

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

YENİDOĞAN SEPSİSLERİNDE FAMİLYAL HEMOFAGOSİTİK
LENFOHİSTİYOSİTOZ TARAMASI

Uzmanlık Tezi

Dr. Zühre KADI OZAN

Trabzon-2022

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

**YENİDOĞAN SEPSİSLERİNDE FAMİLYAL HEMOFAGOSİTİK
LENFOHİSTİYOSİTOZ TARAMASI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Zühre KADI OZAN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Erol ERDURAN

Trabzon-2022

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve becerilerimin artması için emek gösteren, yetişmemde büyük katkıları olan ve yanlarında çalışmaktan gurur duyduğum başta tez danışmanım Prof. Dr. Erol ERDURAN'a ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma saygı ve şükranlarımı sunarım. Asistan olarak birlikte çalışma fırsatı bulduğum ve tecrübelerinden yararlandığım tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim. Bütün yaşamım süresince, maddi ve manevi sürekli yanımda hissettiğim aileme ve sevgili eşim Yusuf'a teşekkür ederim.

Dr. Zühre KADI OZAN

ÖZET

YENİDOĞAN SEPSİSLERİNDE FAMILİYAL HEMOFAGOSİTİK LENFOHİSTİYOSİTOZ TARAMASI

Amaç: Yenidoğan döneminde, sepsis ve primer hemofagositik lenfohistiyositoz (HLH) benzer klinik ve laboratuvar bulguları gösterdiğinden ve ayrımları zor olduğundan, sepsisli yenidoğanlarda HLH tanısının gözden kaçabiliyor olabileceğini araştırmak amacıyla, belirlenen kriterleri sağlayan hastalarda primer HLH ile ilişkili genetik mutasyon varlığı araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde Temmuz 2019-Haziran 2021 tarihleri arasında, sepsis tanısı olup; 1)Akraba evliliği ve/veya kardeş ölüm öyküsü 2)Hepatosplenomegali 3)Hiperferritinemi (>500 ng/mL) kriterlerinin en az 2'sini sağlayan 22 yenidoğanda, familial HLH ile ilişkili genetik mutasyon araştırılmıştır.

Bulgular: 12 hastada literatürde "benign" kategorisinde sınıflandırılan, STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V), UNC13D geninde c.2599G>A (K867E) homozigot veya heterozigot polimorfizmleri tespit edildi. 2 hastada, STXBP2 geninde c.1034C>T (T345M), 1'er hastada STXBP2 geninde c.1470G>A (R490Q), STX11 geninde c.799G>A (V267M), UNC13D geninde c.1759G>A (R587C), PRF1 geninde c.1620A>G (p.Gln540=) heterozigot mutasyonu tespit edildi. Heterozigot mutasyona sahip hastaların 2'sinde, beraberinde HLH kliniği ile ilişkilendirilmiş polimorfizmler vardı. 3 hastada mutasyon olmaksızın, HLH kliniği ile ilişkilendirilen polimorfizm tespit edildi; 1 hastada PRF1 geninde c.272C>T (A91V) heterozigot, 2 hastada da UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi bulundu.

Sonuç: Sepsis tanılı, belirlenen kriterleri sağlayan hastalarda, HLH ile ilişkili genlerde heterozigot mutasyon veya polimorfizmler tespit edilmiştir. Literatürde bu mutasyon veya polimorfizmlere sahip HLH vakaları bildirildiğinden, bu kriterlerden en az ikisini taşıyan yenidoğan sepsisli hastalarda, HLH ile ilgili ileri araştırma yapılmasını öneriyoruz.

Anahtar kelimeler: Sepsis, hemofagositik lenfohistiyositoz, mutasyon

ABSTRACT

SCREENING OF FAMILIAL HEMOPHAGOCYTIC LYMPHOHISTIOCYTOSIS IN NEONATAL SEPSIS

Objective: In order to investigate whether the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) in newborns with sepsis may be overlooked, it was aimed to investigate the presence of genetic mutations associated with primary HLH in patients who meet the specified criteria, since sepsis and primary HLH in the neonatal period show similar clinical and laboratory findings.

Materials and Methods: In 22 newborn patients who were followed up with the diagnosis of sepsis in the Neonatal Intensive Care Unit of Karadeniz Technical University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, between July 2019 and June 2021, and fulfilled at least 2 of the 3 criteria for 1)History of consanguineous marriage or sibling death, 2)Hepatosplenomegaly 3)Hyperferritinemia(>500 ng/mL), genetic mutations associated with familial HLH were screened.

Results: In our study, homozygous or heterozygous polymorphisms of c.1576A>G (I526V) in the STXBP2 gene and c.2599G>A (K867E) in the UNC13D gene were detected in 12 patients, classified in the "benign" category in the literature. Heterozygous mutation was demonstrated in 6 patients; c.1034C>T (T345M) in STXBP2 gene in 2 patients, one patient each had heterozygous mutations of c.1470G>A (R490Q) in the STXBP2 gene, c.799G>A (V267M) in the STX11 gene, c.1759G>A (R587C) in the UNC13D gene, c.1620A>G (p.Gln540=) in the PRF1 gene detected. Two of the patients with heterozygous mutations had polymorphisms associated with HLH. Polymorphism associated with HLH clinic was detected in 3 patients without mutation; c.272C>T (A91V) heterozygous polymorphism in PRF1 gene was found in 1 patient and c.175G>A (A59T) heterozygous polymorphism in UNC13D gene in 2 patients.

Conclusion: Heterozygous mutations or polymorphisms in genes associated with HLH were detected in newborn patients diagnosed with sepsis and meeting the specified criteria. As cases of HLH with these mutations or polymorphisms have been reported in the literature, we recommend further investigation of HLH in newborn diagnosed with sepsis with at least 2 of these criteria.

Key words: Sepsis, hemophagocytic lymphohistiocytosis, mutation

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hemofagositik Lenfohistiyositoz	3
2.1.1. Hemofagositik Lenfohistiyositozun Tarihçesi ve Tanımı	3
2.1.2. Familial (Primer) Hemofagositik Lenfohistiyositoz.....	3
2.1.3. Sekonder (kazanılmış) Hemofagositik Lenfohistiyositoz	4
2.1.4 Epidemiyoloji	8
2.1.5. Familial Hemofagositik Lenfohistiyositozun Patofizyolojisi	9
2.1.5.1. Genel Bakış.....	9
2.1.5.2. Sitokin Düzeylerindeki Yükselmeler	12
2.1.5.3. Familial Hemofagositik Lenfohistiyositozun Moleküler Temeli... ..	14
2.1.5.4. Familial Hemofagositik Lenfohistiyositozda Genotip Fenotip Korelasyonu	16
2.1.6. Klinik Bulgular	17
2.1.7. Laboratuvar Bulguları.....	20
2.1.8. Radyografik Anormallikler.....	22

2.1.9. Yenidoğan Döneminde HLH' nin Klinik ve Laboratuvar Bulguları.....	22
2.1.10. Hemofagositik Lenfositik Lenfositik Tanı Kriterleri	23
2.1.11. Patoloji.....	25
2.1.12. Familial Hemofagositik Lenfositik Lenfositik Tedavisi.....	26
2.1.12.1. Refrakter veya Dirençli HLH Tedavisi.....	30
2.1.12.2. Hematopoetik Kök Hücre Nakli	31
2.1.13. Prognoz	31
2.2. Yenidoğan Sepsisi	32
2.2.1. Tanımlar	32
2.2.2. Yenidoğan Sepsisinin Klinik Bulguları	32
2.2.3. Yenidoğan Sepsisinde Laboratuvar Bulguları	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Araştırma Yeri ve Zamanı.....	37
3.2. Araştırma Evreni	37
3.3. Çalışma Grubunda İncelenen Parametreler	37
3.4. Kan Örneklerinin Eldesi ve Laboratuvarlara İletilmesi.....	41
3.5. Laboratuvar Yöntemleri	42
3.6. İstatistiksel Analiz	42
3.7. Etik Kurul ve Kurum İzinleri	43
4. BULGULAR	44
4.1. Hastaların Demografik Özellikleri	44
4.2. Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulguları	44
5. TARTIŞMA	55

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
6.1. Sonuçlar.....	67
6.2. Öneriler.....	68
7. KAYNAKLAR	70



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo I:	Primer Hemofagositik Lenfhistiositozun Sınıflandırılması.....	4
Tablo II:	Sekonder Hemofagositik Lenfhistiositozun Sınıflandırılması.....	8
Tablo-III:	HLH-1994 Tanı Kriterleri.....	24
Tablo-IV:	HLH-2004 Tanı Kriterleri.....	24
Tablo -V:	HLH 2009 Yenilenmiş Tanı Kriterleri	25
Tablo-VI:	Rodwell Skorum Sistemi	35
Tablo-VII:	Neonatal sepsis ve HLH'nin ortak klinik ve laboratuvar bulguları	36
Tablo-VIII:	Yenidoğanlar için normal hemoglobin değerleri	38
Tablo-IX:	Sepsis tanısı esnasında hastaların klinik fizik muayene ve laboratuvar bulguları.....	45
Tablo-X:	Aynı gen polimorfizmine sahip hastaların demografik, klinik ve genetik özellikleri	46
Tablo-XI:	Aynı gen polimorfizmine sahip hastaların laboratuvar bulguları ..	47
Tablo-XII:	Heterozigot mutasyona sahip hastaların demografik, klinik ve genetik özellikler	48
Tablo-XIII:	Heterozigot mutasyona sahip hastaların laboratuvar bulguları	49
Tablo-XIV:	HLH kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen hastaların demografik, klinik ve genetik özellikleri.....	51
Tablo-XV:	HLH kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen hastaların laboratuvar özellikleri	52
Tablo-XVI:	Eksitüs olan hastaların demografik, klinik ve genetik özellikleri.	53
Tablo-XVII:	Laboratuvar verilerinin gruplar arasında istatistiksel karşılaştırması	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil I:	Perforin-granzim yolu.....	11
Şekil-II:	HLH-94 kemoterapi protokolü	27
Şekil-III:	HLH 2004 kemoterapi protokolü.....	28
Şekil-IV:	< 28 haftalık bebeklerde ilk 72 saatte normal beyaz küre değerleri	39
Şekil-V:	28-36 haftalık bebeklerde ilk 72 saatte normal beyaz küre değerleri	39
Şekil-VI:	> 36 haftalık bebeklerde ilk 72 saatte normal beyaz küre değerleri	40
Şekil-VII:	Yenidoğanlarda ilk 90 gündeki normal trombosit sayıları	41

KISALTMALAR DİZİNİ

a-PTT:	Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
BOS:	Beyin omurilik sıvısı
BT:	Bilgisayarlı tomografi
CRP:	C-reaktif protein
CSA:	Siklosporin A
CTL:	Sitotoksik T lenfosit
DİK:	Dissemine intravasküler koagülasyon
DRESS:	İlaç ilişkili hipersensitivite reaksiyonu
FHL:	Familyal hemofagositik lenfohistiyositoz
FMF:	Ailevi akdeniz ateşi
GGT:	Gama glutamil transferaz
HKHN:	Hematopoietik kök hücre nakli
HLH:	Hemofagositik lenfohistiyositoz
IFN- γ :	İnterferon gama
IL:	İnterlökin
İVİG:	İntravenöz immün globulin
KİBAS:	Kafa içi basınç artışı sendromu
KİT:	Kemik iliği transplantasyonu
LDH:	Laktat dehidrojenaz
MAS:	Makrofaj aktivasyon sendromu
mg/dL:	miligram/desilitre
MRG:	Manyetik rezonans görüntüleme
NEK:	Nekrotizan enterokolit
ng/mL:	Nanogram/mililitre
NK:	Natural killer hücre

