olan olgunun ailesinde bilinen İBH öyküsü olmadığı, epilepsi tanılı ablasının 6 yaşında kaybedildiği öğrenildi.

Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlandı. Üçlü-TED analizinde, *NOD2* (*nucleotide-binding oligomerization domain protein 2*, 16q12.1 lokusu) geninde Tablo 4.15.’te detaylandırılan varyant saptandı. Olgunun her iki ebeveyninde bu varyant heterozigot oluşumda saptandı.

NOD2 geninde saptanan c.1087A>T varyantı popülasyon veritabanlarında düşük frekansta (GnomAD Max %0.0489, ExAC %0.0058, Turkish Variome %0.0355) yer almaktadır (PM2). Crohn hastalığı olan bireylerde daha önce bildirilen bu nadir varyantın, yabancı proteinin yaklaşık yarısı seviyesinde NFKB sinyal aktivitesine sahip olduğu ve %10’dan az membran ilişkisi gösterdiği bir fonksiyonel

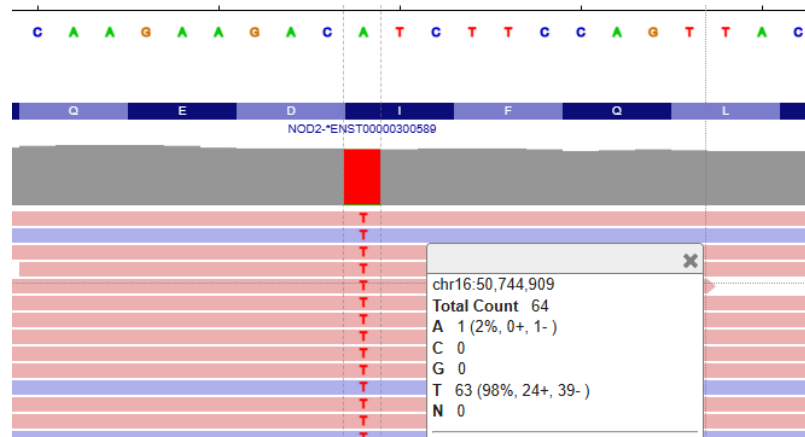
çalışmada gösterilmiştir (PS3_P) (119,120). İn silico tahmin programları varyantın zarar verici olmadığını öngörmektedir (BP4). ACMG kriterleri ile değerlendirilen varyant “VUS” olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.27. O16 pedigrisi

Tablo 4.15. O16 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVS	dbSNP	Zigosity (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
<i>NOD2</i>	ENST00000300589.2 c.1087A>T ENSP00000300589.2 p.Ile363Phe	rs104895470	Homozygote (1/63)	İnflamatuvar bağırsak hastalığı 1, Crohn hastalığı (MIM #266600) Multifaktöriyel	VUS



Şekil 4.28. O16 özgün varyant IGV görüntüsü

Olgu 17 (O17)

Özgeçmiş: Bilinen hastalık öyküsü olmayan, abisinde (O9) ve babasında ÜK olan olgu, 12 yaşında kanlı, mukuslu dışkı ve karın ağrısı şikayetleri ile başvurdu. Kolonoskopik ve histopatolojik bulguları ile ÜK tanısı alan olgu prednizolon ve mesalamin tedavisi ile remisyonda takip ediliyor.

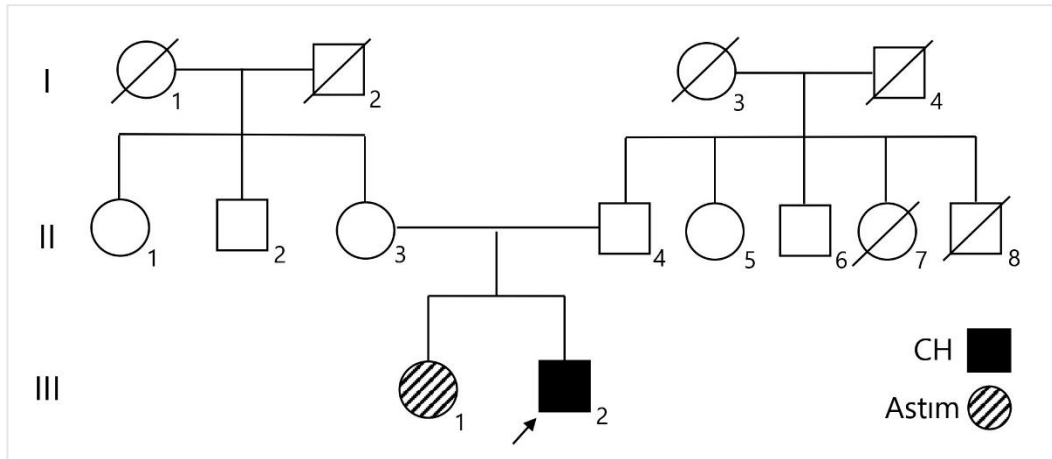
Soygeçmiş: Ebeveynleri arasında akrabalık olmadığı, babasının ve erkek kardeşinin (O9) ÜK tanısı ile takip edildiği öğrenildi (Şekil 4.18.).

Moleküler bulgular: Mikrorray ve üçlü-TED analizleri normal sonuçlandı.

Olgu 18 (O18)

Özgeçmiş: Bilinen hastalık öyküsü olmayan olgu, 12 yaşında başlayan, karın ağrısının eşlik ettiği kan ve mukus içermeyen ve bir ay süren ishalin ardından bilateral bacak ağrısı ve sonrasında başlayan ayak tabanlarında mor-kırmızı renkli nodüler döküntü şikayetleri ile başvurdu. Başvuru sırasında akut faz reaktanları yüksek, albümin düzeyi düşük bulunan, kolonoskopik, histopatolojik ve MR bulguları ile fistülizan CH tanısı alan olgu adalimumab ve metotreksat tedavisi ile remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynleri arasında akrabalık olmadığı, ablasında astım, annesinde guatr olduğu, ailede bilinen İBH'li birey olmadığı öğrenildi.



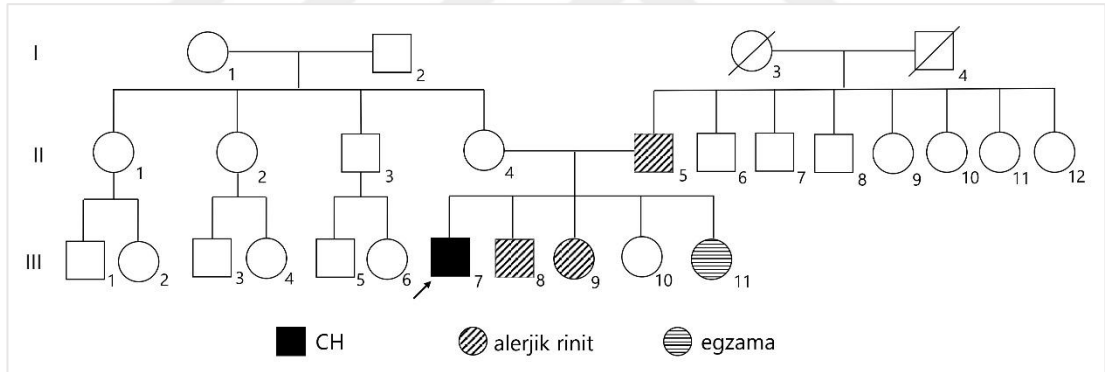
Şekil 4.29. O18 pedigrisi

Moleküler bulgular: Mikrodizin ve üçlü-TED analizleri normal sonuçlandı.

Olgu 19 (O19)

Özgeçmiş: Prenatal/natal öyküsünde özellik olmayan, konjenital hipotiroidi (tedavisiz takip) dışında bilinen hastalık öyküsü olmayan 13 yaşındaki olgu, 20 gündür devam eden ishal şikayeti ile başvurdu. Muayenede alt ekstremitelerde ekimotik döküntüler ve sol diz anteriorunda mor-kırmızı renkli lezyon izlenen olgunun cilt biyopsisinde vaskülit bulguları saptandı. Kolonoskopik ve histopatolojik bulguları ile CH tanısı aldı. Takipte transaminaz yüksekliği gelişmesi üzerine bakılan IgG yüksek, ANA, ASCA pozitif saptandı ve karaciğer biyopsisi bulguları ile olgu otoimmün hepatit tanısı aldı. Prednizolon, infliksimab ve UDCA tedavisi ile remisyonda olan olgunun takiplerinde tekrarlayan cilt apseleri izlendi.

Soygeçmiş: Ebeveynleri arasında akrabalık olmadığı, babasında, ablasında ve abisinde polen alerjisi, diğer ablasında egzama olduğu ve ailede bilinen immün yetmezlik veya İBH'li birey olmadığı öğrenildi.



Şekil 4.30. O19 pedigrisi

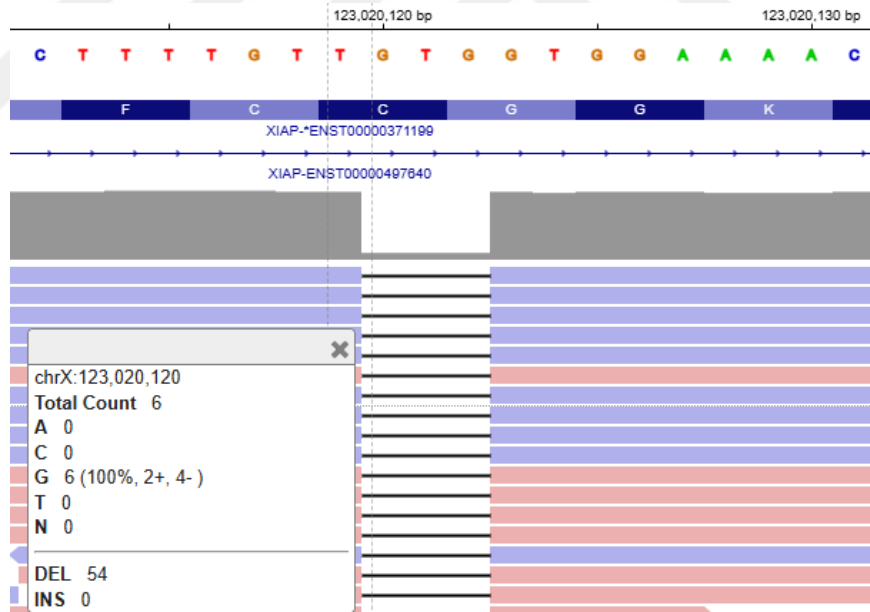
Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlanan olgunun üçlü-TED analizinde *XIAP* geninde (*inhibitor of apoptosis, X-linked, Xq25* lokusu) tablo 4.16.'da detaylandırılan varyant saptandı.

XIAP geninde saptanan c.612_614del varyantı popülasyon veritabanlarında bulunmamaktadır (PM2) ve protein uzunluğunu değiştiren çerçeve içi bir delesyondur (PM4). Literatürde iki olguda bildirilmiştir ve Clinvar veritabanında "Patojenik" olarak yer almaktadır (PS4_M). Literatürde aynı varyanta sahip bir olgunun periferik kan mononükleer hücrelerindeki *XIAP* proteinin kontrole göre azalmış olduğu

Western blot yöntemi ile gösterilmiştir (PS3_P). Moleküler dinamik simülasyon ile, bu mutasyonun, Cys203'ün omurga burulma enerjisini değiştirerek mutant proteinine çinko bağlanmasını bozduğu, XIAP ile RIPK2 proteinleri arasında zayıf koordinasyona neden olduğu ve çinkodan yoksun proteininin artan oto-ubikitinasyonu sonucu NOD2 sinyalleme bozukluğu oluşturduğu öne sürülmüştür (82). ACMG kriterleri ile değerlendirilen varyant “Olası Patojenik” olarak sınıflandırılmıştır.

Tablo 4.16. O19 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSp	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
<i>XIAP</i>	ENST00000371199.3 c.612_614del	rs2148089962	Hemizigot (6/54) <i>de novo</i>	X'e bağlı lenfoproliferatif sendrom 2 (XLP2) (MIM #300635)	Olası Patojenik
	ENSP00000360242.3 p.Gly205del			X'e bağlı resesif	



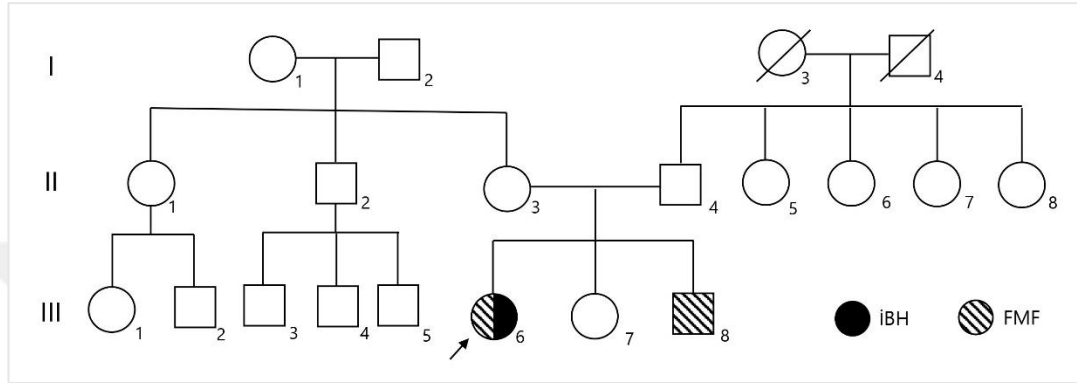
Şekil 4.31. O19 varyantının IGV görüntüsü

Olgu 20 (O20)

Özgeçmiş: Bilinen FMF taşıyıcılığı ve geçirilmiş immün trombositopeni (İTP) öyküsü olan olgu, 15 yaşında başlayan 8-9 ay süren ishal ve kilo kaybı şikayetleri ile başvurdu. Kolonoskopik ve histopatolojik bulguları ile ÜK tanısı alan olgunun

karaciğer enzimlerinin yüksek seyretmesi üzerine yapılan tetkiklerde, primer sklerozan kolanjit saptandı. Olgu prednizolon, azatioprin, mesalamin, kolşisin, infliksimab ve UDCA tedavisi ile remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynleri arasında akrabalık olmadığı, erkek kardeşinde FMF olduğu, ailede bilinen İBH'li birey olmadığı öğrenildi.



Şekil 4.32. O20 pedigrisi

Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlandı. Üçlü-TED analizinde *MEFV* ve *IFIH1* (*Interferon-Induced Helicase C Domain-Containing Protein 1*, 2q24.2 lokusu) genlerinde Tablo 4.17.'deki varyantlar saptandı.

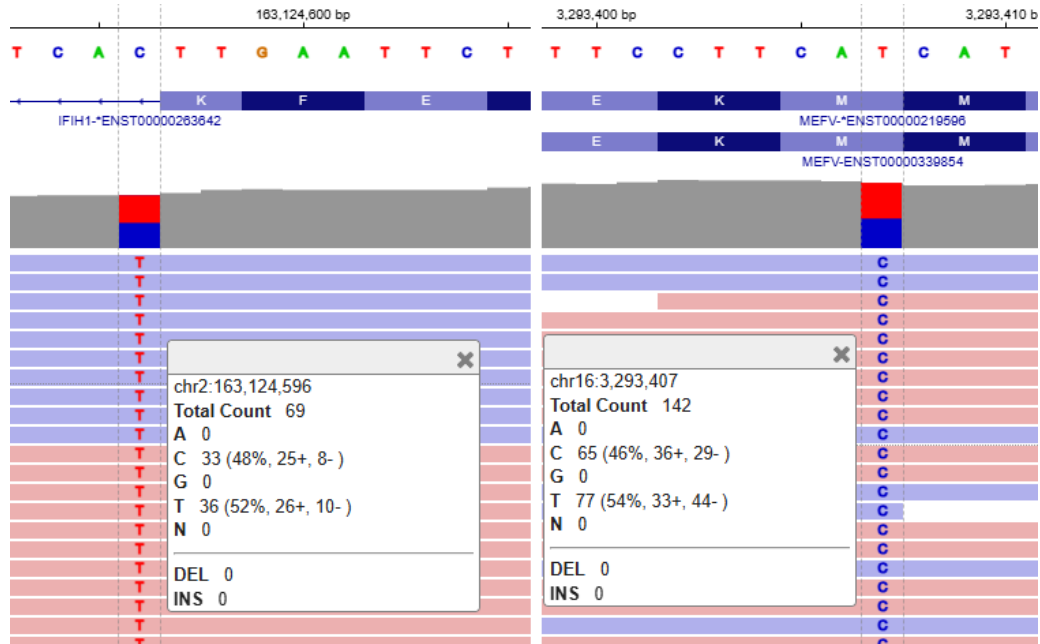
MEFV geninde saptanan c.2080A>G varyantı literatürde, ClinVar ve Infevers veritabanlarında patojenik olarak bildirilen iyi tanımlanmış bir varyanttır (PM3/PS4). Popülasyon veritabanlarında frekansı genellikle düşük olan (gnomAD-Max %0.0969, ExAC %0.0231, Turkish Variome %1.8006) bu varyant (PM2), patojenik varyantların sık izlendiği bir bölgede yer alır (PM1). Nükleotid değişiminden bağımsız olarak aynı amino asit dönüşümüne neden olan bir varyant (PS1) ve aynı rezidüde farklı bir missense değişime neden olan bir varyant (PM5) patojenik olarak yorumlanmaktadır. ACMG kriterleriyle değerlendirilen varyant “Patojenik” olarak sınıflandırıldı.

IFIH1 geninde saptanan c.2807+1G>A varyantı işlev kaybına neden olması beklenen bir *splice* bölgesi varyantıdır (PVS1). İn silico tahmin programları, verici bölge değişikliğine neden olarak yüksek olasılıkla *splicingi* etkileyeceğini öngörmektedir (PP3). Ekzon 14'ün atlanması sonucu viral dsRNA'ya bağlanmak için gerekli olan C-terminal düzenleyici alandan yoksun bir protein oluşturan bu varyantın işlev kaybı ile sonuçlandığına dair fonksiyonel çalışmalar mevcuttur (PS3_P)

(121,122). Popölasyon veritabanlarında (gnomAD-Max %1.1793, ExAC %0.7075, Turkish Variome %1.4286) yüksek sıklıkta yer alan bu varyant (BA1), Clinvar veritabanında benign [2], olası benign [4], patojenik [1] bildiriler ile “patojenite sınıfı çelişkili” olarak tanımlıdır. ACMG kriterleriyle değerlendirilen varyant “VUS” olarak sınıflandırıldı.

Tablo 4.17. O20 varyant tablosu

Gen	HGVSc HGVSg	dbSNP	Zigosite (wt/mt)	İlişkili Hastalık	Patojenite
MEFV	ENST00000219596.1 c.2080A>G ENSP00000219596.1 p.Met694Val	rs61752717	Heterozigot Paternal (0/457)	Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) (MIM # 134610) OD	Patojenik
IFIH1	ENST00000263642.2 c.2807+1G>A	rs35732034	Heterozigot Maternal (145/153)	- Singleton-Merten sendromu 1 (MIM #182250), OD - Aicardi-Goutières sendromu 7 (MIM #615846), OD - İmmün yetmezlik 95 (MIM #619773),OR	VUS

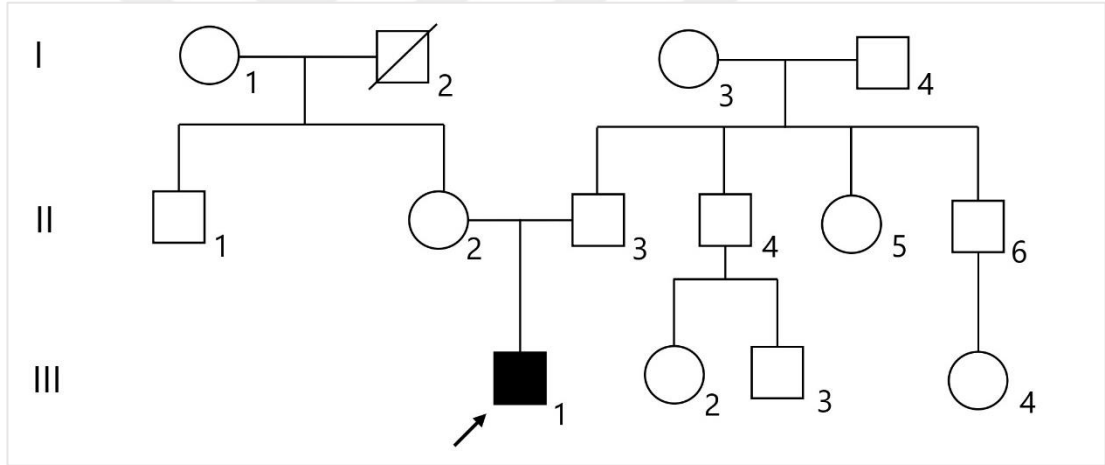


Şekil 4.33. O20 varyantlarının IGV görüntüsü

Olgu 21 (O21)

Özgeçmiş: Bilinen hastalık öyküsü olmayan olgu, 17 yaşında iken anemi nedeniyle demir replasmanı başlanması ardından gaitada birkaç kez kan görme şikayeti ile başvurdu. Kolonoskopik ve histopatolojik incelenmesinde eozinofilik kolit bulguları izlendi. Olgunun 2 ve 5 yaşlarında yaz aylarında olan ayaklarda kırmızı kaşıntılı döküntüler dışında atopik hastalık öyküsü olmadığı öğrenildi. Takiplerinde transaminaz yüksekliği olan olguda, MRCP ve karaciğer biyopsisi bulguları ile primer sklerozan kolanjit ve otoimmün hepatit birlikteliği saptandı. S-İBH olarak değerlendirilen olgu, prednizolon, azatioprin, mesalamin ve UDCA tedavisi ile remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynleri arasında akrabalık olmadığı, ailede bilinen İBH'li birey olmadığı öğrenildi.



Şekil 4.34. O21 pedigr

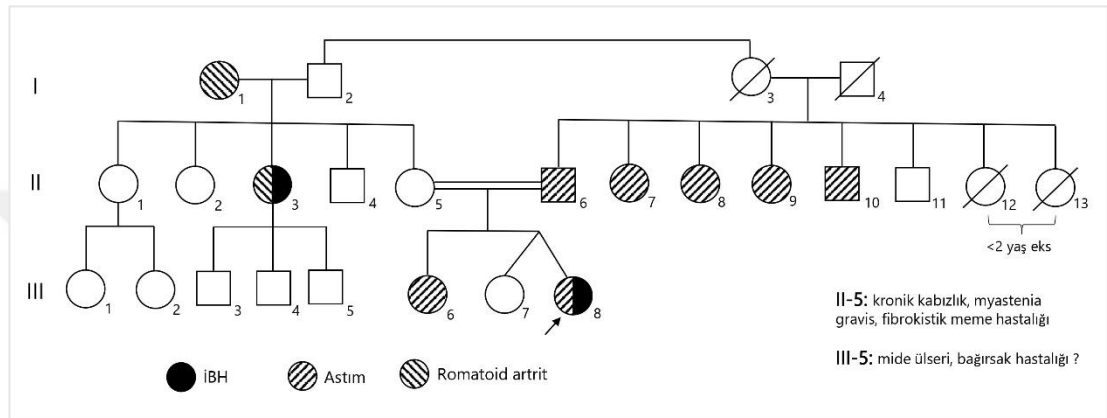
Moleküler bulgular: Mikrorray ve ikili-TED analizleri normal sonuçlandı.

Olgu 22 (O22)

Özgeçmiş: Bilinen astım, gastroözefageal reflü, aksesuar dalak, nefrolitiyazis ve obsesif-kompulsif bozukluk tanıları ile takipli 17 yaşındaki olgu, üç aydır olan ishal, karın ağrısı ve eşlik eden bacaklarda ağrı şikayetleri ile başvurdu. Tetkiklerinde lenfopeni saptanması üzerine Pediatrik İmmünoloji tarafından değerlendirilen olguda tekrarlayan enfeksiyon öyküsü olmaması, immünglobulin ve lenfosit alt gruplarının

normal aralıkta olması nedenleri ile immün yetmezlik ön planda düşünülmedi. Kolonoskopi ve patoloji bulguları ile CH tanısı alan olgu budenosid tedavisi ile remisyonda izleniyor.

Soygeçmiş: Ebeveynleri birinci derece kuzen olan olgunun annesinde gastrik ülser, kronik kabızlık, babasında gastrik ülser ve astım, teyzesinde erişkin başlangıçlı ÜK ve romatoid artrit (RA), anneannesinde RA olduğu öğrenildi.



Şekil 4.35. O22 pedigr

Moleküler bulgular: Mikrodizin analizi normal sonuçlandı. İkili-TED analizinde fenotip ile ilişkili varyant saptanmadı.

5. TARTIŞMA

İnflamatuvar bağırsak hastalığında monogenik hastalık araştırmaları, 2009 yılında, infantil başlangıçlı şiddetli ve refrakter enterokolit ve perianal hastalığa sahip hastalarda IL-10 reseptör genlerinde patojenik varyantların keşfedilmesi ile başlamıştır (70). İnflamatuvar bağırsak hastalığı olan bir hastada ekzom dizileme ile ilk genetik tanı, 2011 yılında, Crohn hastalığı benzeri bir tablo ile seyreden transmural pankolit, proktit, anal apseler ve kolokutanöz fistüllere sahip 15 aylık bir olguda XIAP eksikliğinin tanımlanması ile konulmuştur (4). Bunu takip eden yıllardan günümüze kadar, İBH başlangıç yaşı, etnisite, hastalık şiddeti ve eşlik eden bulgular açısından oldukça değişken özelliklere sahip pediatrik İBH kohortlarında, hedefli paneller, tüm ekzom dizileme ve tüm genom dizileme gibi çeşitli yeni nesil dizileme yöntemleri kullanılarak İBH ilişkili mendeliyen hastalıklar üzerine birçok araştırma literatüre kazandırılmıştır (5,105,107,109).

Çalışmamızda monogenik İBH ilişkili genler *MEFV*, *CARMIL2*, *PEPD*, *TNFRSF13B* ve *XIAP* olarak saptanmıştır. *PEPD*, *TNFRSF13B* ve *CARMIL2* genleri, NASPGHAN veya ESPGHAN'ın kılavuzlarında monogenik İBH genleri arasında tanımlanmamıştır ancak *PEPD* ve *CARMIL2* genleri 2022 yılında yayınlanan taksonomi çalışmasında İBH ilişkili olarak değerlendirilmiştir (8,9,55).

Tekrarlayan enfeksiyonları ve HLH öyküsü olan infantil başlangıçlı S-İBH tanılı O1'de *PEPD* geninde homozigot oluşumda saptanan c.157G>T varyantının, enzimin aktif bölgesini barındıran C-terminal domaini içermeyen işlevsiz bir güdük protein oluşturması veya NMD'ye (*nonsense mediated decay*) uğraması beklenmektedir. *PEPD* geni tarafından kodlanan ve çoğu dokuda eksprese olan prolidaz (peptidaz D), C-terminal prolin/hidroksiprolin içeren imidodipeptitleri parçalayan sitozolik bir metaloproteinazdır. Kollajenin geri dönüşümünde hız sınırlayıcı adımı katalize eden prolidaz, kollajen yenilenmesinde ve matriks yeniden şekillenmesinde ve dolayısıyla yara iyileşmesi, inflamasyon, anjiyogenez gibi fizyolojik süreçlerde önemli rol oynar (123). Prolidaz eksikliğine bağlı prolin eksikliği veya imidodipeptit birikimi, imidodipeptitlere bağımlı proteinlerin işlevlerini bozabilir (124).

Prolidaz aktivitesinin kaybına yol açan biallelik patojenik varyantlar sonucu ortaya çıkan prolidaz eksikliği, tipik olarak alt ekstremitelerde şiddetli, tedaviye

dirençli ve ağrılı cilt ülserleri, yüz ve ellerde telenjektaziler, tekrarlayan cilt ve solunum yolu enfeksiyonları, splenomegali, gelişimsel gecikme, dismorfizm (hipertelorizm, proptosis, basık burun kökü, prognatizm, ince üst dudak, düşük ön ve arka saç çizgisi) ve otoimmünite ile karakterize nadir bir doğumsal metabolizma bozukluğudur (125). Prolidaz eksikliği, 2022 yılında IUIS tarafından konjenital immün yetmezliklerin fenotipik sınıflandırmasında immün disregülasyon hastalıkları grubunda otoimmünitenin eşlik ettiği sendromlar içinde sınıflandırılmıştır (118). HLH, etkilenen bireylerde nadiren tanımlanmıştır (125). Prolidaz eksikliği olgularında gastrointestinal (Gİ) ülserler ve İBH nadiren bildirilmiştir ve literatürdeki olgular Tablo 5.1.'de detaylandırılmıştır. Biri hariç bildirilen tüm olgular ÇEB-İBH grubundadır.

Tablo 5.1. Literatürde bildirilen İBH ve benzeri fenotipli prolidaz eksikliği olguları

Literatür	Başlangıç yaşı / Cinsiyet	Varyant	Tanı	İBH tedavisi
Wang ve ark., 2006 (126)	5 hafta / Erkek	c.793T>C p.Arg265Ter	Otoimmün gastroenteropati	-
Kuloğlu ve ark., 2015 (127)	2 ay / Kadın	c.629C>T p.Met210Arg	İBH	Prednizon ile remisyon, mesalamin ile idame
Rizvi ve ark., 2019 (128)	3 yaş / Erkek	c.826G>A p.Asp276Asn	CH	Steroid ve sülfasalazin ile minimal iyileşme, infliksimaba yanıtızsızlık, steroid ve subkutan metotreksat ile semptomlarda gerileme
Good ve ark., 2019 (129)	6 yaş / Erkek	p.Asp276Asn	CH	Prednizon, infliksimab, metotreksat
Madhusudan ve ark., 2021 (130)	1 yaş / Erkek	c.825delC p.Phe275LeufsTer 46	ÇEB-İBH	Steroid ile remisyon
Atschekzei ve ark., 2023 (131)	13 yaş / Kadın	ekzon 4 delesyonu	ÜK	Ritüksimab ile mukokutanöz ülserlerde gerileme

Prolidaz eksikliği ilişkili immün yetmezlik, otoimmünite ve inflamasyonun mekanizmaları henüz bilinmemektedir. Prolidaz aktivitesinin inhibisyonunun fibroblastlarda otoimmünitede aktif rolü olan bir sitokin olan TGF β 1 (*Transforming growth factor beta 1*) ve reseptörünün ekspresyonunda azalmaya neden olduğu, inflamasyon sürecinde kollajen dönüşümü, anjiyogenez ve bağışıklık için önemli bir transkripsiyon faktörü olan HIF-1 α 'nın (*Hypoxia-inducible factor-1 alpha*) prolidaz ekspresyonuna bağlı aktivite gösterdiği olduğu gösterilmiştir. Prolidaz aktivitesi inhibisyonunun ayrıca inflamasyonda ve sitokin, kemokin, hücre döngüsü düzenleyicileri, adezyon molekülleri ve antiapoptotik faktörlerin sentezi ve düzenlenmesinde rol oynayan ve tip I kollajen ekspresyonunun bir inhibitörü olan NF κ B'nin ekspresyonunu artırdığını gösterilmiştir (124).

Prolidaz eksikliği için kesin bir tedavi yoktur ancak topikal prolin, %5 prolin ve %5 glisin ve takrolimus uygulamalarının kronik cilt ülserleri üzerinde etkinliği bazı hastalarda gösterilmiştir (129,132). Eritrosit transfüzyonu ile ülser iyileşmesinde hafif iyileşme görülürken, allojenik HKHN yapılan bir hastanın prolidaz aktivitesinde artış olduğu, ancak hastanın nakilden üç ay sonra sekonder enfeksiyon nedeni ile kaybedildiği bildirilmiştir. Manganez (Mg²⁺) kofaktörü ile aktive edilmiş eritrositler ile transfüzyon, adenovirüs aracılı gen transferi, lipozom kapsüllü prolidazın hücre içine iletimi ve farmakolojik şaperonlar gibi terapötik yaklaşımlar da araştırılmıştır (124). Prolidaz eksikliği için önerilen bu tedaviler, henüz yeterince araştırılmamış, erişimi zor ve başarı oranı düşük tedaviler olsa da olguya olası güncel tedaviler açısından bilgilendirme amacı ile takip önerildi.