OR:	Otozomal resesif
pg/mL:	pikogram/millitre
PRES:	Posterior reversibl ensefalopati sendromu
RDS:	Respiratuar distres sendromu
sCD163:	Çözünür CD163
sIL-2R:	Çözünür interlökin 2 reseptörü
sJIA:	Sistemik juvenil idiyopatik artrit
SLE:	Sistemik lupus eritematozus
SSS:	Santral sinir sistemi
TNF- α :	Tümör nekroz faktör-alfa
TRAPS:	Tümör nekroz faktörü ile ilişkili periyodik sendrom
WES:	Tüm ekzon sekanslama
XLP:	X'e bağlı lenfoproliferatif sendrom
XMEM:	Magnezyum transport defekti ile birlikte görülen X'e bağlı immün yetmezlik
PCT:	Prokalsitonin
g/dL:	gram/desilitre
μ L:	mikrolitre
mEq/L:	miliekivalan/litre
U/L:	internasyonal ünite/litre
Het:	Heterozigot
Hom:	Homozigot
IUGR:	İntrauterin gelişme geriliğ
WGS:	Tüm genom dizileme
Min:	Minimum
Mak:	Maksimum

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Hemofagositik lenfohistiyositoz (HLH); ‘*cytotoxic T lymphocyte*’ (CTL) ve ‘*natural killer*’ (NK) hücrelerinin ve makrofajların artmış ve durdurulamayan aktivasyonu ile karakterize, hipersitokinemi ve immün aracılı hasarla, çoklu sistem tutulumuyla seyreden bir hastalıktır(1). Karakteristik özellikleri arasında dirençli ateş, sitopeni, hepatosplenomegali ve tipik HLH biyobelirteçlerinin yükselmesi yer alır. Hastalarda hepatit ve karaciğer yetmezliği, koagülopati, merkezi sinir sistemi tutulumu ve çoklu organ yetmezliği gelişebilir(2).

Hemofagositik lenfohistiyositoz geniş bir özet tanı olarak kullanılırken, günümüzde artık birçok pediatrik hastanın aslında HLH sendromu ile komplike hale gelebilen, geniş bir genetik hastalık yelpazesinde olduğu fikri daha çok kabul edilmektedir(2). Primer (genetik) HLH ve sekonder (kazanılmış) HLH olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Kazanılmış HLH nedenleri arasında enfeksiyonlar, maligniteler, romatolojik hastalıklar, kollajen doku hastalıkları, primer immün yetmezlik bozuklukları, metabolizma hastalıkları, glikojen depo hastalıkları gösterilebilir(2). Literatürde ilaç hipersensitivite reaksiyonlarında sekonder görülen HLH vakaları da bildirilmiştir(3,4).

Tipik olarak primer HLH, kemik iliği transplantasyonu (KİT) yapılmadığı sürece mutlaka mortalite ile seyreden bir hastalıktır. Ailesel HLH’de küratif tedavi için allojenik hematopoetik kök hücre nakli uygulanmalıdır(5). Uzun süreli sekellere yol açan çoklu organ yetmezliği ve merkezi sinir sistemi tutulumu ve bu durumda hızlı bir ilerleme riski, tanısal gecikmenin en korkulan sonuçlarıdır. Bu nedenle HLH, ateşli ve genel durumu giderek kötüleşen çocuklarda akla gelmesi ve teşhis edilebilmesi gereken tıbbi bir acil durumdur. HLH’de hastalığı tetikleyen durumun ortadan kaldırılması ve hiperinflamasyonun azaltılması amaçlamaktadır(6).

Hemofagositik lenfohistiyositozun temel tedavisi; sitokin fırtınasını hafifletmeyi, aktive T lenfositleri ve makrofajları ortadan kaldırmayı amaçlayan immünosupresif, kemoterapötik ve biyolojik ajanlardan oluşur(2).

Primer HLH, otozomal resesif kalıtıldığından, akraba evliliğinin sık olduğu toplumlarda insidans artmıştır(7,8). Hastaların yaklaşık %70'i bir yaşından daha küçük yaşta tanı almakta, hatta intrauterin bile gelişebileceği için hidrops fetalise yol açabilmekte ve prenatal araştırmalar sırasında ya da doğumda saptanabilmektedir(9–11). Ancak son zamanlarda, heterozigot mutasyonu olan HLH vakaları da bildirilmektedir ve bunlar daha çok geç başlangıçlı HLH ile ilişkilendirilmiştir(12–15).

Famlyal hemofagositik lenfohistiyositoz (FHL), yenidoğan döneminde, sepsis benzeri klinik ve laboratuvar bulguları gösterir, bu da tanı koymada güçlüğü, tanının gözden kaçırılmasına neden olabilir(16–21).

Karadeniz bölgesinde akraba evliliği ve dolayısıyla otozomal resesif kalıtmalı hastalıklar sık görüldüğünden, yenidoğan döneminde, FHL ile ilgili farkındalık uyandırmayı amaçlıyoruz. FHL, yenidoğan sepsisleri ile benzer klinik ve laboratuvar bulguları gösterdiğinden, yenidoğan döneminde sepsis nedeniyle eksitus olan vakalarda bu tanının gözden kaçırılmış olabileceğini düşünüyoruz. Son yıllarda hastalıkla ilgili heterozigot mutasyonlar da gösterildiğinden, eksitus olmayan vakalarda da heterozigot mutasyon olup, ilerleyen yıllarda tetikleyici faktörler (özellikle enfeksiyonlar) varlığında HLH gelişme olasılığının yüksek olduğunu düşünüyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hemofagositik Lenfhistiyositoz

2.1.1. Hemofagositik Lenfhistiyositozun Tarihçesi ve Tanımı

Hemofagositik lenfhistiyositoz ilk kez Scott ve Robb-Smith tarafından 1939 yılında, ateş, lenfadenopati, splenomegali ve hepatomegali ile ardından sarılık, purpura, anemi ve lökopeni olan dört yetişkinde tanımlanmıştır ve histiyosit medüller retiküloz olarak adlandırılmıştır(22).

Hemofagositik lenfhistiyositozun familial formu, ilk kez 1952 yılında, Farquhar ve Claireaux tarafından “familial hemofagositik retikülozis” şeklinde tanımlanmıştır(23). Kazanılmış HLH ilk kez 1979 yılında, Risdall ve arkadaşları tarafından bağışıklığı zayıflamış konakçılarda tanımlanmış; viral enfeksiyonların, immün düzensizliği ve HLH'nin tipik özelliklerini tetiklediği öne sürülmüştür(24). Daha sonra farklı araştırmacılar tarafından geliştirilerek, değişen tanımlamalar ile “hemofagositik lenfhistiyositoz” adı ve tanı kriterleri ile birlikte literatürde yerini almıştır.

Familial HLH; CTL ve NK hücrelerinde, sitotoksik granüllerin taşıma, por formasyonu oluşturma, granül egzozitozu, granül füzyonu fonksiyonlarında bozulmaya neden olan genetik mutasyonlar ve buna bağlı bu hücrelerin uygunsuz çoğalması, makrofaj aktivasyonu ve neticede proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi ve sitokin fırtınası ile karakterizedir(1).

2.1.2. Familial (Primer) Hemofagositik Lenfhistiyositoz

Esas olarak, CTL ve NK hücrelerin perforin aracılı sitotoksitesini etkileyen monojenik bozukluklardan oluşur. Familial geçişli formun yanı sıra primer HLH; primer immün yetmezlik sendromları, Epstein-Barr virüsün (EBV) tetiklediği düşünülen immün yetmezlik sendromları ve inflamazomun aktive olduğu otoimmün hastalıklarla birliktelik gösterebilir(1,2,25,26) (Tablo-I).

Tablo I: Primer Hemofagositik Lenfhistiyositozun Sınıflandırılması

PRİMER HLH	Kalıtım	Gen lokalizasyonu	İlgili gen	Protein	Fonksiyon
Familyal HLH					
FHL-1	OR	9q21.3-2	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
FHL-2	OR	10q21-22	PRF1	Perforin	Por formasyonu
FHL-3	OR	17q25	UNC13D	Munc13-4	Granül egzozitozu
FHL-4	OR	6q24	STX11	Syntaxin11	Granül füzyonu
FHL-5	OR	19q13	STXBP2	Munc18-2	Granül füzyonu
Primer İmmün Yetmezlik Sendromları ile ilişkili					
Chediak Higashi Sendromu	OR	1q42- 43	LYST	LYST	Sitotoksik granül taşınması
Hermansky Pudlak Tip 2	OR	5q14.1	ABP3B1	ABP3B1	Sitotoksik granül taşınması
Griscelli Sendromu Tip 2	OR	15q21	RAB27A	RAB27A	Granül füzyonu
EBV ile İndüklenen İmmün Yetmezlik Sendromları					
XLP1	OR	Xq25	SH2D1A	SAP	T ve NK hücrelerinde sinyalleşme
XLP2	OR	Xq25	BIRC4	XIAP	NF - kB içeren sinyal yolları
IL - 2 indüklenebilir T - hücre kinaz eksikliği	OR	5q34	ITK	ITK	T hücrelerinde sinyalleşme
CD 27 eksikliği	OR	12p13	CD27	CD27	Lenfosit kostimülatör molekül
XMEM	OR		MAGT1	MAGT1	T hücre kostimülatör
Otoinflamazom Aktivasyonu					
Otoinflamatur hastalıklar			NLRC4		Artmış inflamazom aktivasyonu

*OR: Otozomal resesif

*XLP1: X'e bağlı lenfoproliferatif sendrom 1

*XLP2: X'e bağlı lenfoproliferatif sendrom 2

Familyal hemofagositik lenfhistiyositoz; nadir görülen, otozomal resesif kalıtılan ancak son zamanlarda heterozigot mutasyonların da gösterildiği, kontrolsüz

T hücre ve makrofaj aktivasyonu ve neticesinde aşırı sitokin salınımı ile karakterize hayatı tehdit edici bir immun regülasyon bozukluğudur(1).

Günümüze kadar FHL ile ilgili dört genetik mutasyon tanımlanmış ve ilişkili olabilecek bir de gen lokusu (9q21.3-q22) belirlenmiş (FHL-1), ancak bu lokusla ilgili spesifik gen henüz tespit edilememiştir(2).

İlk tanımlanan genetik defekt, perforin (PRF1) genindeki mutasyondur ve FHL2 olarak adlandırılmaktadır(27). Perforin, CTL ve NK hücrelerinin salgısal granüllerinde granzim ile birlikte bulunarak, hedef hücrenin apoptozis ile öldürülmesinde görev almaktadır. Perforin eksikliği olan hastalarda, granül içerikleri hedef hücrelere giremez ve hedef hücrede por formasyonu oluşamaz(2).