O1'de *TNFRSF13B* geninde heterozigot oluşumda saptanan c.586C>T varyantının C-terminal intraselüler domaini içermeyen bir güdük protein oluşturması beklenmektedir. Yaygın değişken immün yetmezliği (YDİY) hastalarının %5-10'u, B hücrelerinde eksprese olan bir TNF süper ailesi üyesi TACI'yı (*transmembrane activator and CAML interactor*) kodlayan *TNFRSF13B* geninde en az bir patojenik varyant taşımaktadır (133,134). *TNFRSF13B* haployetmezliği, B hücrelerinin gelişimi sırasında sınıf değiştirme rekombinasyonu, plazma hücresi farklılaşması ve antikor salgılanmasında görev alan TACI'nın ekspresyonunun azalmasına ve antikor salgılanmasının bozulmasına neden olur (135). *TNFRSF13B*'deki biallelik mutasyonların özellikle antikor eksikliğinin klinik veya immünolojik bulgularına

sahip bireylerde bulunduğu, heterozigot varyantların ise eksik penetrans gösterdiği ve YDİY riskini artırdığı öne sürülmüştür (134). YDİY hastalarının %9-20'sinde enfeksiyöz olmayan gastrointestinal etkilenim (İBH, lenfositik kolit/gastrit, granülamatöz hastalık, çölyak hastalığı vb.) bildirilmektedir (136). Kesin patogenezi bilinmemekle birlikte inflamatuvar bağırsak hastalığı benzeri hastalık, YDİY'nin en sık görülen enfeksiyöz olmayan gastrointestinal bulgusudur. YDİY'de görülen İBH'nin standart tedavi ile kontrol altına alınması zordur. YDİY'li hastalarda aylık immünoglobulin infüzyonlarının İBH üzerinde doğrudan etkili olduğuna dair kesin bir kanıt bulunmamakla birlikte, bu tedavi yöntemi tekrarlayan enfeksiyonları azaltmakta ve YDİY'nin ilerleyişini yavaşlatmaktadır (137).

O1'in immünglobulin düzeyleri normal aralıkta olmakla birlikte hastalığın dominant formunun değışken ekspresivite göstermesi, olgunun řu an izlemde olmasa da prednizolon, mesalamin ve İVİG tedavisi ile takip edildiğı dönemde remisyonda olması nedeni ile YDİY'nin prolidaz eksikliği ile birlikte olguda İBH'nin gelişimine katkı sağlamış olabileceğı düşünölmektedir.

Tekrarlayan enfeksiyonları ve atopik dermatiti olan infantil başlangıçlı S-İBH tanılı O4'de *CARMIL2* geninde saptanan c.1109C>A varyantı literatürde kompleks mukokutanöz bulguları ve eozinofilik gastroenteriti olan bir olguda patojenik olarak bildirilmiştir (138). Yaygın atopik dermatit benzeri lezyonları olan 23 yaşındaki İtalyan kadın olgunun ilk kez 18 aylıkken ortaya çıkan cilt lezyonlarının tekrarlayan bakteriyel süper enfeksiyonlarla birlikte ilerleyici bir seyir gösterdiği, çocukluk çağında sık hastane yatışı gerektiren tekrarlayan artrit, bronşit, gastrointestinal semptomları, tedaviye dirençli dev molluskum contagiosumu ve özofageal darlığı olduğu bildirilmiştir. Ebeveynleri ikinci derece kuzen olan bu olgunun ve kız kardeşinde, babasında ve babaannesinde psöriazis olduğu belirtilmiştir. TED analizinde *CARMIL2* geninde homozigot c.1109C>A varyantı saptanmış ardından RNA düzeyinde real-time PCR ve Sanger dizileme ile *CARMIL2* transkriptindeki mutant allelin kontrollere benzer seviyelerde ifade edildiğı ortaya konmuştur. Bu sonuçlar ile bu varyantın bir NMD'yi tetiklemediğı ve bir miktar güdük *CARMIL2* proteininin üretildiğı öne sürölmüştür. İmmünolojik testler ile bu olguda Treg ve B bellek hücresi (CD27+) sayılarında düşöklük olduğu, sitotoksik T hücreler

beklenenden yüksek olmakla birlikte, CD4/CD8 oranının normal olduğu bildirilmiştir (138).

En çok beyin, bağırsak, lenfoid dokuda eksprese olan CARMIL2 proteini CD28 uyarımında önemli rol oynar. TCR'ler (*T-cell receptor*) T hücresi aktivasyonunda, MHC moleküllerindeki antijenik peptitleri tanıyarak ilk sinyali sağlarlar; CD28 yardımcı uyarıcısı, antijen sunucu hücrelerdeki ligandlara bağlanarak ikinci sinyali sağlar. Bu sinyaller, NFkB sinyallemesini aktive eden CBM (CARD11-BCL10-MALT1) kompleksinin oluşmasını sağlar (139,140). *CARMIL2* mutant insan T hücreleri, *in vitro* CD28 sinyallemede, T_{H1} ve T_{H17} hücre farklılaşmasında bozukluklar ile *in vivo* T hücre polaritesi ve göçünde bozukluğa neden olan anormal hücre iskeleti organizasyonu ve bozulmuş B hücre tepkileri göstermektedir (141).

Biallelik *CARMIL2* fonksiyon kaybı varyantları, viral, bakteriyel, mikobakteriyel ve fungal enfeksiyonlar, İBH dahil olmak üzere mukokutanöz inflamasyon ve EBV+ düz kas tümörlerine yatkınlık ile karakterize bir kombine immün yetmezliğe neden olur. *CARMIL2* eksikliği olan hastalarda, düzenleyici T hücreleri (Treg), CD4+ T ve B bellek hücreleri alt gruplarında azalma görülebilmektedir. Gastrointestinal belirtiler olgularda sıklıkla görülse de, histolojik olarak doğrulanmış İBH ve eozinofilik enteropati, etkilenen bireylerin sırasıyla %22'sinde ve %24'ünde; özefageal, pilorik veya duodenal darlık ise nadiren bildirilmiştir (140). *CARMIL2* eksikliği tedavisinde standart bir yaklaşım olmamakla birlikte genellikle olgunun bulgularına göre çeşitli immünomodülatör, biyolojik ajanlar ve İVİG tedavisi uygulanmaktadır. Bununla birlikte fare ve insan çalışmaları, *CARMIL2* eksikliğinde inflamasyonun lenfositler işlev bozukluğundan kaynaklandığını, dolayısıyla HKHN'nin tedavi seçeneği olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. *CARMIL2* eksikliğinde HKHN'nin etkinliğini, riskini ve prognozunu belirlemek için uzun vadeli takip çalışmaları gerekmektedir (96). Literatürde HKHN uygulanan dört olgudan ikisinde karma, birinde tam kimerizm sağlandığı, bir olguda ise ilk nakilde greft başarısızlığı olduğu ve ikinci nakil sonrası olgunun akut respiratuar distres sendromu nedeni ile kaybedildiği bildirilmiştir (142–145).

CARMIL2 eksikliği 10 yaşına kadar neredeyse %100 penetran olsa da, aynı *CARMIL2* varyantına sahip bireyler arasında bile klinik farklılıklar gözlenebilmektedir

(140). Bu, hastalığın klinik sunumunu etkileyen ve değiştiren çevresel, genetik veya epigenetik faktörlerden kaynaklanabilir (146). CD4+ T hücrelerinde mutant bir alelin somatik reversiyonu olan hastaların daha hafif fenotiplere sahip olduğu gösterilmiştir (140). Aynı varyantın homozigot oluşumunda saptandığı O4'ün 24 yaşındaki kız kardeşindeki çocukluk çağında başlayan tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, astım ve egzama öyküsü, CARMIL2 eksikliğinin fenotipik spektrumu ile uyumludur. TED verilerinin tekrar analizi ile bu intrafamilial fenotipik değişkenliği açıklayabilecek ek bir varyant saptanmamakla birlikte olgunun ablasında olası somatik reversiyonu değerlendirmek üzere ek genetik çalışmalar planlandı. O4 için hematopoetik kök hücre nakli tedavisi planlandı ve takibinde saptanan özofageal darlık için endoskopik balon dilatasyonu yapıldı. Olguya ayrıca tüm vücut MRG ile EBV ilişkili yumuşak doku tümörleri açısından yıllık takip önerildi.

Tekrarlayan cilt apseleri ve otoimmün hepatiti olan CH tanılı O19'da XIAP eksikliği (*X-linked inhibitor of apoptosis protein*) saptandı. X'e bağlı lenfoproliferatif sendrom tip 2 olarak da adlandırılan XIAP eksikliği, erkeklerde genellikle EBV enfeksiyonu olmadan ortaya çıkan ve tekrarlayan HLH ve splenomegali ataklarının yanı sıra perirektal apselerin ve/veya fistüllerin eşlik ettiği Crohn hastalığı benzeri İBH ile karakterizedir. Olgularda tekrarlayan cilt apseleri, üveit, artrit, hepatit ve nadiren geçici hipogamaglobulinemi bildirilmektedir (147). XIAP, BIR2 (*Baculovirus IAP repeat*) domaini aracılığıyla RIPK2 (*Receptor-interacting-serine/threonine-protein kinase 2*) proteini ile etkileşir ve RING (*Really interesting new gene*) domaini aracılığıyla NOD2 sinyallemesini ve dolayısıyla NFkB/MAPK yollarını başlatmak için gerekli olan RIPK2 ubikitinizasyonunu gerçekleştirir. XIAP proteini ayrıca, kaspaz inhibitörü işlevi görerek özellikle T lenfositler gibi aktive bağışıklık hücrelerin sinyalleri de dahil olmak üzere çeşitli hücresel streslere yanıt olarak hücrelerin apoptoza girmesini önler. XIAP eksikliğinde görülen İBH'ye, XIAP'nin RIPK2 ile kusurlu etkileşimi sonucu oluşan NOD2 sinyal iletim bozukluğunun neden olduğu düşünülmektedir (148).

O19'da XIAP geninin mutasyonel *hot-spot* domaini BIR2'de (*Baculovirus IAP repeat*) saptanan p.Gly205del değişimi daha önce iki olguda bildirilmiştir (82,149). Bu olgulardan birinde 8 yaşında başlayan infleksimaba dirençli Crohn hastalığı olduğu, olgunun tekrarlayan enfeksiyon veya HLH öyküsü olmadığı ve HKHN sürecinde

olduğu bildirilmiştir. Bu olgunun mononükleer hücrelerindeki XIAP proteinin kontrole göre azalmış olduğu Western blot yöntemi ile gösterilmiştir. Ayrıca moleküler dinamik simülasyon ile, bu mutasyonun, XIAP ve RIPK2 proteinlerinin etkileşimini bozarak XIAP'ın oto-ubikitinasyonu ve degradasyonu sonucu NOD2 sinyalleme bozukluğu oluşturduğu öne sürülmüştür (82). Aynı varyantı olgumuzdaki gibi *de novo* taşıyan bir diğer olguya, 17 aylık iken başlayan ve tekrarlayan HLH nedeni ile HKHN yapıldığı, nakil sonrası 59. günde kutanöz graft-versus-host hastalığı geliştiği, %89,5 karma kimerizme ulaşıldığı, 11 aylık takibin sonunda olgunun sağlıklı ve hayatta olduğu bildirilmiştir (149).

XIAP eksikliği için standart bir tedavi önerisi yoktur ve tedavi protokolü genellikle hastanın bulgularına göre belirlenir. İBH tedavisinde kortikosteroidler, azatioprin, anti-TNF- α ve mesalamin gibi ajanlar kullanılabilir ancak bu olgularda İBH genellikle immünosüpresif tedaviye dirençlidir. XIAP eksikliği için tek küratif tedavi seçeneği allojenik HKHN'dir ve literatürde HKHN ile remisyona giren refrakter Crohn hastalığına sahip birçok olgu bildirilmiştir (149,150). İBH açısından remisyonda olan ancak tekrarlayan cilt apseleri olan O19'un HKHN açısından değerlendirilmesi planlandı.

Çalışmamızda üç olguda ailesel akdeniz ateşi (FMF) saptandı (%13,6). *MEFV* geni tarafından kodlanan ve pirin inflamazomunun önemli bir bileşeni olan pirin proteini, patojenler veya toksinlerin neden olduğu hücre iskeleti yıkımının bir sensörü olarak görev alan C-terminal B30.2 domainine sahiptir. Proinflamatuvar bir olayın ardından pirin, pirin domaini (PYD) aracılığıyla inflamazom adaptörü ASC'ye (*apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD*) bağlanarak kaspaz-1'i aktive eder ve proinflamatuvar sitokinler olan interlökin 1 β (IL-1 β) ve interlökin 18'in (IL-18) aktivasyonunu sağlar (151,152). *MEFV* geninin işlev kazanımı mutasyonları aşırı inflamazom aktivasyonuna neden olarak FMF'e neden olur (153). Tekrarlayan ateş ve serözit atakları ile karakterize olan FMF, İBH'ye yatkınlık oluşturan otoinflamatuvar bir hastalıktır. Yaşamın ilk yılından yetişkinliğine kadar ortaya çıkabilen FMF hastalığı özellikle Akdeniz bölgesinde yaşayan Kuzey Afrika Yahudileri, Ermeni, Türk ve Arap toplumlarını etkilemektedir (154). FMF klasik olarak otozomal resesif kalıtılmakla birlikte bazı heterozigot bireylerin FMF hastalığının fenotipik bulgularını sergilediği ve otozomal dominant kalıtım gösterdiği

bilinmektedir. Klasik FMF olgularının yaklaşık üçte birinde monoallelik mutasyon tespit edilmektedir (155). FMF'in en ciddi komplikasyonu böbrek yetmezliğine yol açabilen amiloidozdur. Kolşisinin uygun dozda ve uyumlu kullanımı, olguların çoğunda inflamatuvar atakları ve renal amiloidoz oluşumunu önler. Kolşisine dirençli olgularda çeşitli IL-1 blokerleri etkili olabilmektedir (154). FMF, İBH hastalarında genel popülasyona göre daha yaygındır ancak *MEFV* mutasyonlarının İBH'nin klinik seyri üzerindeki etkisi tartışmalıdır. *MEFV* varyantlarının erken başlangıç, pankolit, ekstraintestinal bulgular, operasyon ihtiyacı ve daha şiddetli bir seyirle ilişkili olduğuna ve İBH'yi modifiye edici olduğuna dair birçok çalışma mevcuttur (156–159). Bununla birlikte *MEFV* mutasyon taşıyıcısı olan ve olmayan İBH hastaları arasında klinik bir fark olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (160,161). Ülkemizde 2021 yılında ortalama yaşı 10.8 ± 4.6 olan 597 pediyatrik İBH olgusu ile yapılan bir çok merkezli çalışmada, olguların %41,9'unda *MEFV* mutasyonları saptandığı, mutasyon varlığının hastalığın klinik bulguları ve seyri üzerinde yüksek bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (162).

Çalışmamızdaki olguların üçünde, *MEFV* geninde patojenik p.Met694Val (M694V) değişimi, dördünde VUS olarak sınıflandırılan p.Glu148Gln (E148Q), p.Arg408Gln (R408Q) ve p.Pro369Ser (P369S) varyantları olmak üzere olguların %31,2'sinde *MEFV* varyantları saptandı (7/22). Bu olguların dördünde *MEFV* varyantının yanı sıra İBH ilişkili çeşitli genlerde VUS varyantlar saptandı (Tablo 5.2.).

Tablo 5.2. *MEFV* geninde varyant tanımlanan olgular

Olgu	<i>MEFV</i> varyantları	Ek varyant	Tanı	Yaş grubu
O2	M694V/M694V	+ (<i>PLCG2</i>)	S-İBH	İnfanıl İBH
O11	M694V/WT	+ (<i>CARD8,CARD11</i>)	ÜK	ÇEB-İBH
O20	M694V/WT	+ (<i>IFIH1</i>)	ÜK	PB-İBH
O15	E148Q/WT	+ (<i>NLRP3</i>)	ÜK	EB-İBH
O3	E148Q/WT	-	S-İBH	ÇEB-İBH
O5	E148Q/E148Q	-	S-İBH	ÇEB-İBH
O7	E148Q/R408Q/P369S	-	CH	ÇEB-İBH

O2'de homozigot, O11 ve O10'de heterozigot oluşumda saptanan M694V varyantı, eklem tutulumu ve amiloidoza bağlı böbrek tutulumunun belirgin olduğu daha erken başlangıçlı ve şiddetli FMF fenotipi ile ilişkilidir (154). Ülkemizde ortalama yaşı 7.5 ± 3.4 yıl olan FMF tanılı 78 olgunun değerlendirildiği bir çalışmada, kanlı mukuslu gaita, kronik ishal, FMF ile uyumsuz karın ağrısı ve/veya anti-*Saccharomyces cerevisiae* veya perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikorları pozitifliği bulguları olan 20 olgu kolonoskopi ile değerlendirilmiş ve çalışmaya dahil edilen FMF olgularının %15,4'ü (7/78) İBH tanısı almıştır (81). Pediatrik başlangıçlı İBH tanılı 16 Türk olguyu değerlendiren bir çalışmada ise olguların yedisinde (%21.2) FMF hastalığı tanımlanmıştır (163). Her iki çalışmada da M694V, olgularda en sık saptanan varyant olarak bildirilmiştir. Yakın zamanda yapılan Ermeni kökenli 69 pediatrik İBH tanılı olgunun değerlendirildiği bir çalışmada, bu gruptaki FMF tanılı 25 (%36,2) olgunun %36'sının (9/25) ÇEB-İBH grubunda olduğu ve çoğunun M694V varyantını taşıdığı gösterilmiştir (164). ÇEB-İBH ve infantil İBH olgularında M694V varyantının hastalığı modifiye edici etki gösterdiği ve İBH bulgularının kolşisin tedavisi ile gerilediği, olgu sunumu ve olgu serilerinde bildirilmiştir (165–167).

O2'de ayrıca, *PLCG2* geninin *Pleckstrin homology* (PH) domaininde maternal kalıtılan VUS c.304A>T varyantı heterozigot oluşumda saptandı. *PLCG2* geninin kodladığı Fosfolipaz C gama 2 (PLC γ 2), ikincil haberci moleküller olan diaçilgliserol (DAG) ve inozitol 1,4,5-trisfosfatın (IP3) üretimine aracılık ederek B lenfositler ve doğal öldürücü (NK) hücreler başta olmak üzere birçok hematopoietik hücresel cevabı kontrol eden bir enzimdir (168). *PLCG2*'nin monoallelik patojenik varyantları, hipogammaglobulinemi, tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar, otoimmün soğuk ürtiker ve steril inflamasyon gibi bulguları içeren oldukça penetran ancak değişken özelliklere sahip immün disregülasyon tablolarına yol açmaktadır (86). PLC γ 2'nin oto-inhibitör *C-terminal Src-homology 2* (cSH2) domainini içeren X-Y *linker* bölgesinin büyük çerçeve içi delesyonları PLC γ 2 ile ilişkili antikor eksikliği ve immün disregülasyon sendromu (PLAID) ile ilişkilendirilirken, aynı domainin işlev kazanımına neden olan *missense* değişimleri PLAID'e benzer humoral sorunlara ek olarak periyodik ateş, artrit, İBH, interstisyel akciğer hastalığı (İAH) gibi ek sistemik bulgular ile seyreden otoinflamatuvar PLAID (APLAID) tablosu ile ilişkilendirilmiştir (86,169). Bu olgularda B lenfosit ve NK hücrelerinde düşüklük ve antikor eksikliği

görülebilmektedir (169). Bu iki hastalığın tanımlanmasının ardından klinik olarak çeşitli immün disregülasyon tablolarına sahip olgularda *PLCG2* geninde klinik önemi bilinmeyen birçok varyant tanımlanmıştır. Proteinin farklı domainlerinde yer alan bu varyantların çoğunun (%72), PLC γ 2'ye bağlı aktivasyon işlevini etkilediği, B hücre reseptörü uyarımı sonrası kalsiyum akışı ve/veya hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz [*extracellular signal-regulated kinase*, (ERK)] fosforilasyonu üzerindeki değişimler ölçülerek belirlenmiştir ve çoğunun işlev kaybına neden olduğu gösterilmiştir. Enfeksiyona ve otoinflamasyona yatkınlığın, hem işlev kazancı [*Gain of function* (GoF)] hem de işlev kaybı [*Loss of function* (LoF)] oluşturan varyantlara sahip olgularda yaygın olmakla birlikte LoF varyant taşıyan olguların çoğu hümmoral immün yetmezlik, otoinflamasyon, herpes enfeksiyonuna yatkınlık ve NK hücre disfonksiyonundan oluşan yeni bir fenotipik kümelenme göstermektedir. Bu çalışmaya göre *PLCG2* varyantlarının penetransı ve ekspresyonu her iki grupta da değişkendir. İBH, LoF grubunun %24'ünde, GoF grubunun ise %38'inde bildirilmiştir (86).

PLCG2 ilişkili immün disregülasyon için hedefe yönelik herhangi bir tedavi önerisi olmamakla birlikte sistemik kortikosteroidlerin semptomlarda iyileşme ve kısmi hastalık kontrolü sağladığına dair kanıtlar vardır. İmmün yetmezlik ve enfeksiyonların belirgin olduğu olgularda İVİG ve profilaktik antibiyotik tedavisi, inflamatuvar bulguları ön planda olan olgularda ise IL-1 veya TNF inhibitörü tedavisi uygulanan olgularda kısmi yanıtlar bildirilmiştir (169). APLAID olgularında NLRP3 inflamazomu aktivitesinde artış olduğu ve bu olgularda IL-1 inhibitörlerinin etkili olabileceği bir çalışmada bildirilmiştir (170). Yakın zamanda, granülosit-koloni uyarıcı faktörün (G-CSF), APLAID için bir biyobelirteç olabileceği, bu olguların allojenik kemik iliği transplantasyonundan veya G-CSF'yi bloke eden tedavilerden faydalanabileceği öne sürülmüştür (171).

Literatürde etkilenmiş bireylerde tanımlanan birçok varyantın VUS olduğu ve *in silico* araçlar ile benign olduğu öngörülen varyantların tanımlandığı göz önüne alındığında, bu *PLCG2* varyantının olguda FMF ile birlikte otoinflamasyonu tetikleyen bir değişim olabileceği düşünülmektedir (86,172).

O11'de patojenik *MEFV* varyantının yanı sıra, *CARD11* ve *CARD8* genlerinde saptanan heterozigot VUS varyantların olgunun annesinden kalıtılmadığı saptandı. Ancak paternal örnek alınamadığı için segregasyon analizi tamamlanamadı. *CARD11*

geni, BCL10 ve MALT1 ile CBM kompleksini oluşturan lenfositlere özgü bir *scaffold* proteini kodlar. Bu kompleks, B ve T lenfosit reseptörlerinin sinyal yollarındaki adaptörü olarak görev alarak bağışıklık tepkilerini düzenlemede rol oynar: NFkB, mTOR (*mammalian target of rapamycin*) gibi önemli yolları aktive ederek lenfosit aktivasyonunu, çoğalmasını ve sağkalımını düzenler (97). *CARD11* geninde farklı klinik fenotiplere yol açan çok sayıda varyant tanımlanmıştır. *CARD11*'deki biallelik LoF varyantları şiddetli AKİY'ye neden olurken heterozigot GoF varyantlar, B hücreli lenfoproliferatif hastalığa ve NFkB ve T hücre anejisi olan B hücre ekspansiyonu (BENTA) olarak adlandırılan immün yetmezliğe neden olur. Heterozigot dominant negatif (DN) varyantlar ise NFkB sinyallesinin dominant müdahalesi ile *CARD11* ilişkili atopi (CADINS) olarak adlandırılan bir fenotipe yol açar (173).

O11'de *CARD11* geninde saptanan p.Lys69Asn varyantı, DN varyantların çoğunun bulunduğu CARD domaininde yer almaktadır. Fonksiyonel çalışmalar ile Lys69 rezidüsünün *CARD11*-BCL10 ko-immunopresipitasyonu ve NFkB aktivasyonu için kritik olduğu, bu pozitif yüklü rezidünün değişimlere toleranssız olduğu ve rezidüdeki nötral (Leu) veya negatif (Gln) yüklü değişimlerin *CARD11*'i işlevsiz hale getirdiği ve dominant negatif aktivite gösterdiği bildirilmiştir (174).

CARD11 geninde DN varyanta sahip olgularda atopik dermatit (%73), astım (%55), gıda alerjileri (%32) ve daha az sıklıkla rinit ve eozinofilik özofajit gibi diğer atopik bulgular ile viral cilt ve akciğer enfeksiyonları bildirilmiştir. Eşlik eden bulgular arasında alopesi, İTP, büllöz pemfigoid ile nadiren nötropeni ve lenfoproliferatif hastalık sayılabilir (175). Literatürde bazı olgularda ciddi gastrointestinal bulgular (infantil eozinofilik kolit, proktokolit, ÇEB-İBH, ÜK, IPEX benzeri hastalık, kronik ishal, eozinofilik özefajit) bildirilmiştir (97,175,176).

O11'de *CARD8* geninde saptanan p.Arg459Trp varyantı CARD domaininde yer alır. Monositlerde ve bağırsak epitelinde yaygın eksprese edilen *CARD8*, NLRP3 inflamazomu, NFkB sinyal yolu ve piroptozu düzenleyerek doğal bağışıklık sistemi ve inflamasyonda kritik bir rol oynamaktadır (177). *CARD8*'in, NLRP3 ile FIIND domaini aracılığıyla etkileşime girdiği ve NLRP3 inflamazomunun negatif düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir (178). *CARD8* geninde bir SNP'nin (rs2043211) özellikle Avrupa toplumlarında İBH (özellikle CH) yatkınlığı oluşturduğunu öne süren çalışmalar mevcuttur (89).

Bir ailede *CARD8* geninde heterozigot p.Val44Ile (V44I) varyantı, hepsi CH tanısı ile takipli olan bir erkek çocuk, annesi ve teyzesinde tanımlanmıştır (84). Proband serumunda IL-1 β , IL-6 ve TNF- α seviyelerinde kontrollere kıyasla artış ve etkilenen tüm bireylerde periferik kan mononükleer hücreleri ve monosit kültürlerinden elde edilen süpernatantlarda IL-1 β seviyelerinde kontrollerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde artış saptanmıştır. V44I mutantının yabancı *CARD8*'e bağlanıp oligomerler oluşturduğu, böylece dominant negatif etki ile NLRP3'e bağlanmayı engellediği gösterilmiştir. V44I mutasyonunun *CARD8*'in NLRP3 inflamazomu üzerindeki inhibitör etkisini ortadan kaldırarak inflamasyona neden olduğu öne sürülmüştür ve olgunun bulgularının IL-1 inhibitörü tedavisi (anakinra) ile hafiflediği bildirilmiştir (84). Çok erken başlangıçlı CH ve juvenil idiopatik artrit tanılı bir olguda *CARD8* geninde heterozigot VUS p.Ser289Arg varyantı tanımlanmıştır ve olgunun mevcut metotreksat tedavisine TNF inhibitörü (adalimumab) eklenmesinden iki ay sonra yapılan takiplerinde klinik açıdan belirgin iyileşme görüldüğü bildirilmiştir (179).

MEFV ve *CARD8*, inflamazom aktivitesini ve IL-1 β salınımını düzenleyerek doğal bağışıklık tepkilerine ve inflamasyona katkıda bulunurken *CARD8*, NFKB yolunun negatif düzenleyicisi ve *CARD11* ise aktivatörü olarak görev yaparak immün yanıtı düzenlemektedir. Bu genlerin benzer ve ilişkili yollar üzerinden immün yanıtı düzenliyor olması, olguda genetik modifiye edici / oligogenik kalıtım olasılığını akla getirmektedir. Litetaturde daha önce heterozigot *MEFV* ve *CARD11* varyantları saptanan bir olgunun digenik kalıtım göstermiş olabileceği ileri sürülmüştür (180). Olguda saptanan varyantların segregasyonunun tamamlanması ile patojenitelerinin yeniden sınıflandırılması mümkün olabilir.

O20'de patojenik *MEFV* varyantının yanı sıra *IFIH1* geninde ekzon 14'ün atlanması sonucu viral dsRNA'ya bağlanmak için gerekli olan C-terminal düzenleyici alandan yoksun bir protein oluşturan heterozigot c.2807+1G>A varyantı saptandı (121,122). *IFIH1* geni tarafından kodlanan MDA5 proteini (*Melanoma differentiation-associated gene 5*), konakçı antiviral yanıtları için kritik olan kaspaz aktivasyon toplama alanlarına sahip bir grup sitoplazmik RNA helikaz olan RIG-I (*Retinoic acid-inducible gene I*) benzeri reseptörler (RLR'ler) sınıfına aittir. Viral nükleik asitlerin tanınması üzerine, MDA5 ve RIG-I, RLR sinyali iletimindeki temel adaptör olan

mitokondriyal antiviral sinyalleme proteini (MAVS) ile etkileşime girer. MAVS, uyarıldığında, tip I ve III IFN genlerinin transkripsiyonunu indükleyen transkripsiyon faktörlerini aktive eder. Otokrin ve parakrin IFN uyarımı daha sonra birçoğu antimikrobiyal işlevlere sahip proteinleri kodlayan yüzlerce genin transkripsiyonunu uyarır (181,182).

RLR/MAVS yolağında antiviral yanıtları uyarak gastrointestinal enfeksiyonlara karşı korumada önemli bir rol oynayan *IFIH1* geni GWAS çalışmalarında İBH ile ilişkilendirilmiştir (2). Hayvan çalışmaları, RIG-I veya MAVS'den yoksun farelerin, bağırsak bütünlüğünü koruyan bağışıklık yanıtlarını tetiklemedeki başarısızlık nedeniyle kolit ve bağırsak hasarına daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Crohn hastalığına sahip olgularda, ileal RIG-I *down* regülasyonu gözlemlenmiştir. Konnektom analizi ile *IFIH1*'in erken başlangıçlı İBH patogenezinde yer alan diğer yollar ile biyolojik olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir (122).

MDA5 eksikliğinin otozomal dominant/resesif kalıtım ve eksik penetrans ile enfeksiyonlara ve çok erken başlangıçlı İBH'ye karşı artan duyarlılıkla karakterize bir primer doğal bağışıklık kusuruna neden olduğunu ve bozulmuş viral algılamının İBH patogenezinde bir rolü olduğunu ileri süren bir çalışmada sağlıklı ebeveynlerden kalıtılan c.2807+1G>A varyantı, 2 ve 6 yaşlarında Crohn hastalığı tanısı alan iki olguda tanımlanmıştır ve 6 yaşındaki olguda ek olarak otoimmün hepatit ve juvenil idiyopatik artrit olduğu bildirilmiştir (122). *IFIH1* geni ayrıca, O20'de görülen İTP ile ilişkisi araştırılan genlerden biridir. Daha önce kronik refrakter İTP tanılı olgularda *IFIH1* geninde VUS varyantlar bildirilmekle birlikte bu varyantların fonksiyonel etkilerine yönelik çalışmalar henüz mevcut değildir (183,184).

FMF ile ilişkisi açıkça ortaya konmuş olan M694V varyantının aksine, O3, O5, O7 ve O15'te saptanan varyantların patogenezdaki rolü konusunda tartışmalar mevcuttur. Başlangıçta düşük penetranslı ve hafif semptomlarla ilişkili patojenik bir varyant olarak tanımlanan E148Q'nin, sonraki çalışmalarda hastalar ve kontrollerde benzer sıklıkta bulunması nedeni ile bir polimorfizm olduğu ileri sürülmüştür (154,185). E148Q varyantı ülseratif kolit hastalığında cerrahi girişim ihtiyacı, Crohn hastalığında perianal tutulum ve striktür gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (159,186). FMF tanı kılavuzunda bu varyant VUS olarak değerlendirilmektedir ve semptomatik bir olguda *MEFV* geninde heterozigot VUS varyant saptanması durumunda diğer

otoinflamatuvar hastalıkların araştırılması önerilmektedir (187,188). E148Q açısından homozigot ve bileşik heterozigot bireylerin ise yalnızca şiddetli inflamatuvar ataklar ve/veya amiloidoz sonucu proteinüri gelişmesi halinde kolşisin ile tedavi edilmesi önerilmektedir (154). Sınıflandırılmayan-İBH tanılı sekiz erişkin olguyu değerlendiren bir çalışmada, olguların beşinde *MEFV* varyantı saptandığı, heterozigot E148Q varyantını taşıyan üç olguda kolşisin tedavisi ile klinik ve endoskopik iyileşme olduğu bildirilmiştir (189). *MEFV* geninde hastalığa neden olan varyantların ÇEB-İBH grubunda, kontrol grubuna göre üç kat daha fazla olduğunu bildiren bir çalışmada 23 olgunun 5'inde E148Q varyantı heterozigot oluşumunda saptanmıştır ancak tedavi modaliteleri ve tedaviye yanıtları ayrıntılandırılmamıştır (166). O7'de E148Q allelinin transında saptanan R408Q ve P369S varyantları bağlantı dengesizliği gösteren ve bu nedenle aynı allelde (cis) kalıtılan varyantlardır. Polimorfizm olarak değerlendirilen bu varyantlar atipik FMF, PFAPA benzeri hastalık ve entero-Behçet hastalığına yatkınlık ile ilişkilendirilmektedir (190).