Familiyal hemofagositik lenfhistiyositoz 3-5, sırasıyla UNC13D, STX11 ve STXBP2 genlerindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Bu genlerin protein ürünleri, normal sitotoksik granül ekzositozu ve füzyonunda görev almaktadır. Bu genlerde mutasyon bulunan hastalarda, granül içerikleri sitotoksik hücre ve hedef hücrenin oluşturduğu immünolojik sinaps içine salınamaz ve hedef hücreler öldürülemez(28–31). Familiyal hemofagositik lenfhistiyositozda, HLH spontan oluşabileceği gibi bir enfeksiyöz ajanla da tetiklenebilmektedir(32).

Chediak Higashi sendromu (LYST gen mutasyonu), Griscelli sendromu tip 2 (RAB27A gen mutasyonu), Hermansky Pudlak sendromu tip 2 (ABP3B1 gen mutasyonu); HLH, hipopigmentasyon, nötrofil disfonksiyonu ve tekrarlayan enfeksiyonlarla karakterize primer immün yetmezlik sendromlarıdır(2). Chediak Higashi ve Hermansky Pudlak sendromunda sitotoksik granüllerin taşınmasında, Griscelli sendromunda granül füzyonunda bozukluk vardır(26).

Ebstein Barr virüsünün tetiklediği primer immün yetmezlik sendromlarında görülen HLH de primer HLH kategorisinde sınıflanmaktadır. Bunlar; XLP1, XLP2, IL-2 indüklenebilir T hücre kinaz eksikliği, CD 27 eksikliği, magnezyum transport defekti ile birlikte görülen X'e bağlı geçiş gösteren immün yetmezliktir (XMEM)(1,26). XLP1'de CD8+ T hücrelerinin ve NK hücrelerinin EBV ile enfekte B hücrelerini öldürmesinde defekt vardır. XLP2'de EBV ile enfekte hücrelerin

apoptozisinde bozukluk görülür(26). IL-2 indüklenebilir T hücre kinaz eksikliğinde, ITK geninde mutasyon vardır ve EBV spesifik T hücre proliferasyonunda bozukluk görülür. CD27 mutasyonuna bağlı CD27 eksikliğinde, T hücre proliferasyonunda ve EBV ile enfekte B hücrelerine karşı sitotoksitede bozukluk vardır; kombine bir immün yetmezliktir(2). XMEM’de, EBV spesifik T hücrelerinin proliferasyonunda bozukluk görülür ve erkek cinsiyette tekrarlayan viral enfeksiyonlar, kombine immün yetmezlik, lenfoma ile karakterizedir(1,26).

Son zamanlarda, NLRC4 otoinflamazomunda aktive edici bir mutasyonun da HLH’ye yol açtığı gösterilmiş ve patogeneze artmış IL18 düzeyi sorumlu tutulmuştur(33,34). Fetal trombotik vaskülopati, hepatosplenomegali, asit, şiddetli otoenflamasyon ve perinatal HLH ile seyreden bir NLRC4 mutasyon vakası bildirilmiştir(35).

2.1.3. Sekonder (kazanılmış) Hemofagositik Lenfhistiyositoz

Sekonder hemofagositik lenfhistiyositoz; enfeksiyon, malignite, otoimmün ve romatolojik hastalıklar, metabolik hastalıklar, primer immün yetmezlik bozuklukları, post-allojenik hematopoietik kök hücre nakli, ilaç ilişkili hipersensitivite reaksiyonlarının seyrinde komplikasyon olarak ortaya çıkar(36,37). Diğer birçok primer immün yetmezlik bozukluğunda, özellikle enfeksiyonların tetiklemesi ile HLH görülebilir. Bazı doğumsal metabolizma hastalıkları da muhtemelen anormal makrofaj aktivasyonuna bağlı olarak HLH ile komplike hale gelebilir. HLH bu durumlarda sekonder HLH olarak adlandırılabilir(2,37).

Hemofagositik lenfhistiyositoz, hemen hemen her enfeksiyonla ortaya çıkabilir. Çocuklarda daha yaygın enfeksiyonlar arasında DNA virüsleri (EBV, HSV, sitomegalovirüs ve adenovirüs), hücre içi patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlar (Leishmania, tüberküloz, salmonella typhimurium, brucella, malarya ve kırım kongo kanamalı ateşi) bulunur(38–41). Bunlar dışında protozoalar, diğer bakteriler ve mantarlara bağlı da HLH gelişebilmektedir(38). Seyrinde HLH bildirilen enfeksiyonların listesi geniştir ve coğrafi bölge, mevsim (grip virüsleri, kene kaynaklı hastalıklar) ve sosyoekonomik duruma (tüberküloz) göre değişkenlik gösterebilir(39,41–43). EBV ilişkili HLH’nin prevalansı, Asya kıtasında genetik ve

Çevresel faktörler nedeniyle oldukça yüksektir(44). Enfeksiyonlar yenidoğan döneminde FHL'nin tetikleyicisi olabilir(32).

Hemofagositik lenfohistiyositoza neden olan maligniteler, sıklıkla lösemi ve lenfomalardır. Özellikle T hücreli ve NK hücreli lenfomalar, büyük hücreli anaplastik lenfoma ve lösemilerde daha sık görülür(45,46). Kemoterapiye ve hematopoietik kök hücre nakline sekonder HLH gelişmektedir(45,47).

Kronik romatizmal hastalıklarda HLH; genetik faktörler, kronik inflamasyon ve immünsupresyona bağlı gelişmektedir. Makrofaj aktivasyon sendromu (MAS), romatolojik bozuklukların seyrinde ortaya çıkan bir HLH veya HLH benzeri sendromu ifade etmek için kullanılan terimdir. Çocuklarda %10 sıklıkla sistemik juvenil idiyopatik artrit (sJIA) görülür. Bunun dışında sistemik lupus eritematozus (SLE), Kawasaki hastalığı, hiper Ig D sendromu, ailevi akdeniz ateşi (FMF), tümör nekroz faktörü ile ilişkili periyodik sendrom (TRAPS), kriyoprin ilişkili periyodik sendromlarda da MAS görülür(36). Son zamanlarda MAS gelişen bazı sJIA hastalarında da, FHL genlerinde heterozigot mutasyonlar tespit edilmiştir(48–50).

Wollman hastalığı, Niemann Pick hastalığı, tip 1a glikojen depo hastalığı, Gaucher hastalığı, lizinürik protein intoleransı, organik asidemiler, seyrinde HLH gelişebildiği bildiren metabolik hastalıklar arasındadır(51–56).

İlaç ilişkili hipersensitivite reaksiyonlarının (DRESS) seyrinde bildirilmiş HLH vakaları da bulunmaktadır(3,57–59).

Sekonder HLH'ye neden olan hastalıklar ve faktörler tablo-II'de gösterilmektedir(2).

Tablo II: Sekonder Hemofagositik Lenfohistiyositozun Sınıflandırılması

SEKONDER HLH	
Enfeksiyon ile ilişkili	Viral, bakteriyel, fungal, mikobakteriyel, riketsiyal, parazitik enfeksiyonlar
Malignite ile ilişkili	Lösemi, lenfoma, germ hücreli tümör, büyük hücreli anaplastik lenfoma
Otoimmün ve romatolojik hastalıklarla ilişkili	Sistemik lupus eritematozus, juvenil idiyopatik artrit, dermatomiyozit, mikst kollagen doku hastalığı, still hastalığı, castleman hastalığı, kikuchi hastalığı, sistemik skleroz, dermatomiyozit, sjögren sendromu, inflamatuvar barsak hastalığı, kawasaki hastalığı, poliarteritis nodoza, sarkoidoz
Metabolik – mitokondriyal hastalıklar ile ilişkili	Lizinürik protein intoleransı, lizozomal asit lipaz eksikliği, çoklu sülfataz eksikliği, galaktozemi, Gaucher hastalığı, Pearson sendromu, organik asidemiler, konjenital glikozilasyon defektleri, biotidinaz eksikliği, Niemann Pick hastalığı, galaktosialidozis, kobalamin C eksikliği
Primer immün yetmezlik sendromları ile ilişkili	Ağır kombine immün yetmezlik, kombine immün yetmezlik, Di George Sendromu, Wiskott-Aldrich Sendromu, ataksi telenjektazi, diskeratozis konjenita, kronik granülomatoz hastalık, X'e bağlı agamaglobulinemi, otoimmün lenfoproliferatif sendrom
Allojenik hematopoetik kök hücre nakli ile ilişkili	
İlaç hipersensitivite reaksiyonu ile ilişkili	Lamotrijin, fenobarbital, amoksisilin

2.1.4 Epidemiyoloji

Hemofagositik lenfohistiyositoz, hem çocuklarda hem de yetişkinlerde ortaya çıkan, nadir ve muhtemelen yeterince tanınmayan bir sendromdur. Daha önceki yayınlarda, muhtemelen yetersiz tanıya bağlı çok daha düşük insidanslar bildirilmiştir. Gerçek insidansı bilinmemektedir.

İsveç'te 1987-2006 yılları arasında yapılan bir çalışmada, FHL insidansı 100.000 çocukta 0,12-0,15 olarak bildirilmiştir(60). Teksas'taki büyük pediatri hastanelerinden birinde 2010 yılında yapılan çalışmada, 100.000 çocukta 1'lik bir insidans tespit edilmiştir(61). Türkiye'de 1998-2002 yılları arasında yapılan bir çalışmada, bu sürede hastanede yatan çocuklar arasında FHL sıklığı 1418'de 1 hasta olarak tespit edilmiştir. FHL otozomal resesif kalıtıldığından, Türkiye'de yüksek

akraba evliliği oranı HLH'nin daha sık görülmesinden sorumlu olabilir(7). 2011 yılında yayınlanan bir makaleye göre; çeşitli merkezlerdeki HLH insidansına dayanarak, üçüncü basamak pediatri hastanelerine kabul edilen 3000 vakadan 1'inde, HLH olabileceği tahmin edilmektedir(62).

Etkilenmiş bireylerde, hastalık genellikle çok erken yaşlarda ortaya çıkmakta; hastaların yaklaşık %70'i bir yaşından daha küçük yaşta tanı almakta, hatta intrauterin bile gelişebileceği için hidrops fetalise yol açabilmekte ve prenatal araştırmalar sırasında ya da doğumda saptanabilmektedir(9–11).

Hemofagositik lenfositosis vakalarının %25'inin ailesel olduğu düşünülmektedir. FHL, tipik olarak çoğunlukla erken süt çocukluğu döneminde başlangıç gösterse de, yetişkinlerde de bildirilmiştir(13). Türkiye'de yapılan bir çalışmada, pediatrik HLH vakalarının yaklaşık %20'si neonatal başlangıçlı olarak bildirilmiştir(63).

Maligniteye bağlı gelişen HLH vakalarında, etnik yatkınlıktan söz edilmektedir. Malignite tanısıyla takip edilen Doğu Asya'lı ve Japon ve hastalar ile batı kökenli hastaların karşılaştırıldığı büyük bir çalışmada HLH riskinin, Japon ve Doğu Asya'lı hastalarda daha fazla olduğu izlenmiştir(64).