Kılavuz önerileri ile VUS olarak kabul edilmekle birlikte bu varyantların diğer genetik, epigenetik ve çevresel faktörlerle birlikte inflamasyona yatkınlık oluşturmuş olabileceği ve literatürde kolşisin tedavisinden fayda görmüş İBH'li olguların bildirildiği göz önünde bulundurularak, tedaviye yanısızlık durumunda bu olguların kolşisin tedavisinden fayda görebileceği düşünülmektedir (187,188).

O15'te heterozigot E148Q varyantının yanı sıra *NLRP3* geninde heterozigot VUS c.598G>A (p.Val200Met) değişimi saptanmıştır. *NLRP3* (kriyopirin) inflamazomu, kaspaz 1 aktivasyonu sonucu proinflamatuvar sitokinler olan IL-1 β ve IL-18'in salınımını sağlar. Kriyopirinle ilişkili periyodik sendromlar (CAPS), aşırı IL-1 β salınımına ve sistemik inflamasyona neden olan *NLRP3* genindeki GoF mutasyonlara bağlı ortaya çıkar. CAPS'nin klinik fenotipik spektrumu, ailesel soğuk otoinflamatuvar sendrom (FCAS), Muckle-Wells sendromu (MWS) ve CINCA sendromu olarak tanımlanan durumları içerir. FCAS genellikle soğuğa maruz kalma sonrası eklem ve kas ağrıları, ateş, ve artrit ile birlikte görülen tekrarlayan makulopapüler döküntü atakları ile karakterizedir. Nadiren bazı hastalarda geç başlangıçlı renal amiloidoz gelişebilir. MWS epizodik döküntü, artralji ve ateşle karakterizedir ve geç başlangıçlı sensörinöral sağırılık ve renal amiloidozla ilişkilidir. Kronik infantil nörolojik kutanöz ve artiküler sendrom (CINCA) ise cilt bulguları,

merkezi sinir sistemi tutulumu ve artropati ile karakterize erken başlangıçlı, şiddetli, kronik bir inflamatuvar hastalıktır (191). *NLRP3* geninde tanımlanan p.Arg779Cys varyantının çok erken başlangıçlı inflamatuvar bağırsak hastalığının gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (192).

Bağırsak epitel hücrelerinde steril inflamasyonu ve makrofajların sürekli aktivasyonunu tetikleyen *NLRP3* aktivasyonu, İBH patogenezinde önemli bir indükleyici faktör olarak kabul edilir. *NLRP3* ekspresyonunun farklı adımlarını ve inflamazom birleşimini veya sitokin salınımının blokajını manipüle eden ajanların kombinasyonu, İBH dahil olmak üzere *NLRP3* ilişkili inflamatuvar hastalıkların tedavisinde büyük potansiyele sahiptir (193).

Olguda saptanan p.Val200Met varyant düşük penetranslı bir değişimdir. Bu varyanta sahip olgularda karın ağrısı, ishal, kabızlık, mide bulantısı, kusma ve gastroözofageal reflü gibi şiddetli gastrointestinal belirtiler bulunmakla beraber İBH daha önce bildirilmemiştir. Patojenik *NLRP3* varyant fenotipleri iyi karakterize edilmiştir ancak düşük penetranslı *NLRP3* varyantlarının bazı etkilenmemiş aile üyelerinde tanımlanması ve normal kontrol popülasyonlarında yüksek frekanslarda mevcut olması bu tartışmalı varyantların işlevsel ve klinik öneminin değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. Patojenik ve düşük penetran *NLRP3* varyantlarına sahip iki hasta grubu, klinik, laboratuvar bulguları ve IL-1 inhibitörlerine yanıt açısından değerlendirilmiştir. Her iki grupta benzer sıklıkta baş ağrısı, döküntü, miyalji ve eklem ağrısı olduğu ve en yaygın bulgunun yorgunluk olduğu bildirilmiştir. Ateş ve karın ağrısı, ishal, kabızlık, mide bulantısı, kusma ve gastroözofageal reflü dahil olmak üzere gastrointestinal semptomların düşük penetranslı *NLRP3* varyantı olan hastalarda ; göz tutulumu (konjonktivit, üveit), sensörinöral işitme kaybı, artrit ve böbrek tutulumu gibi CAPS ilişkili belirtilerin ise patojenik *NLRP3* varyantı olan hastalarda daha yaygın olduğu gözlemlenmiştir. IL-1 inhibitörleri ile en az 1 yıl tedavi edilen düşük penetranslı varyanta sahip 20 hastanın yarısında tam yanıt, yarısında kısmi yanıt elde edildiği, IL-1 inhibisyonunun ateş, yorgunluk, eklem ağrısı, döküntü ve konjonktivit dahil sistemik semptomları azaltmada etkili olduğu ancak oral ülserler ve gastrointestinal semptomlara karşı daha az duyarlı olduğu bildirilmiştir (191).

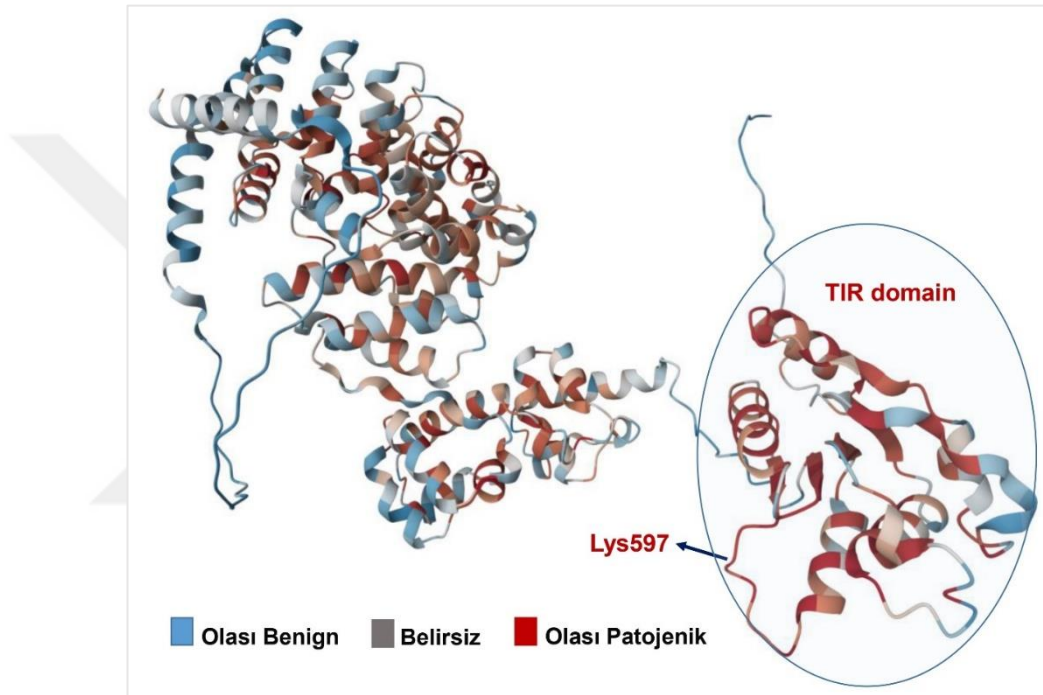
O15'te ayrıca inflamasyon ve İBH patogenezindeki bazı rolleri yakın zamanda aydınlatılan *SARM1* geninde çerçeve kayması oluşturarak proteinin erken

sonlanmasına neden olan nadir c.1781_1782insTCAAT varyantı heterozigot oluşumda saptandı. Belirgin doku spesifitesi göstermemekle birlikte santral sinir sisteminde yaygın eksprese edilen *SARM1* geni çeşitli organizmalarda doğal bağışıklıkta rolleri olan Toll-IL-1 reseptörü (TIR) domaini içeren evrimsel olarak oldukça korunmuş bir proteini kodlar. Miyeloid farklılaşma faktörü 88 (MyD88) ve TIR alanı içeren adaptör indükleyici interferon- β (TRIF) dahil olmak üzere memeli TIR proteinleri, TIR-TIR homotipik etkileşimleri yoluyla TLR sinyal iletimini indüklerken, *SARM1* doğrudan TRIF ile etkileşime girerek TLR sinyallemesini negatif düzenlemektedir. Bunun yanı sıra *SARM1*, TLR'ler için adaptör görevi gören diğer TIR proteinlerinin aksine, nöronal hücre ölümünü düzenleyen NADaz (*NADase*) aktivitesine sahiptir. İnsan monositlerinde *SARM1*, NADaz bağımlı veya bağımsız bir şekilde proinflamatuvar sitokin ekspresyonunu düzenlemektedir. *SARM1*'in, NADaz bağımsız olarak TLR4'e bağımlı TNF transkripsiyonunu negatif düzenlediği; pro-IL-1 β ekspresyonunu NADaz bağımlı, NLRP3 inflamazomunu ise NADaz bağımsız olarak baskılayarak IL-1 β salgılanmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (194).

SARM1 proteininin İBH patogenezindeki rolünü araştıran bir çalışmada ÜK hastalarının periferik kan mononükleer hücrelerinde *SARM1* mRNA düzeylerinde sağlıklı bireylere kıyasla belirgin azalma olduğu ve azalmış ekspresyonun artan hastalık şiddetiyle korele olduğu bildirilmiştir. *SARM1 knock-outunun*, hayvan ve in vitro hücre modellerinde proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırdığı ve dekstran sülfat sodyum ile indüklenen kolit modelinde inflamasyonu şiddetlendirdiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada *SARM1*'in ayrıca NF κ B ve MAPK sinyal yollarının bir negatif düzenleyicisi olan TRAF3'ün (TNF reseptörü ilişkili faktör 3) MyD88 ile etkileşimini sağlayarak inflamatuvar yanıtları düzenlediği öne sürülmüştür (195).

O15'te saptanan heterozigot p.Glu594AspfsTer3 varyantının inflamatuvar süreçlerde önemli işlevleri olan TIR domaininin (560-703 amino asit pozisyonları) büyük bir kısmının kaybına neden olması beklenmektedir. *SARM1* geninin pLI skoru düşüktür (≤ 0.1). Düşük pLI skoruna sahip genlerdeki LoF varyantlar genellikle heterozigot taşıyıcılarda iyi tolere edilir ve sıklıkla otozomal resesif kalıtımla uyumludur. Bununla birlikte düşük pLI skoruna sahip tüm genler bu kalıtım örüntüsünü takip etmez; örneğin doku spesifik eksprese edilen, bağlama bağlı ekspresyon ve işlevleri olan, eksik penetrans ve değişken ekspresivite gösteren bazı

genler LoF toleransı olmadığı halde düşük pLI skorları gösterebilir. Bir genin hastalıktaki rolünü anlamlandırmak için, pLI skorunu klinik veriler, segregasyon ve fonksiyonel analizler gibi ek kanıtlarla birlikte değerlendirmek önemlidir (196). Babası da kendisi gibi ÜK tanısı ile takipli olan bu olguda segregasyon analizi varyantın önemini değerlendirmek açısından önemlidir. Özgün varyant için olguda doğrulama, ebeveynlerinde ise segregasyon analizi amacı ile Sanger dizileme ve mRNA düzeylerini değerlendirmek üzere kantitatif PCR çalışılması planlandı.



Şekil 5.1. SARM1 proteininin AlphaFold aracı ile görselleştirilen tahmini üç boyutlu yapısı (197,198).

Her rezidü için görüntülenen renk, o pozisyondaki tüm olası amino asit değişimlerine ait ortalama AlphaMissense patojenite skoru ile belirlenen sınıfı temsil eder (UniProt: Q6SZW1) (199).

O15'te saptanan bu varyantlar klinik önemi belirsiz değişimler olmakla birlikte her üç genin de inflamazomlar üzerinden IL-1 salınımını düzenlediği göz önünde bulundurularak bu varyantların olgudaki bağırsak inflamasyonu gelişimine katkı sağlamış olabileceği düşünülmektedir.

O16'da *NOD2* geninde homozigot oluşumda saptanan ve literatürde CH ile ilişkili olarak bildirilen p.I363F varyantının, %10'dan az membran ilişkisi gösterdiği

ve yabancı proteinin yaklaşık %50'si kadar NFkB sinyalleşme aktivitesine sahip olduğu bir fonksiyonel bir çalışmada gösterilmiştir. Birçok *NOD2* varyantının fonksiyonel etkisini değerlendiren bu çalışmada, Crohn hastalığıyla ilişkili tüm SNP'lerin aynı mekanizma üzerinde ve aynı derecede işlevsel etki göstermediği, bazı varyantların membran ilişkisi ve RIPK2 etkileşimini bozmadığı halde sinyalleme kapasitesinde belirgin azalmaya neden olurken, bazılarının membran ilişkisini bozarken sinyallemeyi aynı şiddette etkilemediği, dolayısıyla *NOD2* ilişkili işlev bozukluğu mekanizmalarının karmaşık olduğu ve *NOD2*'nin inflamatuvar yollardaki diğer etkilerinin araştırılması gerektiği öne sürülmüştür (119). R702W, G908R ve L1007fs gibi İBH ile ilişkisi kanıtlanmış *NOD2* varyantların dahi ClinVar veritabanında “patojenite sınıfı çelişkili” varyantlar olarak yer alması, *NOD2* varyantlarının karakterizasyonu ve klinik önemlerinin yorumlanmasındaki zorluğu gözler önüne sermektedir.

NOD2 varyantlarının CH gelişimi, erken başlangıç, terminal ileum tutulumu, striktür gelişimi, kolorektal kanser gelişimi, cerrahi müdahale ihtiyacı ve steroid tedavisine direnç ile ilişkili bir risk faktörü olduğu kabul görmekle birlikte olguların %7-10'unda nadir *NOD2* varyantlarının resesif kalıtımının eksik penetrans ve değişken ekspresyon gösteren monogenik bir hastalığa neden olabileceği ileri sürülmüştür (45,46,49). Güncel algoritmalar ile VUS olarak sınıflandırılmakla birlikte, bu nadir varyantın olguda CH gelişiminde rol alan bir risk faktörü olabileceği göz ardı edilmemelidir. Otozomal resesif kalıtım paterni gösteren olguların ve nadir *NOD2* varyantlarının tanımlanması ve fonksiyonel etkilerinin araştırılması bu varyantların İBH patogenezindeki rolünün aydınlatılması açısından değerlidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızdaki olguların %27,3'ünde (6/22), tüm ekzom dizileme analizi ile inflamatuvar bağırsak hastalığı ilişkili monogenik hastalık saptandı.
2. Üç olguda FMF hastalığı; bir olguda CARMIL2 eksikliği; bir olguda XIAP eksikliği (1/22); bir olguda prolidaz eksikliği ve TACI eksikliği saptandı.
3. Moleküler etiyojinin (XIAP ve CARMIL2 eksikliği) tanımlanması sayesinde, olguların %9,1'ine (2/22), İBH açısından küratif ve hayat kurtarıcı olabilecek allojenik hematopoetik kök hücre nakli tedavisinin önerilmesi sağlandı. CARMIL2 eksikliği saptanan O4'e ayrıca, EBV ilişkili yumuşak doku tümörleri açısından tüm vücut MRG ile yıllık takip önerildi.
4. Bir olguda (O1) prolidaz eksikliği ve TACI eksikliğinin birlikte saptanması, intestinal inflamasyon açısından penetransı düşük gen defektlerinin, farklı mekanizmalar ile İBH patogenezinin katkı sağlayarak erken başlangıç veya agresif hastalık seyrine neden olabileceğini düşündürmektedir. Çifte (dual) veya çoklu tanının, özellikle sunabileceği tedavi seçenekleri açısından, bu olgularda göz ardı edilmemesi önerilir. Prolidaz eksikliği için hematopoetik kök hücre naklinin etkinliği ile ilgili yeterli veri olmamakla birlikte O1'e potansiyel hedefe yönelik terapiler açısından bilgilendirmek üzere takip önerildi ve takibinde gelişen cilt lezyonları için topikal %5 prolin tedavisi önerildi.
5. Çalışmamızdaki olguların %13,6'sında FMF saptandı (3/22). Ülkemizde FMF'in yüksek prevalansı göz önünde bulundurularak, pediyatrik İBH tanılı olguların *MEFV* varyantları açısından değerlendirilmesi, uygun olgulara kolşisin tedavisi başlanmasına ve IL-1 inhibitörlerinin kullanılmasına imkan sağlayarak hastalık yönetimine önemli fayda sağlayacaktır. *MEFV* varyant taramasının öncelikle maliyet etkin testler ile yapılması önerilir.
6. İBH başlangıcı, monogenik hastalık saptanan olguların %50'sinde (3/6), hepsi infantil başlangıçlı (0-2 yaş) olmak üzere, çok erken başlangıçlı İBH grubunda (0-6 yaş); %50'sinde (3/6) ise 7-18 yaş aralığında saptandı. Infantil başlangıçlı İBH tanılı dört olgunun üçünde (%75) moleküler etiyoji tanımlandı. İB-İBH olgularının monogenik nedenler açısından mutlaka TED analizi ile değerlendirilmesi önerilir. Bununla birlikte monogenik İBH saptanan olguların diğer yarısında İBH başlangıcının

>6 yaş olması, olguların İBH başlangıç yaşının yanı sıra eşlik eden klinik bulguları, hastalık seyri ve tedavi yanıtı ile değerlendirilmesi ve seçili olguların monogenik hastalık açısından TED analizine yönlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

7. Tekrarlayan enfeksiyon öyküsü olan olguların %100'ünde (3/3) monogenik hastalık saptandı. İBH'ye eşlik eden tekrarlayan enfeksiyonların varlığında immünolojik testlerde patolojik bulgu saptanmasa bile olguların immün yetmezlik ve immün disregülasyon ilişkili monogenik hastalıklar açısından değerlendirilmesi önerilir.

8. Olguların %36,4'ünde (8/22), İBH ilişkili *CARD8*, *CARD11*, *IFIH1*, *MEFV*, *NLRP3*, *NOD2* ve *PLCG2* genlerinde saptanan klinik önemi belirsiz varyantlar, İBH yatkınlığı oluşturan genetik faktörler olabilir. Çalışmamızdaki bazı olgularda, inflamazomlar ve NFκB yolağı gibi İBH patogenezinde rol alan önemli sinyal yolları üzerinde etkisi olan farklı genlerdeki varyantların bir arada bulunması, bu varyantların digenik/oligogenik kalıtım veya genetik modifiye edici etki ile hastalık patogenezinde katkı sağlıyor olabileceğini düşündürmektedir. Pediatrik İBH hastalarında TED analizi kullanımının yaygınlaşması ile yeni olguların ve çoklu gen varyantlarının tanımlanması İBH patogenezindeki genetik faktörlerin aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.

9. Çalışmamızdaki bir olguda (O15), İBH patogenezindeki olası rolleri yakın zamanda aydınlatılan, ancak morbid olmayan *SARM1* geninde çerçeve kayması oluşturarak işlev kaybına neden olması beklenen heterozigot bir varyant saptandı. Literatürdeki mevcut bilgiler ile *SARM1* proteinin monoallelilik işlev kaybının olası sonuçları ile ilgili kesin yorum yapılamamakla birlikte bu bulgular *SARM1*'in İBH'nin genetik etiolojisinde aday bir gen olarak daha fazla araştırılması gerektiğini desteklemektedir.

10. Çalışmamızda, ESPGHAN 2021 kılavuzunda önerilen monogenik İBH ilişkili gen panel listesinde bulunmayan *CARMIL2*, *PEPD* ve *TNFRSF13B* genlerinde olası patojenik/patojenik varyantların saptanması, her geçen yıl moleküler etiyopatogenezinde rol oynayan yeni genetik faktörlerin tanımlandığı bu hastalık grubunda, kapsamlı ve dinamik analize imkan sağlayan tüm ekzom dizilemenin, hedefli gen panellerine göre daha avatantajlı olduğunu göstermektedir. Monogenik hastalıklar açısından değerlendirilmesi planlanan İBH olgularının klinik, laboratuvar

KAYNAKLAR

1. Chang JT. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. *N Engl J Med*. 2020 Dec 31;383(27):2652–64.
2. de Lange KM, Moutsianas L, Lee JC, Lamb CA, Luo Y, Kennedy NA, et al. Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease. *Nat Genet*. 2017 Feb;49(2):256–61.
3. Guan Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *J Immunol Res*. 2019 Dec 1;2019:1–16.
4. Worthey EA, Mayer AN, Syverson GD, Helbling D, Bonacci BB, Decker B, et al. Making a definitive diagnosis: successful clinical application of whole exome sequencing in a child with intractable inflammatory bowel disease. *Genet Med*. 2011 Mar;13(3):255–62.
5. Charbit-Henrion F, Parlato M, Hanein S, Duclaux-Loras R, Nowak J, Begue B, et al. Diagnostic Yield of Next-generation Sequencing in Very Early-onset Inflammatory Bowel Diseases: A Multicentre Study. *J Crohns Colitis*. 2018 Aug 29;12(9):1104–12.
6. Pazmandi J, Kalinichenko A, Ardy RC, Boztug K. Early-onset inflammatory bowel disease as a model disease to identify key regulators of immune homeostasis mechanisms. *Immunol Rev*. 2019 Jan;287(1):162–85.
7. Dirvanskyte P, Gurram B, Bolton C, Warner N, Jones KDJ, Griffin HR, et al. Chromosomal Numerical Aberrations and Rare Copy Number Variation in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis*. 2023 Jan 27;17(1):49–60.
8. Bolton C, Smillie CS, Pandey S, Elmentaite R, Wei G, Argmann C, et al. An Integrated Taxonomy for Monogenic Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2022 Mar;162(3):859–76.

9. Uhlig HH, Charbit-Henrion F, Kotlarz D, Shouval DS, Schwerd T, Strisciuglio C, et al. Clinical Genomics for the Diagnosis of Monogenic Forms of Inflammatory Bowel Disease: A Position Paper from the Paediatric IBD Porto Group of European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2021 Mar 1;72(3):456–73.
10. Mamula P, Kelsen JR, Grossman AB, Baldassano RN, Markowitz JE. *Pediatric Inflammatory Bowel Disease Fourth Edition.*
11. North American Society for Pediatric Gastroenterology H and N, Colitis Foundation of America, Bousvaros A, Antonioli DA, Colletti RB, Dubinsky MC, et al. Differentiating ulcerative colitis from Crohn disease in children and young adults: report of a working group of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the Crohn's and Colitis Foundation of America. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007 May;44(5):653–74.
12. Prenzel F, Uhlig HH. Frequency of indeterminate colitis in children and adults with IBD - a metaanalysis. *J Crohns Colitis.* 2009 Dec;3(4):277–81.
13. Winter DA, Karolewska-Bochenek K, Lazowska-Przeorek I, Lionetti P, Mearin ML, Chong SK, et al. Pediatric IBD-unclassified is less common than previously reported; Results of an 8-year audit of the EUROKIDS registry. *Inflamm Bowel Dis.* 2015 Jun 12;21(9):2145–53.
14. Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, et al. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis.* 2000 Feb;6(1):8–15.
15. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott IDR, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol.* 2005 Sep;19 Suppl A:5A-36A.

16. Levine A, Griffiths A, Markowitz J, Wilson DC, Turner D, Russell RK, et al. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: The Paris classification. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Jun;17(6):1314–21.
17. Uhlig HH, Schwerdt T, Koletzko S, Shah N, Kammermeier J, Elkadri A, et al. The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2014 Nov;147(5):990-1007.e3.
18. IBD Working Group of the European Society for Paediatric Gastroenterology H and N. Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for diagnosis--the Porto criteria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005 Jul;41(1):1–7.
19. Levine A, Koletzko S, Turner D, Escher JC, Cucchiara S, de Ridder L, et al. ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014 Jun;58(6):795–806.
20. Rosen MJ, Dhawan A, Saeed SA. Inflammatory bowel disease in children and adolescents. Vol. 169, *JAMA Pediatrics*. American Medical Association; 2015. p. 1053–60.
21. Picoraro JA, Moore H, LeLeiko NS. Inflammatory Bowel Disease: An Update. *Pediatr Rev*. 2023 Mar 1;44(3):139–52.
22. Magro F, Langner C, Driessen A, Ensari A, Geboes K, Mantzaris GJ, et al. European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2013 Nov;7(10):827–51.
23. Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis. *Lancet*. 2017 Apr 29;389(10080):1756–70.
24. Abraham BP, Mehta S, El-Serag HB. Natural history of pediatric-onset inflammatory bowel disease: a systematic review. *J Clin Gastroenterol*. 2012 Aug;46(7):581–9.

25. Rogler G, Singh A, Kavanaugh A, Rubin DT. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: Current Concepts, Treatment, and Implications for Disease Management. *Gastroenterology*. 2021 Oct;161(4):1118–32.
26. Alatab S, Sepanlou SG, Ikuta K, Vahedi H, Bisignano C, Safiri S, et al. The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020 Jan 1;5(1):17–30.
27. Borowitz SM. The epidemiology of inflammatory bowel disease: Clues to pathogenesis? *Front Pediatr*. 2022;10:1103713.
28. Ananthakrishnan AN. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015 Apr;12(4):205–17.
29. Mamula P, Kelsen JR, Grossman AB, Baldassano RN, Markowitz JE. The Epidemiology of Pediatric Inflammatory Bowel Disease. In: *Pediatric Inflammatory Bowel Disease*. 4th edition. Springer Nature; 2023. p. 78–9.
30. Rustgi SD, Kayal M, Shah SC. Sex-based differences in inflammatory bowel diseases: a review. *Therap Adv Gastroenterol*. 2020;13:1756284820915043.
31. Tozun N, Atug O, Imeryuz N, Hamzaoglu HO, Tiftikci A, Parlak E, et al. Clinical characteristics of inflammatory bowel disease in Turkey: a multicenter epidemiologic survey. *J Clin Gastroenterol*. 2009 Jan;43(1):51–7.
32. Basu D, Lopez I, Kulkarni A, Sellin JH. Impact of race and ethnicity on inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2005 Oct;100(10):2254–61.
33. Afzali A, Cross RK. Racial and Ethnic Minorities with Inflammatory Bowel Disease in the United States: A Systematic Review of Disease Characteristics and Differences. *Inflamm Bowel Dis*. 2016 Aug;22(8):2023–40.
34. Piovani D, Danese S, Peyrin-Biroulet L, Nikolopoulos GK, Lytras T, Bonovas S. Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Diseases: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Gastroenterology*. 2019 Sep 1;157(3):647–659.e4.

35. Glassner KL, Abraham BP, Quigley EMM. The microbiome and inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2020 Jan;145(1):16–27.
36. Haneishi Y, Furuya Y, Hasegawa M, Picarelli A, Rossi M, Miyamoto J. Inflammatory Bowel Diseases and Gut Microbiota. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 14;24(4):3817.
37. de Souza HSP, Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016 Jan;13(1):13–27.
38. Duerr RH. The genetics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 2002 Mar;31(1):63–76.
39. Weinstein TA, Levine M, Pettei MJ, Gold DM, Kessler BH, Levine JJ. Age and family history at presentation of pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003 Nov;37(5):609–13.
40. Laharie D, Debeugny S, Peeters M, Van Gossum A, Gower-Rousseau C, Bélaïche J, et al. Inflammatory bowel disease in spouses and their offspring. *Gastroenterology*. 2001 Mar;120(4):816–9.
41. Orholm M, Fonager K, Sørensen HT. Risk of ulcerative colitis and Crohn's disease among offspring of patients with chronic inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 1999 Nov;94(11):3236–8.
42. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011 Jun 15;474(7351):307–17.
43. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001 May 31;411(6837):599–603.
44. Bonen DK, Ogura Y, Nicolae DL, Inohara N, Saab L, Tanabe T, et al. Crohn's disease-associated NOD2 variants share a signaling defect in response to lipopolysaccharide and peptidoglycan. *Gastroenterology*. 2003 Jan;124(1):140–6.

45. Ashton JJ, Seaby EG, Beattie RM, Ennis S. NOD2 in Crohn's Disease-Unfinished Business. *J Crohns Colitis*. 2023 Apr 3;17(3):450–8.
46. Horowitz JE, Warner N, Staples J, Crowley E, Gosalia N, Murchie R, et al. Mutation spectrum of NOD2 reveals recessive inheritance as a main driver of Early Onset Crohn's Disease. *Sci Rep*. 2021 Mar 10;11(1):5595.
47. Ashton JJ, Mossotto E, Stafford IS, Haggarty R, Coelho TAF, Batra A, et al. Genetic Sequencing of Pediatric Patients Identifies Mutations in Monogenic Inflammatory Bowel Disease Genes that Translate to Distinct Clinical Phenotypes. *Clin Transl Gastroenterol*. 2020 Feb;11(2):e00129.
48. Cleynen I, Boucher G, Jostins L, Schumm LP, Zeissig S, Ahmad T, et al. Inherited determinants of Crohn's disease and ulcerative colitis phenotypes: a genetic association study. *Lancet*. 2016 Jan 9;387(10014):156–67.
49. Kayali S, Fantasia S, Gaiani F, Cavallaro LG, de'Angelis GL, Laghi L. NOD2 and Crohn's Disease Clinical Practice: From Epidemiology to Diagnosis and Therapy, Rewired. *Inflamm Bowel Dis*. 2024 Apr 6;
50. Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, Till A, Teuber M, Huse K, et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet*. 2007 Feb 31;39(2):207–11.
51. Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, et al. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science*. 2006 Dec 1;314(5804):1461–3.
52. Ahmad T, Marshall S, Jewell D. Genotype-based phenotyping heralds a new taxonomy for inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2003 Jul;19(4):327–35.
53. van Heel DA, Fisher SA, Kirby A, Daly MJ, Rioux JD, Lewis CM, et al. Inflammatory bowel disease susceptibility loci defined by genome scan meta-analysis of 1952 affected relative pairs. *Hum Mol Genet*. 2004 Apr 1;13(7):763–70.

54. Silverberg MS, Mirea L, Bull SB, Murphy JE, Steinhart AH, Greenberg GR, et al. A population- and family-based study of Canadian families reveals association of HLA DRB1*0103 with colonic involvement in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2003 Jan;9(1):1–9.
55. Kelsen JR, Sullivan KE, Rabizadeh S, Singh N, Snapper S, Elkadri A, et al. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Position Paper on the Evaluation and Management for Patients With Very Early-onset Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2020 Mar;70(3):389–403.
56. Choy MC, Visvanathan K, De Cruz P. An Overview of the Innate and Adaptive Immune System in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2017 Jan;23(1):2–13.
57. Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2007 Jul;448(7152):427–34.
58. Danese S. Immune and nonimmune components orchestrate the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011 May;300(5):G716–22.
59. Sakuraba A, Sato T, Kamada N, Kitazume M, Sugita A, Hibi T. Th1/Th17 Immune Response Is Induced by Mesenteric Lymph Node Dendritic Cells in Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2009 Nov;137(5):1736–45.
60. Bain CC, Mowat AMcI. Intestinal macrophages – specialised adaptation to a unique environment. *Eur J Immunol*. 2011 Sep 26;41(9):2494–8.
61. Thiesen S, Janciauskiene S, Uronen-Hansson H, Agace W, Högerkorp CM, Spee P, et al. CD14^{hi}HLA-DR^{dim} macrophages, with a resemblance to classical blood monocytes, dominate inflamed mucosa in Crohn's disease. *J Leukoc Biol*. 2013 Nov 8;95(3):531–41.
62. Kamada N, Hisamatsu T, Okamoto S, Chinen H, Kobayashi T, Sato T, et al. Unique CD14 intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn disease via IL-23/IFN-gamma axis. *J Clin Invest*. 2008 Jun;118(6):2269–80.