2.1.5. Familial Hemofagositik Lenfositosisin Patofizyolojisi

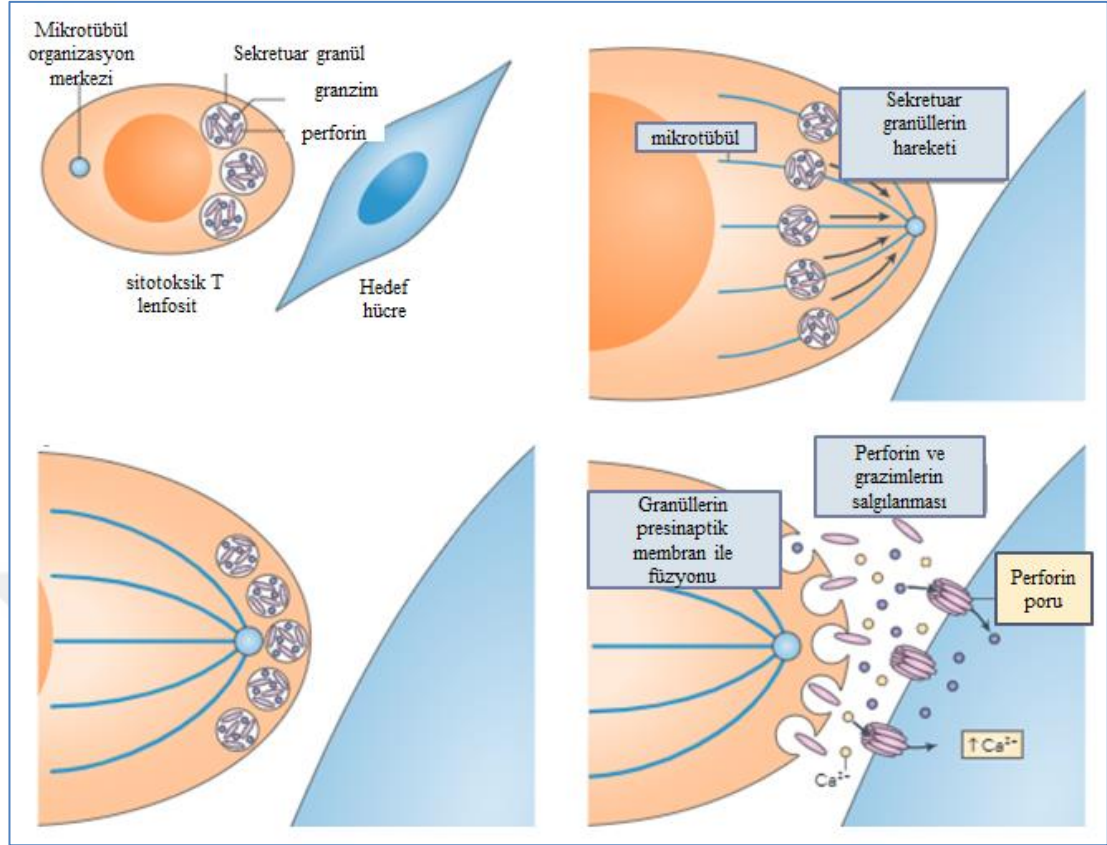
2.1.5.1. Genel Bakış

Hemofagositik lenfositosisin altında yatan hücresel ve moleküler mekanizmalar ile ilgili araştırmalar hala devam etmektedir. HLH; tek bir hastalık değil, bireyin genetik yatkınlıklarına ve çevresel tetikleyicilere bağlı olarak, bir dizi farklı yolla devreye girebilen, sürekli bağışıklık sistemi aktivasyonu durumudur. Onlarca yıllık klinik gözlem, genetik analiz ve araştırmalarından elde edilen üç ana gözlem önemlidir(37): 1) HLH, temelde yatan tetikleyicilerden değil, esas olarak anormal bağışıklık tepkisi tarafından yönlendirilir. 2) HLH'deki immün yanıtlar, otoimmün hastalıklarda görüldüğü gibi self-antijenleri hedef almıyor gibi görünmektedir. 3) T hücrelerinin (özellikle CD8+ sitotoksik T hücreleri) kontrolsüz aktivasyonu, HLH'nin çoğu formundaki temel anormalliktir(26).

Hemofagositik lenfositlerin klinik ve laboratuvar özellikleri, aktive edilmiş bağışıklık hücrelerinin (özellikle T hücreleri, NK hücreler, makrofajlar ve nötrofiller) doku infiltrasyonuna ve bu hücrelerden salınan inflamatuvar sitokinlerin (IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL2, IL-6, IL12, IL16 ve IL-18) lokal ve sistemik etkilerine bağlıdır. HLH immünopatolojisinde; aktive edilmiş CD8 + T hücrelerinin, NK hücrelerin ve makrofajların "sitokin fırtınası" adı verilen, birbirlerini uyardığı döngüleri rol oynamaktadır(1,26).

Normal fizyolojik koşullarda, virüs ile enfekte bir hücre veya tümör hücresi ile karşılaşıldığında, NK ve CTL hücrelerel immüniteyi iki ana yolak üzerinden sağlar; bunlar perforin-granzim yolu ve Fas-Fas ligand yoludur.

1) Perforin-granzim yolu: CD8 + sitotoksik T hücreleri ve NK hücreleri, perforin (hedef hücrede porlar oluşturan, granzimlerin girişini kolaylaştıran ve hedef hücre zarının stabilizasyonunu bozan) ve hedef hücrenin sitolitik yıkımını destekleyen granzimler (hedef hücrede apoptozun tetiklenmesinde rol oynayan proteinler) içeren sitolitik granüller salgılar. Bu işlemin normal bir şekilde ilerlemesi için, perforin ve granzimlerin yapısal olarak normal olması, hücre içinde post translasyonel modifikasyonunun uygun şekilde yapılması ve granüller halinde paketlenmesi gerekir(1). Bu granüller daha sonra, sitotoksik hücre ve hedef hücre membranının oluşturduğu immünolojik sinapsa geçerler. Burada hazırlık aşamasından geçtikten sonra, ekzositoz ile içerisindeki molekülleri sinaptik aralığa boşaltırlar. Perforin, sinaptik aralıktaki kalsiyum iyonları ile aktive olarak, hedef hücre membranında polimerize olur ve porlar oluşturur. Granzim de bu porlardan hücre içine girerek farklı yollardan apoptozu tetikler. Perforin yokluğunda granzimler yine de hücre içine girebilir ancak yeterli toksisite oluşturamaz(65,66) (şekil I).



Şekil I: Perforin-granzim yolu

Normal koşullar altında; perforin ve granzimler, hedef hücrelerin yok edilmesine ve bağışıklığı aktive eden uyarının ortadan kaldırılmasına katkıda bulunur. Bu durum, sitotoksik bağışıklık hücrelerinin azalmış antijen uyarımı ve nihayi apoptozuyla sonuçlanır. Aktivasyonla indüklenen hücre ölümü olarak adlandırılan bu fizyolojik “down regülasyon”, immün cevabın kontrolü için kritiktir(1). Bu sürecin genetik mutasyonlar yoluyla bozulması, bu hücrelerin uygunsuz çoğalmasına, aşırı aktivasyonuna, böylece FHL'nin gelişmesine zemin hazırlar. Aktive olan bağışıklık hücreleri tarafından salınan proinflamatuvar sitokinler; hemofagositoz, doku hasarı, organ yetmezliği ve HLH'nin inflamatuvar etkileriyle sonuçlanan, yüksek seviyelerde makrofaj aktivasyonuna neden olurlar(1).

Familiyal hemofagositik lenfhistiositozda, tipik olarak T ve NK hücre sitotoksitesi kusurludur ve laboratuvar testlerinde NK hücre aktivitesi azalmış olarak tespit edilir(67).

2) *Fas- Fas ligand (FasL)* yolu: FasL, aktive olmuş CTL ve NK hücrelerin yüzeyinde eksprese olur ve hedef hücredeki Fas reseptörüne bağlanır. Bu bağlanma, hücre yüzeyinde Fas moleküllerinin trimerizasyonuna yol açarak bir kompleks molekül oluşturur. Oluşan bu kompleks, klasik yoldan kaspaz aktivasyonu ile apoptoza neden olur. HLH hastalarında serum FasL seviyeleri yüksektir, bu da HLH’de sitotoksik hücre aktivitesinin ve apoptozisin arttığını destekler niteliktedir(68).

Famlyal hemofagositik lenfhistiyositozda, esas olarak perforin-granzim yolağındaki proteinleri kodlayan genlerde bozukluklar vardır(44).

2.1.5.2. Sitokin Düzeylerindeki Yükselmeler

Hemofagositik lenfhistiyositozlu hastalarda; IL-1 β , IL-2, IL-6, IL10, IL-12, IL-16, IL-18, çözünür IL2 reseptörü (sIL-2R=sCD25), çözünür CD163 (sCD163), TNF- α ve IFN- γ dahil olmak üzere çok sayıda serum proinflatuar sitokin düzeyi yükselmiştir(69). Artan kanıtlar, IFN- γ ’nın HLH’nin patogeneğinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Aktif hastalığı olan hastalarda serum IFN- γ seviyeleri yüksektir. Yüksek IFN- γ seviyeleri, makrofaj aktivasyonuna ve ardından diğer proinflatuar sitokinlerin üretiminin artmasına neden olur(1,69–71). IFN- γ ölçümü, HLH teşhisini kolaylaştırmak için standartlaştırılmış bir test olarak da kullanılabilir(72).

İnterlökin-2 reseptörü, üç farklı membran alt birim bileşenine (alfa, beta ve gama) sahiptir. IL-2R-alfa zinciri yalnızca tek çekirdekli hücrelerin, B hücrelerinin veya monositlerin aktivasyonundan sonra salgılanır. sIL-2R, IL-2R-alfa zincirinden proteolitik olarak bölünmüş, kesilmiş, glikolize edilmiş bir proteindir. Yapılan bir çok çalışma sonucu dolaşımdaki periferik kan mononükleer hücre aktivasyonunun hassas ve kantitatif bir belirteci olduğu gösterilmiştir. HLH’de de tipik olarak yükselmiştir ve tanı kriterleri arasındaki biyobelirteçlerdendir(73).

Çözünür CD163, esas olarak aktive edilmiş monositlerin/makrofajların zarlarında eksprese olur. Makrofajların, hemoglobin-haptogloblin komplekslerini temizlemesinde bir reseptör olarak işlev görür. Enflatuar hastalıklarda, uygunsuz

makrofaj aktivasyonu için, makrofaja özgü bir işaret olarak kabul edilir ve HLH'de tipik olarak yükselir(74).

Son zamanlarda, deneysel olarak IL33 ve bunun reseptörü olan ST2 reseptörünün de, IFN- γ salınımını artırarak inflamasyonu artırdığı keşfedilmiştir ve HLH patogeneğinde rol oynayabileceği düşünülmüştür(75).

Yapılan çalışmalarda MAS'lı hastalarda IL18 seviyesinin belirgin derecede arttığı gösterilmiştir(76). MAS'lı sJIA hastaları ve sJIA hastalarında, IFN γ , IL-6 ve IL-18 üzerine yapılan bir çalışmada; HLH'de sJIA'ya kıyasla daha yüksek IFN- γ ve IFN- γ kaynaklı protein (IP-10/CXCL-10, IL18BP, indolamin 2,3 dioksijenaz) seviyeleri tespit edilirken , IL-18 seviyeleri sJIA'da daha yüksek bulunmuştur(77).