63. Hyams J, Markowitz J, Otley A, Rosh J, Mack D, Bousvaros A, et al. Evaluation of the pediatric crohn disease activity index: a prospective multicenter experience. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005 Oct;41(4):416–21.
64. Turner D, Otley AR, Mack D, Hyams J, de Bruijne J, Uusoue K, et al. Development, Validation, and Evaluation of a Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index: A Prospective Multicenter Study. *Gastroenterology*. 2007 Aug;133(2):423–32.
65. Higashiyama M, Hokari R. New and Emerging Treatments for Inflammatory Bowel Disease. *Digestion*. 2023;104(1):74–81.
66. Nambu R, Muise AM. Advanced Understanding of Monogenic Inflammatory Bowel Disease. *Front Pediatr*. 2020;8:618918.
67. Kammermeier J, Lamb CA, Jones KDJ, Anderson CA, Baple EL, Bolton C, et al. Genomic diagnosis and care co-ordination for monogenic inflammatory bowel disease in children and adults: consensus guideline on behalf of the British Society of Gastroenterology and British Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2023 Mar;8(3):271–86.
68. Ament ME, Ochs HD. Gastrointestinal Manifestations of Chronic Granulomatous Disease. *New England Journal of Medicine*. 1973 Feb 22;288(8):382–7.
69. Azabdaftari A, Jones KDJ, Kammermeier J, Uhlig HH. Monogenic inflammatory bowel disease-genetic variants, functional mechanisms and personalised medicine in clinical practice. *Hum Genet*. 2023 May 28;142(5):599–611.
70. Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, Gertz EM, Schäffer AA, Noyan F, et al. Inflammatory Bowel Disease and Mutations Affecting the Interleukin-10 Receptor. *New England Journal of Medicine*. 2009 Nov 19;361(21):2033–45.

71. Murray PJ. The primary mechanism of the IL-10-regulated antiinflammatory response is to selectively inhibit transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Jun 14;102(24):8686–91.
72. Engelhardt KR, Shah N, Faizura-Yeop I, Kocacik Uygun DF, Frede N, Muise AM, et al. Clinical outcome in IL-10- and IL-10 receptor-deficient patients with or without hematopoietic stem cell transplantation. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Mar;131(3):825–30.
73. Angelino G, De Angelis P, Faraci S, Rea F, Romeo EF, Torroni F, et al. Inflammatory bowel disease in chronic granulomatous disease: An emerging problem over a twenty years' experience. *Pediatr Allergy Immunol*. 2017 Dec;28(8):801–9.
74. Arnadottir GA, Norddahl GL, Gudmundsdottir S, Agustsdottir AB, Sigurdsson S, Jensson BO, et al. A homozygous loss-of-function mutation leading to CYBC1 deficiency causes chronic granulomatous disease. *Nat Commun*. 2018 Oct 25;9(1):4447.
75. Leiding JW. Chronic granulomatous disease [Internet]. U.S. National Library of Medicine; 2022 [cited 2024 Sep 4]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK99496/>
76. Lam MT, Coppola S, Krumbach OHF, Prencipe G, Insalaco A, Cifaldi C, et al. A novel disorder involving dyshematopoiesis, inflammation, and HLH due to aberrant CDC42 function. *Journal of Experimental Medicine*. 2019 Dec 2;216(12):2778–99.
77. Trefzer R, Elpeleg O, Gabrusskaya T, Stepensky P, Mor-Shaked H, Grosse R, et al. Characterization of a L136P mutation in Formin-like 2 (FMNL2) from a patient with chronic inflammatory bowel disease. *PLoS One*. 2021 May 27;16(5):e0252428.
78. van de Vijver E, Maddalena A, Sanal Ö, Holland SM, Uzel G, Madkaikar M, et al. Hematologically important mutations: leukocyte adhesion deficiency (first update). *Blood Cells Mol Dis*. 2012 Jan 15;48(1):53–61.

79. Davis MK, Rufo PA, Polyak SF, Weinstein DA. Adalimumab for the treatment of Crohn-like colitis and enteritis in glycogen storage disease type Ib. *J Inherit Metab Dis*. 2008 Dec;31 Suppl 3:505–9.
80. Banka S, Newman WG. A clinical and molecular review of ubiquitous glucose-6-phosphatase deficiency caused by G6PC3 mutations. *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8(1):84.
81. Beşer OF, Kasapçopur O, Cokuğraş FC, Kutlu T, Arsoy N, Erkan T. Association of inflammatory bowel disease with familial Mediterranean fever in Turkish children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013 May;56(5):498–502.
82. Chang I, Park S, Lee HJ, Kim I, Park S, Ahn MK, et al. Interpretation of XIAP Variants of Uncertain Significance in Paediatric Patients with Refractory Crohn's Disease. *J Crohns Colitis*. 2021 Aug 2;15(8):1291–304.
83. Bianco AM, Girardelli M, Vozzi D, Crovella S, Kleiner G, Marcuzzi A. Mevalonate kinase deficiency and IBD: shared genetic background. *Gut*. 2014 Aug;63(8):1367–8.
84. Mao L, Kitani A, Similuk M, Oler AJ, Albenberg L, Kelsen J, et al. Loss-of-function CARD8 mutation causes NLRP3 inflammasome activation and Crohn's disease. *J Clin Invest*. 2018 May 1;128(5):1793–806.
85. Wang L, Aschenbrenner D, Zeng Z, Cao X, Mayr D, Mehta M, et al. Gain-of-function variants in SYK cause immune dysregulation and systemic inflammation in humans and mice. *Nat Genet*. 2021 Apr 29;53(4):500–10.
86. Baysac K, Sun G, Nakano H, Schmitz EG, Cruz AC, Fisher C, et al. PLCG2-associated immune dysregulation (PLAID) comprises broad and distinct clinical presentations related to functional classes of genetic variants. *J Allergy Clin Immunol*. 2024 Jan;153(1):230–42.
87. Ouahed J, Kelsen JR, Spessott WA, Kooshesh K, Sanmillan ML, Dawany N, et al. Variants in STXBP3 are Associated with Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease, Bilateral Sensorineural Hearing Loss and Immune Dysregulation. *J Crohns Colitis*. 2021 Nov 8;15(11):1908–19.

88. Bader-Meunier B, Martins AL, Charbit-Henrion F, Meinzer U, Belot A, Cuisset L, et al. Mevalonate Kinase Deficiency: A Cause of Severe Very-Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2021 Oct 20;27(11):1853–7.
89. Liu J, Liu YY, Liu J, Li BZ, Cen H, Xu WD, et al. Association between CARD8 rs2043211 Polymorphism and Inflammatory Bowel Disease: A Meta-Analysis. *Immunol Invest*. 2015 Apr 3;44(3):253–64.
90. Villa A, Notarangelo LD, Roifman CM. Omenn syndrome: inflammation in leaky severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Dec;122(6):1082–6.
91. Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, Brunkow ME, Ferguson PJ, Whitesell L, et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet*. 2001 Jan;27(1):20–1.
92. Lopez-Herrera G, Tampella G, Pan-Hammarström Q, Herholz P, Trujillo-Vargas CM, Phadwal K, et al. Deleterious mutations in LRBA are associated with a syndrome of immune deficiency and autoimmunity. *Am J Hum Genet*. 2012 Jun 8;90(6):986–1001.
93. Kuehn HS, Ouyang W, Lo B, Deenick EK, Niemela JE, Avery DT, et al. Immune dysregulation in human subjects with heterozygous germline mutations in CTLA4. *Science*. 2014 Sep 26;345(6204):1623–7.
94. Lehle AS, Farin HF, Marquardt B, Michels BE, Magg T, Li Y, et al. Intestinal Inflammation and Dysregulated Immunity in Patients With Inherited Caspase-8 Deficiency. *Gastroenterology*. 2019 Jan;156(1):275–8.
95. Cheng LE, Kanwar B, Tcheurekdjian H, Grenert JP, Muskat M, Heyman MB, et al. Persistent systemic inflammation and atypical enterocolitis in patients with NEMO syndrome. *Clin Immunol*. 2009 Jul;132(1):124–31.

96. Magg T, Shcherbina A, Arslan D, Desai MM, Wall S, Mitsialis V, et al. CARMIL2 Deficiency Presenting as Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2019 Oct 18;25(11):1788–95.
97. Urdinez L, Erra L, Palma AM, Mercogliano MF, Fernandez JB, Prieto E, et al. Expanding spectrum, intrafamilial diversity, and therapeutic challenges from 15 patients with heterozygous CARD11-associated diseases: A single center experience. *Front Immunol*. 2022 Nov 3;13.
98. Avitzur Y, Guo C, Mastropaolo LA, Bahrami E, Chen H, Zhao Z, et al. Mutations in Tetratricopeptide Repeat Domain 7A Result in a Severe Form of Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2014 Apr;146(4):1028–39.
99. Salter CG, Cai Y, Lo B, Helman G, Taylor H, McCartney A, et al. Biallelic *PI4KA* variants cause neurological, intestinal and immunological disease. *Brain*. 2021 Dec 31;144(12):3597–610.
100. Tyler PM, Bucklin ML, Zhao M, Maher TJ, Rice AJ, Ji W, et al. Human autoinflammatory disease reveals ELF4 as a transcriptional regulator of inflammation. *Nat Immunol*. 2021 Sep 29;22(9):1118–26.
101. Zhang ZZ, Zhang Y, He T, Sweeney CL, Baris S, Karakoc-Aydiner E, et al. Homozygous *IL37* mutation associated with infantile inflammatory bowel disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2021 Mar 9;118(10).
102. Al-Shaibi AA, Abdel-Motal UM, Hubrack SZ, Bullock AN, Al-Marri AA, Agrebi N, et al. Human AGR2 Deficiency Causes Mucus Barrier Dysfunction and Infantile Inflammatory Bowel Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2021;12(5):1809–30.
103. Yao Y, Kim G, Shafer S, Chen Z, Kubo S, Ji Y, et al. Mucus sialylation determines intestinal host-commensal homeostasis. *Cell*. 2022 Mar;185(7):1172-1188.e28.

104. Sifuentes-Dominguez LF, Li H, Llano E, Liu Z, Singla A, Patel AS, et al. SCGN deficiency results in colitis susceptibility. *Elife*. 2019 Oct 30;8.
105. Kammermeier J, Drury S, James CT, Dziubak R, Ocaka L, Elawad M, et al. Targeted gene panel sequencing in children with very early onset inflammatory bowel disease--evaluation and prospective analysis. *J Med Genet*. 2014 Nov;51(11):748–55.
106. Petersen BS, August D, Abt R, Alddafari M, Atarod L, Baris S, et al. Targeted Gene Panel Sequencing for Early-onset Inflammatory Bowel Disease and Chronic Diarrhea. *Inflamm Bowel Dis*. 2017 Dec;23(12):2109–20.
107. Kelsen JR, Dawany N, Moran CJ, Petersen BS, Sarmady M, Sasson A, et al. Exome sequencing analysis reveals variants in primary immunodeficiency genes in patients with very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2015 Nov;149(6):1415–24.
108. Serra EG, Schwerd T, Moutsianas L, Cavounidis A, Fachal L, Pandey S, et al. Somatic mosaicism and common genetic variation contribute to the risk of very-early-onset inflammatory bowel disease. *Nat Commun*. 2020 Feb 21;11(1):995.
109. Crowley E, Warner N, Pan J, Khalouei S, Elkadri A, Fiedler K, et al. Prevalence and Clinical Features of Inflammatory Bowel Diseases Associated With Monogenic Variants, Identified by Whole-Exome Sequencing in 1000 Children at a Single Center. *Gastroenterology*. 2020 Jun;158(8):2208–20.
110. Rehder C, Bean LJH, Bick D, Chao E, Chung W, Das S, et al. Next-generation sequencing for constitutional variants in the clinical laboratory, 2021 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine*. 2021 Aug;23(8):1399–415.
111. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May;17(5):405–24.

112. Group, C.S.V.I.W. SVI Recommendation for De Novo Criteria (PS2 & PM6) - Version 1.1. SVI General Recommendations for Using ACMG/AMP Criteria 2021; Available from: https://www.clinicalgenome.org/site/assets/files/3461/svi_proposal_for_de_novo_criteria_v1_1.pdf.
113. Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, Amendola LM, Brothers K, Chung WK, et al. ACMG SF v3.2 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med*. 2023 Aug;25(8):100866.
114. Silva M, de Leeuw N, Mann K, Schuring-Blom H, Morgan S, Giardino D, et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *European Journal of Human Genetics*. 2019 Jan 1;27(1):1–16.
115. Kearney HM, Kearney JB, Conlin LK. Diagnostic Implications of Excessive Homozygosity Detected by SNP-Based Microarrays: Consanguinity, Uniparental Disomy, and Recessive Single-Gene Mutations. *Clin Lab Med*. 2011 Dec;31(4):595–613.
116. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med*. 2020 Feb;22(2):245–57.
117. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*. 2022 Oct;42(7):1473–507.
118. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, Picard C, Jeddane L, Al-Herz W, et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2022 Oct 6;42(7):1508–20.

119. Parkhouse R, Monie TP. Dysfunctional Crohn's Disease-Associated NOD2 Polymorphisms Cannot be Reliably Predicted on the Basis of RIPK2 Binding or Membrane Association. *Front Immunol*. 2015;6:521.
120. Tukel T, Shalata A, Present D, Rachmilewitz D, Mayer L, Grant D, et al. Crohn disease: frequency and nature of CARD15 mutations in Ashkenazi and Sephardi/Oriental Jewish families. *Am J Hum Genet*. 2004 Apr;74(4):623–36.
121. Asgari S, Schlapbach LJ, Anchisi S, Hammer C, Bartha I, Junier T, et al. Severe viral respiratory infections in children with IFIH1 loss-of-function mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Aug 1;114(31):8342–7.
122. Cananzi M, Wohler E, Marzollo A, Colavito D, You J, Jing H, et al. IFIH1 loss-of-function variants contribute to very early-onset inflammatory bowel disease. *Hum Genet*. 2021 Sep;140(9):1299–312.
123. Eni-Aganga I, Lanaghan ZM, Balasubramaniam M, Dash C, Pandhare J. PROLIDASE: A Review from Discovery to its Role in Health and Disease. *Front Mol Biosci*. 2021 Aug 31;8.
124. Spodenkiewicz M, Spodenkiewicz M, Cleary M, Massier M, Fitsialos G, Cottin V, et al. Clinical Genetics of Prolidase Deficiency: An Updated Review. *Biology (Basel)*. 2020 May 21;9(5).
125. Rossignol F. PROLIDASE deficiency [Internet]. U.S. National Library of Medicine; 2022 [cited 2024 Oct 5]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK299584/>
126. Wang H, Kurien BT, Lundgren D, Patel NC, Kaufman KM, Miller DL, et al. A nonsense mutation of *PEPD* in four Amish children with prolidase deficiency. *Am J Med Genet A*. 2006 Mar 15;140A(6):580–5.
127. Kuloglu Z, Kansu A, Serwas N, Demir A, Yaman A, Ensari A, et al. INFLAMMATORY BOWEL DISEASE-LIKE PHENOTYPE IN A YOUNG GIRL WITH PROLIDASE DEFICIENCY: A NEW SPECTRUM OF CLINICAL MANIFESTATION. *Genet Couns*. 2015;26(2):205–11.