Hemofagositik lenfohistiositozun tüm klinik ve laboratuvar bulguları, hipersitokinemi ve lenfosit-histiositlerin organ infiltrasyonu ile açıklanabilir:

- Ateş; IL-1, IL-2 ve TNF- α yüksekliği nedeniyle ortaya çıkmaktadır.
- Pansitopeni; TNF- α ve IFN- γ 'nın hematopoezi baskılaması ve hemofagositoz nedeniyledir.
- Trigliserit yüksekliği; artmış TNF- α ve IFN- γ seviyelerinin lipoprotein lipazı inhibe etmesi ya da trigliserit sentezini uyarmasına bağlıdır.
- Fibrinojen düşüklüğüne, makrofajlardan çok miktarda salınan plazminojen aktivatörleri neden olur.
- Ferritin, aktive makrofajlardan salınır ve hastalık aktivitesini göstermektedir.
- Hepatosplenomegali, transaminaz ve bilirubin yüksekliği ve nörolojik bulgular, lenfosit ve histiositlerin organ infiltrasyonu ile ortaya çıkmaktadır.

2.1.5.3. Familial Hemofagositik Lenfhistiyositozun Moleküler Temeli

FHL Tip 1; sadece Pakistanlı dört ailede tanımlanmış olup, 9q21.3-22 kromozom bölgesindeki mutasyon ile karakterizedir ancak sorumlu gen ve ürünü tespit edilememiştir(78).

FHL Tip 2; granül efektör protein perforini (PRF1) kodlayan PRF1 genindeki mutasyonlar, FHL'de tanımlanan ilk mutasyondur(27). Perforin; başlıca CTL olmak üzere makrofaj, NK hücreler ve diğer kemik iliği öncülleri tarafından da salgılanan bir proteindir. Sitolitik yoldaki görevi, hedef hücre zarında porlar oluşturmaktır. Sitoplazmik granüllerde depolanır ve ihtiyaç halinde salınır. Perforin, kalsiyum varlığında hedef hücrenin membranına yerleşip polimerize olarak, hedef hücrenin osmotik lizisine neden olan porlar oluşturur. Hedef hücre, porlardan geçen granzimler ve diğer granül içerikleri ile apoptozise uğratılır(65). Eğer perforin geninde defekt varsa, hedef hücre tam olarak ortadan kaldırılamaz, bu da T hücrelerinin sürekli uyarılması ve kontrolsüz bir sitokin fırtınası ile sonuçlanır.

Günümüzde, FHL'li hastalara en sık gözlenen mutasyon PRF-1 mutasyonudur. Çin'de 2019 yılında HLH'li çocukların dahil edildiği bir çalışmada, sıklığı %38 olarak bulunmuştur(79). Mısır'da 2014-2019 yılları arasında yapılan bir çalışmada, HLH'li çocuklar arasında PRF-1 mutasyon sıklığı %38,9 olarak bulunmuştur(80). Türkiye'de 1999-2014 yılları arasında FHL tanısı alan hastaların retrospektif bir değerlendirmesinde, en sık gözlenen mutasyonun PRF-1 mutasyonu olduğu tespit edilmiştir(81).

FHL Tip 3; UNC13D genindeki mutasyonlardan kaynaklanır. Primer HLH'li hastaların üçte birini oluşturur. UNC13D geni, sitozolik granüllerin hedef hücreye taşınmasına ve egzositozuna aracılık eden Munc13-4 adlı proteini kodlar. Munc13-4 bunu, sitotoksik veziküllerin membran füzyonunu sağlayan bir SNARE protein kompleksi oluşturmak için gerekli olan, vezikül-SNARE (çözünür N-etil-maleimide duyarlı faktör ekli protein reseptörü) ile hedef t-SNARE proteinleri arasındaki etkileşimi düzenleyerek yapar(44). Sitotoksositeye ek olarak, UNC13D mutasyonları trombosit granül ekzositozunu ve nötrofil fagozom olgunlaşmasını etkiler; bu yüzden

UNC13D mutasyonlarında koagülopati ve hücre içi bakterilerin öldürülmesinde defekt görülür(82).

FHL Tip 4; FHL tip 4, FHL vakalarının en az %5'ini oluşturur. Granül membran füzyonunu düzenleyen, STX11 geni tarafından kodlanan ve hedef hücre membranında yer alan, t-SNARE proteini olan syntaxin- 11'deki kusurlardan kaynaklanır(44). Mutasyon sadece CTL'lerin ve NK hücrelerinin sitotoksik fonksiyonunu azaltmakla kalmaz, aynı zamanda FHL-3'e benzer şekilde nötrofil ve trombosit granül ekzositozunu da bozar(83).

FHL Tip 5; FHL vakalarının %5-20'sini oluşturan FHL-5, Munc18-2 proteinini kodlayan STXBP2 (syntaksin bağlayıcı protein 2) genindeki mutasyonlardan kaynaklanır(84,85). Munc18-2, syntaxin-11 ile etkileşime girerek SNARE kompleksinin oluşumunu kolaylaştırır. Bu yüzden Munc18-2 ve syntaxin-11'deki bozukluklar, benzer şekilde kusurlu sitotoksikite ile sonuçlanır. Munc18-2, trombosit granül sekresyonu, mast hücre degranülasyonu ve nötrofil granül mobilizasyonu dahil olmak üzere çeşitli degranülasyon işlemlerinde yer alır(86). Eritrositlerin de Munc18-2 eksprese ettiği göz önüne alındığında, FHL tip 5 hastaları, anemiye katkıda bulunan anormal eritropoez, eritrosit olgunlaşması ve hücre morfolojisi ile karakterize, intrensek bir eritroid defektine sahiptir(86).

Familiyal hemofagositik lenfhistiyositoz tip-5'in klinik görünümü, STXBP2'nin ek işlevleriyle ilişkili olarak diğer FHL alt tiplerinden farklıdır. FHL-5 hastalarında; Munc18-2'deki mutasyonlar barsak epitelinde, v-SNARE aracılı apikal füzyonunun kesintiye uğramasına ve dolayısıyla fizyolojik enterosit fonksiyonuyla alakalı olan fırça-membran taşıyıcılarının yanlış lokalizasyonuna neden olur. Birçok FHL-5 hastası, bağırsak ve böbrek epitelinde kusurlu Munc18-2 ekspresyonundan kaynaklanan, şiddetli enteropati ve renal proksimal tübüler disfonksiyon ile başvurur (87,88). FHL-5'de hematopoetik kök hücre nakline rağmen düzelme göstermeyen kronik ishal, sensorinöral işitme kaybı, hipogamaglobulinemi bildirilmiştir(89).

2.1.5.4. Familyal Hemofagositik Lenfohistiyositozda Genotip Fenotip Korelasyonu

Genetik kusurlar, çocukluk çağı HLH'sinde önemli bir rol oynar ve yetişkin vakalarda da giderek daha fazla tespit edilmektedir. Bu genler, otozomal resesif kalıtılır ve çoğu vaka, akraba evliliği ile ilgilidir; bununla birlikte son zamanlarda heterozigot HLH mutasyonları olan yetişkin ve çocuk yaşta bireyler de tespit edilmektedir.

Genotip, HLH'nin şiddeti ve başlangıç yaşı ile ilişkilidir. Tek bir HLH genindeki homozigot mutasyona ek olarak, HLH'li bireyler birleşik heterozigot olabilir (aynı genin her bir allelinde farklı bir mutasyon), digenik mutasyon (iki farklı gende mutasyon) veya heterozigot mutasyon (monoallelizm) gösterebilir(90–94).

Pediyatrik popülasyonda yapılan retrospektif bir çalışmada, PRF1 mutasyonuna sahip hastalarda, STX11 mutasyonuna sahip olanlara göre daha erken başlangıç yaşı ve daha şiddetli klinik tespit edilmiştir(95).

Birleşik heterozigot mutasyon görülen hastalarda geç başlangıçlı HLH izlenmiştir(91,92,96–98). Perforin geninde birleşik heterozigot “missense” mutasyon olduğu durumlarda, aktif perforin kısmen kodlanabilir; bu da HLH'nin geç başlangıçlı ve hafif klinik seyirli olmasına neden olur(99–101).

Heterozigot mutasyonların da HLH'ye katkıda bulunabileceğine dair artan kanıtlar vardır ve bunlar daha çok geç başlangıçlı HLH ile ilişkilendirilmiştir. Bu da HLH'nin sadece otozomal resesif kalıtımı olmadığını düşündürmektedir(85,102–105). Heterozigot mutasyonlarda protein ekspresyonu kısmen azaldığından bu varyantlar tek başına hastalık fenotipini başlatmak için yeterli olmayabilir. Ek tanımlanmamış genetik kusurlar veya çevresel faktörler (enfeksiyon, malignite, otoimmünite gibi) HLH gelişimine katkıda bulunabilir(13,14,101,106).

Hemofagositik lenfohistiyositoz şüpheli 2701 çocuk hastanın dahil edildiği retrospektif bir çalışmada, digenik kalıtımın HLH gelişimi üzerindeki etkisi incelenmiş; digenik mutasyonlu hastalarda, heterozigot mutasyonlu hastalara göre daha erken başlangıç yaşı izlenmiştir(107).

Yetişkin bireyler arasında yapılan (yaş aralığı 18-75 yaş) ve hastaların %14'ünde gen mutasyonu tespit edilen bir çalışmada, mutasyonların proteinin tamamen kaybolmasından çok, protein fonksiyonunda kısmi kusurlara neden olma (hipomorfik mutasyon) eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. Bu kısmi işlev kaybı, geç başlangıçlı HLH'yi açıklayabilir. Hipomorfik genetik defekt taşıyan ailesel HLH'li hastalarda, rezidüel NK ve T hücre fonksiyonu azalmış olsa da, uzun yıllar klinik HLH gelişimini önlemede yeterli olabilir(13).

Tam ekzon dizileme kullanılan bir çalışmada da, makrofaj aktivasyon sendromu olan 14 juvenil idiyopatik artritis tanılı hastanın 5'inde, LYST, MUNC13-4 ve STXBP2'de heterozigot varyantları keşfedilmiştir(49).

Günümüzde, familial HLH genlerinin hedeflenen sekanslaması, çoğu HLH hastasında patojenik mekanizmaları tanımlamak için yetersiz görünmektedir ve tüm ekzon sekanslama (WES), HLH'li hastalarda altta yatan genetik kusurları araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. WES nedensel mutasyonların aralığını genişletmiş ve birçok ikincil HLH vakasını, birincil HLH olarak yeniden tanımlanmasını sağlamış; bunun tersine primer ve sekonder HLH arasındaki ayrımı bulanıklaştırmıştır. Bu durum, araştırmacıların HLH'yi, genetik yatkınlık ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimin klinik olarak anlamlı bir sitokin fırtına sendromu ile sonuçlandığı, bir eşik hastalığı olarak görmelerine yol açmıştır(108).