128. Rizvi SA, Elder M, Beasley G. A Novel Manifestation of Prolidase Deficiency in a Toddler Diagnosed With Very-early-onset Crohn Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2019 Sep;69(3):e89–90.
129. Good AJ, Nielson CB, Schoch JJ. Topical tacrolimus therapy in the management of lower extremity ulcers due to prolidase deficiency. *Pediatr Dermatol.* 2019 Nov 6;36(6):926–8.
130. Madhusudan M, Sankaranarayanan S, Ramamoorthy R, Munirathnam D, Sivasankaran M. Prolidase Deficiency in Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease (VEO-IBD). *Indian J Pediatr.* 2021 May;88(5):503.
131. Atschekzei F, Fedchenko M, Elsayed A, Dubrowinskaja N, Graalmann T, Ringshausen FC, et al. Rituximab to treat prolidase deficiency due to a novel pathogenic copy number variation in PEPD. *RMD Open.* 2023 Dec 7;9(4).
132. Jemec GBE, Moe ATT. Topical Treatment of Skin Ulcers in Prolidase Deficiency. *Pediatr Dermatol.* 1996 Jan 20;13(1):58–60.
133. Salzer U, Chapel HM, Webster ADB, Pan-Hammarström Q, Schmitt-Graeff A, Schlesier M, et al. Mutations in *TNFRSF13B* encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. *Nat Genet.* 2005 Aug 10;37(8):820–8.
134. Salzer U, Bacchelli C, Buckridge S, Pan-Hammarström Q, Jennings S, Lougaris V, et al. Relevance of biallelic versus monoallelic *TNFRSF13B* mutations in distinguishing disease-causing from risk-increasing *TNFRSF13B* variants in antibody deficiency syndromes. *Blood.* 2009 Feb 26;113(9):1967–76.
135. Pulvirenti F, Zuntini R, Milito C, Specchia F, Spadaro G, Danieli MG, et al. Clinical Associations of Biallelic and Monoallelic *TNFRSF13B* Variants in Italian Primary Antibody Deficiency Syndromes. *J Immunol Res.* 2016;2016:1–14.
136. Uzzan M, Ko HM, Mehandru S, Cunningham-Rundles C. Gastrointestinal Disorders Associated with Common Variable Immune Deficiency (CVID) and

- Chronic Granulomatous Disease (CGD). *Curr Gastroenterol Rep*. 2016 Apr;18(4):17.
137. Odetola O, Ananthanarayanan V. Gastrointestinal Presentations of Common Variable Immunodeficiency: Hiding in Plain Sight. *Arch Pathol Lab Med*. 2019 Apr 1;143(4):525–30.
 138. Marangi G, Garcovich S, Sante G Di, Orteschi D, Frangella S, Scaldaferri F, et al. Complex Muco-cutaneous Manifestations of CARMIL2-associated Combined Immunodeficiency: A Novel Presentation of Dysfunctional Epithelial Barriers. *Acta Derm Venereol*. 2020 Jan 23;100(1):adv00038.
 139. Sjöstedt E, Zhong W, Fagerberg L, Karlsson M, Mitsios N, Adori C, et al. An atlas of the protein-coding genes in the human, pig, and mouse brain. *Science* (1979). 2020 Mar 6;367(6482).
 140. Lévy R, Gothe F, Momenilandi M, Magg T, Materna M, Peters P, et al. Human CARMIL2 deficiency underlies a broader immunological and clinical phenotype than CD28 deficiency. *J Exp Med*. 2023 Feb 6;220(2).
 141. Wang Y, Ma CS, Ling Y, Bousfiha A, Camcioglu Y, Jacquot S, et al. Dual T cell– and B cell–intrinsic deficiency in humans with biallelic *RLTPR* mutations. *Journal of Experimental Medicine*. 2016 Oct 17;213(11):2413–35.
 142. Neven B, Ferrua F. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Combined Immunodeficiencies, on Behalf of IEWP-EBMT. *Front Pediatr*. 2019;7:552.
 143. Rastogi N, Thakkar D, Yadav SP. Successful Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant for CARMIL2 Deficiency. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2021 Nov;43(8):e1270–1.
 144. Yonkof JR, Gupta A, Rueda CM, Mangray S, Prince BT, Rangarajan HG, et al. A Novel Pathogenic Variant in CARMIL2 (RLTPR) Causing CARMIL2 Deficiency and EBV-Associated Smooth Muscle Tumors. *Front Immunol*. 2020;11:884.

145. Kolukisa B, Baser D, Akcam B, Danielson J, Bilgic Eltan S, Haliloglu Y, et al. Evolution and long-term outcomes of combined immunodeficiency due to CARMIL2 deficiency. *Allergy*. 2022 Mar 30;77(3):1004–19.
146. Bosa L, Batura V, Colavito D, Fiedler K, Gaio P, Guo C, et al. Novel CARMIL2 loss-of-function variants are associated with pediatric inflammatory bowel disease. *Sci Rep*. 2021 Mar 15;11(1):5945.
147. Meyer L. X-linked lymphoproliferative disease [Internet]. U.S. National Library of Medicine; 2024 [cited 2024 Dec 17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1406/>
148. Lee J, Sim KM, Kang M, Oh HJ, Choi HJ, Kim YE, et al. Understanding the molecular mechanism of pathogenic variants of BIR2 domain in XIAP-deficient inflammatory bowel disease. *Sci Rep*. 2024 Jan 9;14(1):853.
149. Yang J, Zhu GH, Wang B, Zhang R, Jia CG, Yan Y, et al. Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation for XIAP Deficiency: a Single-Center Report. *J Clin Immunol*. 2020 Aug 5;40(6):893–900.
150. Mudde ACA, Booth C, Marsh RA. Evolution of Our Understanding of XIAP Deficiency. *Front Pediatr*. 2021 Jun 17;9.
151. Harapas CR, Steiner A, Davidson S, Masters SL. An Update on Autoinflammatory Diseases: Inflammasomopathies. *Curr Rheumatol Rep*. 2018 May 30;20(7):40.
152. Chae JJ, Wood G, Masters SL, Richard K, Park G, Smith BJ, et al. The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1 β production. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Jun 27;103(26):9982–7.
153. Chae JJ, Cho YH, Lee GS, Cheng J, Liu PP, Feigenbaum L, et al. Gain-of-function Pyrin mutations induce NLRP3 protein-independent interleukin-1 β activation and severe autoinflammation in mice. *Immunity*. 2011 May 27;34(5):755–68.

154. Shohat M. Familial mediterranean fever [Internet]. U.S. National Library of Medicine; 2016 [cited 2024 Sep 17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1227/>
155. Boursier G, Hentgen V, Sarabay G, Koné-Paut I, Touitou I. The Changing Concepts Regarding the Mediterranean Fever Gene: Toward a Spectrum of Pyrin-Associated Autoinflammatory Diseases with Variable Heredity. *J Pediatr*. 2019 Jun;209:12-16.e1.
156. Abu Shtaya A, Orenstein N, Bazak L, Lidzbarsky G, Kalis ML, Amarilyo G, et al. High frequency of MEFV disease-causing variants in children with very-early-onset inflammatory bowel disease. *Pediatr Res*. 2024 May 11;
157. Kori M, Buchuk R, Goldzweig O, Weisband YL, Tal N, Ben-Tov A, et al. Familial Mediterranean fever in patients with inflammatory bowel diseases: A nationwide study from the epi-IIRN. *Rheumatology (Oxford)*. 2024 May 30;
158. Papadopoulos VP, Antoniadou C, Ritis K, Skendros P. MEFV Mutations in IBD Patients: A Systematic Review and Meta- analysis. *J Gastrointest Liver Dis*. 2022 Mar 19;31(1):85–97.
159. Sahin S, Gulec D, Günay S, Cekic C. Evaluation of the Clinical Effects and Frequency of MEFV Gene Mutation in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Res Pract*. 2021;2021:5538150.
160. Yurtcu E, Gokcan H, Yilmaz U, Sahin FI. Detection of MEFV gene mutations in patients with inflammatory bowel disease. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2009 Feb;13(1):87–90.
161. Salah S, El-Shabrawi M, Lotfy HM, Shiba HF, Abou-Zekri M, Farag Y. Detection of Mediterranean fever gene mutations in Egyptian children with inflammatory bowel disease. *Int J Rheum Dis*. 2016 Aug;19(8):806–13.
162. Urgancı N, Ozgenc F, Kuloğlu Z, Yüksekaya H, Sarı S, Erkan T, et al. Familial Mediterranean Fever Mutation Analysis in Pediatric Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Multicenter Study. *Turk J Gastroenterol*. 2021 Mar;32(3):248–50.

163. Uslu N, Yüce A, Demir H, Saltik-Temizel IN, Usta Y, Yilmaz E, et al. The association of inflammatory bowel disease and Mediterranean fever gene (MEFV) mutations in Turkish children. *Dig Dis Sci*. 2010 Dec;55(12):3488–94.
164. Amaryan G, Sarkisian T, Tadevosyan A, Braegger C. Familial Mediterranean fever in Armenian children with inflammatory bowel disease. *Front Pediatr*. 2023;11:1288523.
165. Kuloğlu Z, Kansu A, Ustündağ G, Birsin Özçakar Z, Ensari A, Ekim M. An infant with severe refractory Crohn's disease and homozygous MEFV mutation who dramatically responded to colchicine. *Rheumatol Int*. 2012 Mar;32(3):783–5.
166. Abu Shtaya A, Orenstein N, Bazak L, Lidzbarsky G, Kalis ML, Amarilyo G, et al. High frequency of MEFV disease-causing variants in children with very-early-onset inflammatory bowel disease. *Pediatr Res*. 2024 May 11;
167. Sari S, Egritas O, Dalgic B. The familial Mediterranean fever (MEFV) gene may be a modifier factor of inflammatory bowel disease in infancy. *Eur J Pediatr*. 2008 Apr;167(4):391–3.
168. Zhou Q, Lee GS, Brady J, Datta S, Katan M, Sheikh A, et al. A hypermorphic missense mutation in PLCG2, encoding phospholipase C γ 2, causes a dominantly inherited autoinflammatory disease with immunodeficiency. *Am J Hum Genet*. 2012 Oct 5;91(4):713–20.
169. Welzel T, Oefelein L, Holzer U, Müller A, Menden B, Haack TB, et al. Variant in the PLCG2 Gene May Cause a Phenotypic Overlap of APLAID/PLAID: Case Series and Literature Review. *J Clin Med*. 2022 Jul 27;11(15).
170. Chae JJ, Park YH, Park C, Hwang IY, Hoffmann P, Kehrl JH, et al. Connecting two pathways through Ca²⁺ signaling: NLRP3 inflammasome activation induced by a hypermorphic PLCG2 mutation. *Arthritis Rheumatol*. 2015 Feb;67(2):563–7.

171. Mulazzani E, Kong K, Aróstegui JI, Ng AP, Ranathunga N, Abeysekera W, et al. G-CSF drives autoinflammation in APLAID. *Nat Immunol*. 2023 May;24(5):814–26.
172. Kutukculer N, Topyildiz E, Berdeli A, Guven Bilgin B, Aykut A, Durmaz A, et al. Four diseases, PLAID, APLAID, FCAS3 and CVID and one gene (PHOSPHOLIPASE C, GAMMA-2; PLCG2): Striking clinical phenotypic overlap and difference. *Clin Case Rep*. 2021 Apr;9(4):2023–31.
173. Lu HY, Biggs CM, Blanchard-Rohner G, Fung SY, Sharma M, Turvey SE. Germline CBM-opathies: From immunodeficiency to atopy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019 May;143(5):1661–73.
174. Meitlis I, Allenspach EJ, Bauman BM, Phan IQ, Dabbah G, Schmitt EG, et al. Multiplexed Functional Assessment of Genetic Variants in CARD11. *The American Journal of Human Genetics*. 2020 Dec;107(6):1029–43.
175. Dorjbal B, Stinson JR, Ma CA, Weinreich MA, Miraghazadeh B, Hartberger JM, et al. Hypomorphic caspase activation and recruitment domain 11 (CARD11) mutations associated with diverse immunologic phenotypes with or without atopic disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019 Apr;143(4):1482–95.
176. He M, Wong A, Sutton K, Gondim MJB, Samson C. Very-Early Onset Chronic Active Colitis with Heterozygous Variants in *LRBA1* and *CARD11*, a Case of “Immune TOR-Opathies.” *Fetal Pediatr Pathol*. 2023 Mar 4;42(2):297–306.
177. Karakaya T, Slafova M, Di Filippo M, Hennig P, Kündig T, Beer HD. CARD8: A Novel Inflammasome Sensor with Well-Known Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Activity. *Cells*. 2024 Jun 13;13(12):1032.
178. Ito S, Hara Y, Kubota T. CARD8 is a negative regulator for NLRP3 inflammasome, but mutant NLRP3 in cryopyrin-associated periodic syndromes escapes the restriction. *Arthritis Res Ther*. 2014 Feb 12;16(1):R52.

179. Gennaro VL, Maclin J, Weiser P, Stoll ML, Smitherman EA. Juvenile Idiopathic Arthritis With Associated Inflammatory Bowel Disease and CARD8 Mutation. *Pediatrics*. 2023 Oct 1;152(4).
180. Berger K, Arafat D, Chandrakasan S, Snapper SB, Gibson G. Targeted RNAseq Improves Clinical Diagnosis of Very Early-Onset Pediatric Immune Dysregulation. *J Pers Med*. 2022 Jun 1;12(6).
181. Rehwinkel J, Gack MU. RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing. *Nat Rev Immunol*. 2020 Sep;20(9):537–51.
182. Dias Junior AG, Sampaio NG, Rehwinkel J. A Balancing Act: MDA5 in Antiviral Immunity and Autoinflammation. *Trends Microbiol*. 2019 Jan;27(1):75–85.
183. Zhao S, Ma J, Zhu X, Zhang J, Wu R. Chronic Refractory Immune Thrombocytopenia Is Associated With Variants in Immune Genes. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2021 Jan 17;27.
184. Ma J, Fu L, Gu H, Chen Z, Zhang J, Zhao S, et al. Screening for Genetic Mutations for the Early Diagnosis of Common Variable Immunodeficiency in Children With Refractory Immune Thrombocytopenia: A Retrospective Data Analysis From a Tertiary Children's Center. *Front Pediatr*. 2020 Dec 3;8.
185. Marek-Yagel D, Bar-Joseph I, Pras E, Berkun Y. Is E148Q a benign polymorphism or a disease-causing mutation? *J Rheumatol*. 2009 Oct;36(10):2372.
186. Yamada S, Honzawa Y, Yamamoto S, Matsuura M, Kitamoto H, Okabe M, et al. Single Nucleotide Polymorphisms of the MEFV Gene E148Q Are Highly Associated With Disease Phenotype in Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2024 Jun 3;30(6):970–80.
187. Shinar Y, Obici L, Aksentijevich I, Bennetts B, Austrup F, Ceccherini I, et al. Guidelines for the genetic diagnosis of hereditary recurrent fevers. *Ann Rheum Dis*. 2012 Oct;71(10):1599–605.

188. Batu ED, Basaran O, Bilginer Y, Ozen S. Familial Mediterranean Fever: How to Interpret Genetic Results? How to Treat? A Quarter of a Century After the Association with the Mefv Gene. *Curr Rheumatol Rep*. 2022 Jun;24(6):206–12.
189. Saito D, Hibi N, Ozaki R, Kikuchi O, Sato T, Tokunaga S, et al. MEFV Gene-Related Enterocolitis Account for Some Cases Diagnosed as Inflammatory Bowel Disease Unclassified. *Digestion*. 2020;101(6):785–93.
190. Ryan JG, Masters SL, Booty MG, Habal N, Alexander JD, Barham BK, et al. Clinical features and functional significance of the P369S/R408Q variant in pyrin, the familial Mediterranean fever protein. *Ann Rheum Dis*. 2010 Jul;69(7):1383–8.
191. Kuemmerle-Deschner JB, Verma D, Endres T, Broderick L, de Jesus AA, Hofer F, et al. Brief Report: Clinical and Molecular Phenotypes of Low-Penetrance Variants of *NLRP3* : Diagnostic and Therapeutic Challenges. *Arthritis & Rheumatology*. 2017 Nov 17;69(11):2233–40.
192. Zhou L, Liu T, Huang B, Luo M, Chen Z, Zhao Z, et al. Excessive deubiquitination of NLRP3-R779C variant contributes to very-early-onset inflammatory bowel disease development. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2021 Jan;147(1):267–79.
193. Chen QL, Yin HR, He QY, Wang Y. Targeting the NLRP3 inflammasome as new therapeutic avenue for inflammatory bowel disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jun;138:111442.
194. Sugisawa R, Shanahan KA, Davis GM, Davey GP, Bowie AG. SARM1 regulates pro-inflammatory cytokine expression in human monocytes by NADase-dependent and -independent mechanisms. *iScience*. 2024 Jun;27(6):109940.
195. Fan H, Song C, Zhang J. Sarm1 Controls the MYD88-Mediated Inflammatory Responses in Inflammatory Bowel Disease via the Regulation of TRAF3 Recruitment. *Immunol Invest*. 2024 Jul 3;53(5):800–12.

196. MacArthur DG, Manolio TA, Dimmock DP, Rehm HL, Shendure J, Abecasis GR, et al. Guidelines for investigating causality of sequence variants in human disease. *Nature*. 2014 Apr 23;508(7497):469–76.
197. Jumper J, Evans R, Pritzel A, Green T, Figurnov M, Ronneberger O, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. 2021 Aug 26;596(7873):583–9.
198. Varadi M, Anyango S, Deshpande M, Nair S, Natassia C, Yordanova G, et al. AlphaFold Protein Structure Database: massively expanding the structural coverage of protein-sequence space with high-accuracy models. *Nucleic Acids Res*. 2022 Jan 7;50(D1):D439–44.
199. Tordai H, Torres O, Csepi M, Padányi R, Lukács GL, Hegedűs T. Analysis of AlphaMissense data in different protein groups and structural context. *Sci Data*. 2024 May 14;11(1):495.