2.1.6. Klinik Bulgular

Hemofagositik lenfositosisin erken tanınması kritiktir. Çünkü hastalar hızlı bir şekilde dekompanse olabilir ve çoklu organ yetmezliğine hatta ölüme ilerleyebilir. HLH genellikle yüksek ve ısrarcı ateş, sitopeni, organomegali, lenfadenopati, merkezi sinir sistemi disfonksiyonu, karaciğer disfonksiyonu ve koagülopati ile karakterize multisistemik bir seyir gösterir. Hastalar sinsice veya şok benzeri bir klinik senaryoya ilerleyen, hızlı başlayan kritik bir hastalık durumuyla gelebilirler(26).

Hepatobiliyer tutulum: Hepatobiliyer tutulumda; sarılık, kolestaz, hepatosplenomegali, karaciğer enzimlerinde artış ve koagülopati görülür. Karaciğer

hasarı ve disfonksiyonu yaygındır ve şiddetli hastalıkta koagülopati [(kanama, peteşi, ekimoz, purpura ve dissemine intravasküler koagülasyon (DİK)] ile ilişkilidir. HLH'deki koagülopati, muhtemelen koagülasyon faktörlerinin (FII, FV, FVII, FIX, FX) zamanla karaciğerde sentezinin azalması sonucu gelişir. Hepatik bulgularla başvuran hastalara, çoğunlukla eşlik eden koagulopatileri nedeniyle tanı amaçlı karaciğer biyopsisi rutin olarak yapılamasa da, portal alanlarda inflamasyon ve lenfositik infiltrasyon biyopsi yapılan hastaların %80-90'ında görülmektedir. Kupfer hücrelerinin sayısında ve boyutlarında artış %90 hastada tespit edilirken; hemafagositoz biyopsi örneklerinin %11-14'ünde gösterilmiştir(109).

Yenidoğan döneminde HLH, neonatal hemokromatozisi taklit ederek tanı gecikmesine neden olabilir(110). Erken başlangıçlı karaciğer yetmezliğinin yakın tarihli bir retrospektif analizinde, neonatal başlangıçlı HLH, çalışılan hastaların %9,5'ini oluşturmuştur(111).

Santral sinir sistemi (SSS) tutulumu: Genel olarak SSS hastalığı, tüm HLH hastalarının %30-73'ünde, hastalığın başlangıcında veya hastalığın seyri sırasında bildirilmiştir(112). Bunlar; nöbet, irritabilite, ense sertliği ile birlikte menenjit semptomları, opistotonus, fontanelde bombelik, ataksi, kraniyal sinir tutulumu, spastisite, hemiparezi, hemipleji, psikomotor retardasyon, nistagmus ve baş ağrısı, bulantı/kusma, papil ödem, letarjiden komaya kadar değişen bilinç düzeyinde değişiklik gibi kafa içi basınç artışı sendromu (KİBAS) bulguları olmak üzere geniş bir spektrumda görülebilmektedir(113–119). Bu bulgular klinik tabloyu ağırlaştırabilir veya diğer belirti ve semptomların ortaya çıkmasından önce gelişebilir(115,116). Hatta izole SSS invazyonu da görülebilir(117,120). HLH'li hastalar, baş ağrısı, bilinç değişikliği, görme bozuklukları ve/veya nöbetlerle kendini gösteren posterior geri dönüşümlü ensefalopati sendromu (PRES) geliştirme riski altındadır(121).

Kraniyal manyetik rezonans görüntülemenin (MRG) anormal bulguları arasında; yaygın beyaz cevher sinyal değişiklikleri, serebral hacim kaybı, intraserebral kalsifikasyon, ventrikül genişlemesi ve ödem bulunur. Beyin omurilik sıvısı (BOS) bulguları ise arasında pleositoz ve artmış BOS proteini vardır(113–115).

SSS tutulumu, HLH'de kötü prognozla, yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilidir(119).

Cilt tutulumu: Kutanöz belirtiler çeşitlidir ve literatürde değişen sıklıklarda bildirilmiştir. Makülopapüler döküntüler, morbiliform erupsiyon, purpura, peteşi, konjonktivit, mukozal erozyonlar, piyoderma gangrenozum, pannikülit, Steven Johnson Sendromu, atipik targetoid lezyonlar, büllöz lezyonlar bildirilen cilt lezyonlarıdır(122). HLH nedenli kemoterapi almış bir hastada, cilt reaksiyonları yeniden nüksettiğinde HLH reaktivasyonu düşünülmelidir(123). Cilt biyopsisinde hemofagositozun gösterildiği vakalar literatürde nadirdir(124). Yenidoğan döneminde de belirgin cilt tutulumu ile başvuran vakalar bildirilmiştir(125–127).

Böbrek tutulumu: Böbrek tutulumunda; sıklıkla akut tübüler nekroz, daha az olarak nefrotik sendrom ve glomeruler lezyonlar görülebilir. HLH'de akut renal yetmezliğin patofizyolojisi, akut tübüler nekroz ve/veya glomerülerdeki masif kollapsa bağlı, glomerüler filtrasyonda azalma ile açıklanmaktadır. Renal yetmezlik bulgularından sadece makrofaj infiltrasyonu sorumlu olmayıp, makrofaj infiltrasyonu olmaksızın proinflamatuvar sitokin yükünün de akut renal hasardan sorumlu olabileceği bildirilmektedir(128). Literatürde bildirilen vakalar daha çok yetişkin hastalardır(129,130). 2003 yılında 25 HLH'li çocuk üzerinde yapılan bir araştırmada, 7 hastada böbreklerde genişleme, 5 hastada ultrasonografide böbrekte ekojenite artışı tespit edilmiş; ölen hastalardan postmortem yapılan biyopsilerde iskemik-nekrotik değişiklikler, interstisyel nefrit, lenfosittik infiltrasyon ve hemofagositoz gösterilmiştir(131).

Pulmoner tutulum: Çocuklarda nadir bildirilmiştir, sıklıkla interstisyel infiltrasyon şeklinde görülür. Plevral effüzyon, atelektaziler de izlenebilir. Genellikle izole organ tutulumu olarak kalmayıp sistemik bulguların kısa sürede tabloya eşlik etmesiyle sonuçlanmaktadır(131–133).

Tipik sunum belirti ve semptomlarına ek olarak, bazı HLH gen mutasyonları farklı klinik özelliklerle ilişkilidir. STXBP2 mutasyonları olan 37 hastanın gözden geçirildiği bir çalışmada; sırasıyla %59, %38, %22, %16 hastada

hipogamaglobulinemi, şiddetli ishal, kanama ve sensörinöral işitme kaybı bildirmiştir(89).

2.1.7. Laboratuvar Bulguları

Sitopeni: HLH'de sitopeni, makrofajlardan salgılanan IFN- γ 'nın kemik iliğini baskılaması sonucu gelişir(84). Sitopeniler, özellikle anemi ve trombositopeni, başvuru sırasında hastaların %80'inden fazlasında görülür(61,134–136).

Serum ferritin seviyesi: Makrofajlar, HLH'de çok yüksek ferritin seviyelerinden sorumlu birincil ferritin kaynağıdır. HLH'de klasik olmayan yollarla, makrofajlardan ferritin salgılandığı gösterilmiştir(137). Demir homeostazının modülasyonundan sorumlu bir protein olan , growth diferansiyasyon faktörü 15, HLH'li hastalarda dramatik bir şekilde artmış olduğu gözlenmiştir. Ferroportin aracılı demir akışını artırarak serum ferritininin artışından sorumlu tutulmuştur(138).

Hemofagositik lenfositiosizde çok yüksek serum ferritin düzeyleri görülür ve özellikle çocuklarda yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. HLH-94 çalışmasında 500, 5000 ve 10.000 ng/mL'den yüksek ferritin seviyeleri sırasıyla %93, %42 ve %25 hastada gözlenmiş; medyan ferritin seviyesi 2950 ng/mL bulunmuştur(135). 10.000 ng/mL'nin üzerindeki ferritin seviyesi HLH için %90 duyarlı ve %96 spesifiktir(139). Ferritin ayrıca hastalık aktivitesini ve tedavi başarısını izlemek için mükemmel bir izleme aracıdır(140).

Kullanılan eşik değerine bağlı olarak, hiperferritineminin iyi bir negatif öngörü değeri vardır(141). Ferritin $\geq$ 500 ng/mL duyarlı olabilirken, HLH için spesifik değildir ve diğer birçok inflamatuvar ve inflamatuvar olmayan durumda görülebilir(141).

Yenidoğanlarda, aşırı yüksek ferritin düzeylerinin diğer potansiyel nedenleri de göz önüne alınmalıdır. Örnek olarak, 10.000 ng/mL'nin üzerindeki ferritin seviyeleri neonatal hemokromatozda veya fulminan karaciğer yetmezliğinde görülebilir(110,142).

Çok yüksek bir ferritin seviyesi HLH olasılığını düşündürmede yardımcı olurken, düşük bir ferritin (örneğin, ferritin<500 ng/mL) HLH olasılığını dışlamaz. HLH genetik sendromlarında, nispeten normal bir ferritin bazen hastalık alevlenmesi sırasında bile izlenebilir ve bazı hastalarda hastalık aktivitesi, ferritinden daha çok, yüksek sIL-2R veya sCD25 ile daha yakından ilişkili olabilir(143).

Karaciğer fonksiyonu ve pıhtılaşma anormallikleri: Hemen hemen tüm HLH hastalarında, karaciğer enzimleri (AST, ALT, GGT), laktat dehidrojenaz (LDH) ve bilirubin dahil olmak üzere, yüksek karaciğer fonksiyon testleri ile kendini gösteren hepatit tablosu gözlenir. Hepatik disfonksiyon ve DİK'in neden olduğu trigliserit yüksekliği ve anormal koagülasyon parametreleri, özellikle yüksek D-dimer de sıklıkla görülmektedir. Pediatrik popülasyonda yapılan bir çalışmada; HLH'li hastaların %50-90'ında, üst sınırın üç katından daha yüksek karaciğer enzim seviyeleri bildirilmiş, LDH yüksekliği %85 hastada izlenmiştir(61).

Safra yolları infiltrasyonu nedeniyle bilirubin ve GGT seviyelerinde yükselmeler gözlenebilir(136,144).

Hipertrigliseridemi, TNF- α 'nın lipoprotein lipaz enzimini inhibe etmesine bağlı gelişir. Hipertrigliseridemi, şiddetli karaciğer tutulumuna bağlı olabilir, ancak karaciğer etkilenene kadar bir süre yükselmeyebilir(145).

Hemofagositik lenfositosisinde hipofibrinojeneminin mekanizmaları arasında; DİK'e bağlı tüketim koagülopatisi, aktive makrofajlardan salgılanan plazminojen aktivatörünün plazmin seviyesini artırması, IFN- γ 'nın aktive makrofajlardan doku faktörü salınımı indükleyerek koagülasyonu tetiklemesi, aşırı fibrinojen tüketimi, aktive makrofajlardan salınan Mac-1 isimli proteine bağlanan fibrinojenin monositler içindeki lizozomlar tarafından parçalanması ve karaciğer disfonksiyonu gösterilebilir(146).

Diğer inflamatuvar belirteçler: sIL-2R düzeylerinde artış, HLH için hem tanısal hem de hastalık aktivasyonunu değerlendiren bir belirteçtir(73). Ne ferritin ne de sIL-2R yükselmemişse (sırası ile makrofaj ve T hücre aktivasyonunun temel göstergeleri), HLH tanısı sorgulanmalıdır(37).

Çözünebilir CD163 ve sCD25 seviyeleri de çocuklarda HLH tanısında, hastalık aktivasyonunu, tedaviye yanıtı değerlendirmede kullanılabilen biyobelirteçlerdir. Başlangıçta daha yüksek sIL-2R seviyeleri daha kötü prognoz ile ilişkilidir(147).

BOS bulguları: Santral sinir sistemi tutulumuna bağlı, BOS’da pleositoz ve BOS proteininde artış izlenir(113–115).

Bunların dışında akut inflamasyona bağlı olarak; hiponatremi, hipoalbuminemi de HLH’de izlenen laboratuvar değişikliklerindendir.

2.1.8. Radyografik Anormallikler

Akciğer grafisinde; genellikle enfeksiyon, kalp yetmezliği veya aşırı sıvı yüklenmesi gibi kesin bir neden olmaksızın, pulmoner infiltrasyon, plevral efüzyon, atelektazi izlenebilir(131).

Batın ultrasonunda; hepatosplenomegali, karaciğerde heterojen ekojenite artışı, safra kesesinde duvar kalınlaşması, böbreklerde genişleme ve kortikal ekojenite artışı, lenfadenopatiler izlenir(131).

Santral sinir sistemi görüntülemelerinden bilgisayarlı tomografide (BT); kalsifikasyon, serebral atrofi ve buna bağlı ventriküllerde ve ekstraaksiyal BOS mesafesinde genişleme, hidrosefali, ödem, hemoraji ve nekroz görülebilir(131).

Magnetik rezonans görüntülemelerde; serebral ve serebellar beyaz ve gri cevherde T2 ağırlıklı kesitlerde diffüz yamalı tarzda sinyal değişikliklikleri ve kontrastlanma artışı tipiktir. Bunun yanı sıra demyelinizasyon, ödem, gliosis, atrofi, parankimal hemoraji, iskemi-infarkt, bazal gangliyonarda tutulum, optik sinir tutulumu gibi bulgular da görülür(113–119).

2.1.9. Yenidoğan Döneminde HLH’ nin Klinik ve Laboratuvar Bulguları

Ailesel HLH'nin başlangıcı, vakaların %70-80'inde 1 yaşından öncedir ve hastaların %10-20'sinde neonatal dönemde semptomlar görülmektedir(63,148).

Literatüre baktığımızda; hidrops ve transaminaz yüksekliğinin, neonatal HLH'nin en yaygın bulguları olduğu görülmektedir(8,149–151).

Hemofagositik Lenfohistiyositoz Derneği'nin bulgularının aksine, HLH'li yenidoğanlarda, özellikle pretermelerde, hipotermi hipertermiden daha yaygın görülür(63,148).

Çok sayıda yayında belirtildiği gibi, HLH tanısı özellikle yenidoğanlarda yaygın olarak görülen diğer durumlarla sıkça karışabilir. Sepsis ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken ortak bir hastalıktır, çünkü hem sepsis hem de HLH multiorgan yetmezliği ile ortaya çıkabilir(16–21,144,152). Hepatosplenomegali, sarılık, generalize ödem, hidrops, asit, diyare, plevral efüzyon, solunum sıkıntısı, abdominal distansiyon, irritabilite, hipoaktivite, nöbet, eritem, makülopapüler döküntü bildiren klinik bulgular arasındadır(63,144,148,150,152–156).

Yenidoğan döneminde HLH, neonatal hemokromatozisi taklit ederek tanı gecikmesine neden olabilir(110). Erken başlangıçlı karaciğer yetmezliğinin bir retrospektif analizinde, neonatal HLH, çalışılan hastaların %9,5'ini oluşturmuştur(111).

Herhangi bir yaş grubundaki tüm HLH hastalarının, %65'inde dermatolojik bulgu görülür. Deri bulgularındaki farklılıklar, sıklıkla yaygın yenidoğan döküntülerini veya ekzantemleri taklit ederek geç tanı koyulmasına neden olabilir(125–127).

Sitopeni, hiperferritinemi, LDH yüksekliği, fibrinojen düşüklüğü, NK hücre aktivitesinde azalma, transaminaz yükseklikleri, hiponatremi yenidoğan dışındaki hastalara benzer oranla görülür(18). Trigliserit yüksekliği ve nötropeni yenidoğanlarda büyük çocuklara kıyasla daha az sıklıkla görülmektedir(63,148).

2.1.10. Hemofagositik Lenfohistiyositoz Tanı Kriterleri

Histiyosit topluluğu tarafından ilk kez 1994 yılında tanı kriterleri belirlenmiş; 2004 yılında bu kriterler yeniden düzenlenmiştir. HLH-1994 ve HLH-2004 kriterleri

tablo-III ve tablo-IV’de verilmiştir(149). 2009 yılında Filipovich tarafından tanı kriterleri yenilenmiştir(157). Yenilenen tanı kriterleri tablo-V’de gösterilmiştir.

Tablo-III: HLH-1994 Tanı Kriterleri

Klinik:

- Ateş
- Splenomegali

Laboratuvar:

- Sitopeni: En az 2 seri etkilenmeli (Hb<9 g/dl, BK<1000/ml, Plt<100.000/ml)
- Hipertrigliseridemi ve/veya hipofibrinojenemi

Histopatolojik:

- Kemik iliği, dalak ya da lenf nodunda hemofagositozun gösterilmesi

Malignite olmaması

Tablo-IV: HLH-2004 Tanı Kriterleri

1.HLH ile ilişkili moleküler tanı

2. HLH tanı kriterleri (8 kriterden 5’ini karşılamalıdır)

A.Başlangıç tanı kriterleri

Klinik kriterler

- 1.Ateş (>7 gün, >38.5°C)
- 2.Splenomegali

Laboratuvar kriterleri

- 3.Sitopeni (periferik kandaki üç seriden iki veya daha fazlasının etkilenmesi)
Hemoglobin <9gr/dL (4 haftadan küçük bebeklerde: hb <10g/dL)
Trombosit (<100x10⁹/L)
Nötrofil (<1.0x10⁹/L)
- 4.Hipertrigliseridemi ve/veya hipofibrinojenemi (Açlık trigliserit düzeyi ≥3 mmol/L veya ≥265mg/dL, Fibrinojen≤1.5gr/L)

Histopatolojik kriterler

- 5.Kemik iliği, dalak veya lenf nodlarında hemofagositoz olması
(malign hastalıklar ekarte edilmelidir)

B. Yeni tanı kriterleri

- 6.NK hücre aktivitesinin düşük olması veya hiç olmaması
- 7.Ferritin≥500 ng/mL
- 8.Çözünür CD25 (çözünür IL2 reseptör) ≥2400U/MI

Tablo -V: HLH 2009 Yenilenmiş Tanı Kriterleri

- 1. Hemofagositik lenfhistiositoz moleküler tanısı (HLH veya XLP)**
- 2. veya 4 kriterden en az 3'ü:**
 - a. Ateş (>7 gün, >38.5°C)
 - b. Splenomegali
 - c. Sitopeni (en az 2 seride azalma)
 - Hemoglobin <9gr/dL (4 haftadan küçük bebeklerde: hb <10g/dL)
 - Trombosit (<100x10⁹/L)
 - Nötrofil (<1.0x10⁹/L)
 - d. Hepatit
- 3. ve 4 kriterden en az 1'i:**
 - a. Hemofagositoz
 - b. Ferritin yüksekliği(≥500µg/L)
 - c. sIL2Rα yüksekliği(≥2400U/MI)
 - d. NK fonksiyonunda azalma ya da tam kayıp
- 4. HLH tanısını destekleyen diğer bulgular:**
 - a. Hipertrigliseridemi (Açlık trigliserit düzeyi ≥3 mmol/L veya ≥265mg/dL)
 - b. Hipofibrinojenemi (≤1.5gr/L)
 - c. Hiponatremi

2.1.11. Patoloji

Hemofagositik lenfhistiositozda hemofagositik makrofajlar kemik iliği, lenf düğümleri, karaciğer, dalak, santral sinir sistemini invaze eder. HLH tanı kriterlerini karşılayan hastalarda biyopsilerin %43-95'inde hemofagositoz gösterilmiştir(1).

Kemik iliği değerlendirmesi: Sitopenilerin nedenini değerlendirmek ve/veya hemofagositozu saptamak için, hastalara kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisi yapılmalıdır ancak hemofagositozun gösterilmesi HLH için patognomik değildir. Lösemi, lenfoma, otoimmün hemolitik anemi, SLE, kan transfüzyonları, büyük cerrahi prosedürlerde iyileşme, enfeksiyon ve sepsis gibi birçok durum,

hemofagositik histiositlerde önemli bir artışa neden olabilir(18,158). 2012-2018 yılları arasında Hindistan’da 53 HLH hastası çocuğun dahil olduğu araştırmada; %66 hastada kemik iliğinde hemofagositoz gösterilmiştir(159).

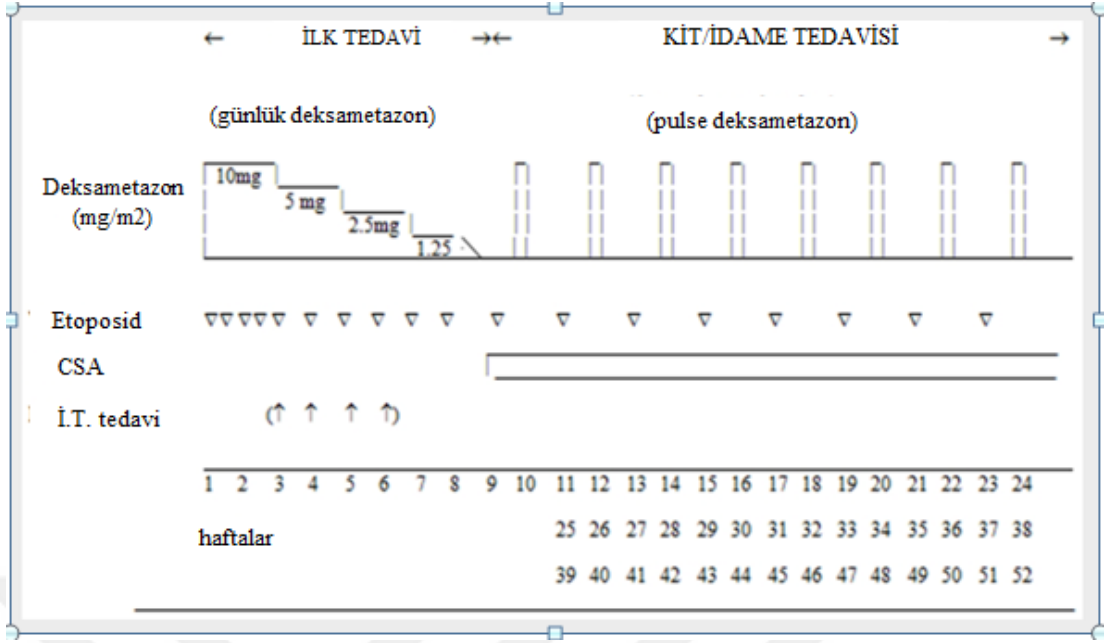
Hemofagositik lenfohistiyositozda kemik iliği hücreliliği yüksek, düşük veya normal olabilir(62). Hastalığın erken döneminde kemik iliğinde hemofagositozun görülme sıklığı daha azken, tekrarlayan kemik iliği aspirasyonlarında sıklıkla hemofagositoz gözlenir.

2.1.12. Familyal Hemofagositik Lenfohistiyositozun Tedavisi

Hemofagositik lenfohistiyositoz tedavisi, hastalığın altında yatan nedene, tetikleyici faktörlere ve hastalığın ciddiyetine bağlıdır. Acil hedefler; enflamasyonu ve tetikleyici faktörleri kontrol altına almaktır. HLH tedavisi, hastalık farkedilir farkedilmez, önce malignite (kemik iliği, lenf nodu, doku biyopsisi, vb.) dışlanarak başlanmalıdır. Hemofagositoz değerlendirmesi ve SSS tutulumu için evreleme, tedaviyi geciktirmemelidir(26).

Hemofagositik lenfohistiyositoz tedavisinin temel dayanakları; sitokin fırtınasını azaltmayı ve aktive T hücresi ve makrofajları ortadan kaldırmayı amaçlayan immünosupresif, kemoterapötik ve biyolojik ajanlardan oluşur(2).

Yaygın olarak kullanılan tedavi yaklaşımı; Histiyosit Topluluğu HLH-1994 ve HLH-2004 çalışmalarının deneyimlerine dayanan deksametazon, etoposid ve siklosporin-A (CSA)’dan oluşur (Şekil-2, Şekil-3). 2004 yılında yapılan başlıca modifikasyonlar, siklosporini daha erken kullanmak (yani tedavinin indüksiyon fazı sırasında) ve intratekal metotreksata hidrokortizon eklemektir(149).



Şekil-II: HLH-94 kemoterapi protokolü

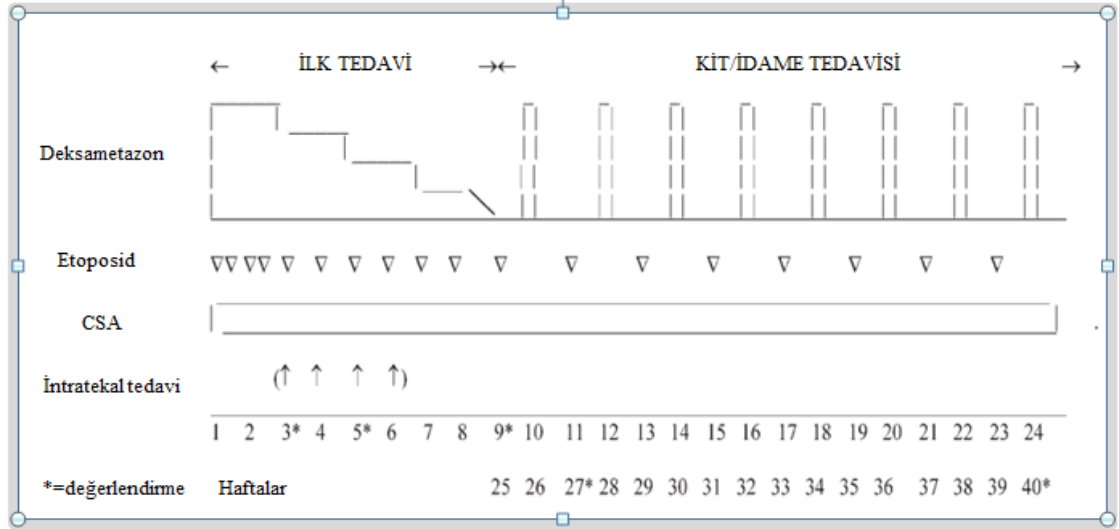
*Deksametazon: Deksametazon 10 mg/m² 2 hafta, ardından 5 mg/m² 2 hafta, ardından 2,5 mg/ m² 2 hafta, ardından 1,25 mg/ m² 1 hafta. Sonrasında 1 hafta içinde azaltılarak kesilir. İdame olarak 10. haftadan itibaren; 2 haftada bir, 3 gün boyunca 10 mg/m² pulse deksametazon tedavisi verilir.

*Etoposid: İlk 2 hafta haftada 2 gün 150 mg/ m², 3 ve 9. Haftalar arasında haftada bir gün 150 mg/ m², idame olarak 11. Haftadan itibaren, 2 haftada bir tek gün 150 mg/ m² verilir .

*CSA: Siklosporin A. 2x3 mg/kg dozu ile 9. haftadan itibaren başlanır, 200 ng/ml serum düzeyi hedeflenecek şekilde doz düzenlenir.

*İ.T tedavi: İntratekal metotreksat. Progressif nörolojik semptomları olan ve/veya anormal BOS bulgusu olan hastalarda 3., 4., 5. ve 6. Haftalarda uygulanır. 1 yaştan altında 6 mg, 1-2 yaşta 8 mg, 2-3 yaşta 10 mg, 3 yaştan üzerinde 10 mg verilir

*Destekleyici tedavi: Profilaktik kotrimoksazol 5 mg/kg haftada 2-3 gün, 1-9. haftalarda oral antifungal, her 4 haftada bir 0,5 gr/kg İVİG (başlangıç ve idame tedavisi sırasında)



Şekil-III: HLH 2004 kemoterapi protokolü

*Deksametazon: Deksametazon 10 mg/m² 2 hafta, ardından 5 mg/m² 2 hafta, ardından 2,5 mg/m² 2 hafta, ardından 1,25 mg/m² 1 hafta. Sonrasında 1 hafta içinde azaltılarak kesilir. İdame olarak 10. haftadan itibaren; 2 haftada bir, 3 gün boyunca 10 mg/m² pulse deksametazon tedavisi verilir.

*Etoposid: İlk 2 hafta haftada 2 gün 150 mg/m², 3 ve 9. Haftalar arasında haftada bir gün 150 mg/m², idame olarak 11. Haftadan itibaren, 2 haftada bir tek gün 150 mg/m² verilir .

*CSA: Siklosporin A. 2x3 mg/kg dozu ile 1. haftadan itibaren başlanır, 200 ng/ml serum düzeyi hedeflenecek şekilde doz düzenlenir.

*İ.T tedavi: İntratekal metotreksat ve hidrokortizon. Progressif nörolojik semptomları olan ve/veya anormal BOS bulgusu olan hastalarda 3., 4., 5. ve 6. haftalarda uygulanır. Metotreksat 1 yaştan altında 6 mg, 1-2 yaşta 8 mg, 2-3 yaşta 10 mg, 3 yaştan üzerinde 10 mg verilir. Hidrokortizon 1 yaştan altında 4mg, 1-2 yaşta 6 mg, 2-3 yaşta 8 mg, 3 yaş üzerinde 10 mg

**Destekleyici tedavi: Profilaktik kotrimoksazol 5 mg/kg haftada 2-3 gün, 1-9. haftalarda oral antifungal, her 4 haftada bir 0,5 gr/kg İVİG (başlangıç ve idame tedavisi sırasında)

Hastalık tedavisi, başlangıç ve devam tedavisi olmak üzere 2 basamaktan oluşur. Hastalığın başlangıç tedavisi ilk sekiz haftalık dönemi kapsar ve tedavi ajanı olarak etoposid, CSA, steroid, intravenöz immünoglobulini (İVİG) kullanılır. Bunlara ilaveten, SSS tutulumu olan olgularda intratekal deksametazon (kan-beyin bariyerini geçen steroid formu olduğu için tercih edilir) ve metotreksat tedavi rejimlerine eklenmektedir. İntratekal tedavi maksimum dört haftaya kadar devam

edilmelidir(149). Histiosit Derneğinin yakın zamanlı bir raporuna göre; hastaların yaklaşık yarısının steroid ve etoposid tedavisi ile tam yanıt alması beklenmektedir(134,160).

Etoposid; topoizomeraz 2 enzimi ile kompleks oluşturarak, makrofaj aktivasyonuna neden olan aktive T lenfositlerin baskılanmasını sağlar. Etoposid kullanımında kreatinin klirensi veya karaciğer fonksiyonlarına göre doz düzenlenmesi yapılmalıdır. Tedaviye sekonder olarak malignite riskinin artmış olmasından dolayı, etoposid tanının kesin olduğu HLH hastalarında tercih edilmelidir(135).

Siklosporin A; kalsinörin inhibisyonu yaparak T lenfositlerden IL-2 üretimini durdurur ve T hücrelerinin aktivasyonunu ve sitokin sentezini engelleyerek etki gösterir(161). Siklosporin kullanımı PRES ile ilişkilendirilmiştir. Siklosporin tedavisi alan hastalar bu açıdan da takip edilmelidir(162).

Fransa'da yapılan bir çalışmada; steroid, antitimosit globulin ve CSA'dan oluşan kemoterapi koruyucu bir yaklaşımın, %70 oranında remisyona sağladığı tespit edilmiştir(163).

Destekleyen veriler yetersiz olsa da HLH tedavisi sırasında inflamasyonu azaltmak için; İVİG, terapötik plazma değişimi, anakinra kullanımı uygulayan merkezler vardır(2,164,165). Rituximab, EBV-HLH tedavisinde yardımcı olabilir(166,167).

Hemofagositik lenfhistiyositoz tedavisi ile ilgili klinik çalışmalarda veya planlama aşamasında birkaç ajan bulunmaktadır. Seçenekler arttıkça, hastaların altta yatan etyolojilerine, hastalık şiddetine ve farmakogenomiklerine göre daha kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları beklenmektedir. Bununla birlikte ileriye dönük çalışma sonuçlarının olmaması, şu anda kişiselleştirilmiş planların oluşturulmasını zorlaştırmaktadır.

2.1.12.1. Refrakter veya Dirençli HLH Tedavisi

Tekrarlayan ya da inatçı HLH'li hastalar için; etoposid+steroid, alemtuzumab ya da emapalumab (IFN- γ inhibe edici monoklonal antikor) +deksametazon ile

tedavi önerilmektedir. Bu öneri, alternatif yaklaşımlara kıyasla emapalumab ile tedavinin tedaviye yanıt ve toksisite dengesinin daha iyi olması temeline dayanmaktadır.

Alemtuzumab: Bir monoklonal anti-CD52 antikoru olan Alemtuzumab tedavisi ile ilgili bazı deneyimler vardır(168,169). Yapılan bir çalışmada; refrakter HLH tanılı 22 çocukta hematopoetik kök hücre nakline (HKHN) kadar alemtuzumab tedavisi uygulanmış ve hastaların %77'si HKHN'ye kadar sağ kalım göstermiştir. Aynı çalışmada; refrakter HLH'nin alemtuzumab ile tedavisinin kabul edilebilir bir komplikasyon oranıyla, çoğu hastada HKHN'ye kadar iyileşme ve sağkalım ile sonuçlandığı tespit edilmiştir(169). Sitomegalovirüs ve adenovirüsten kaynaklanan viremi, bu tedavinin komplikasyonu olarak görülebilmektedir(170).

Emapalumab: Bir anti-IFN- γ antikoru olan emapalumab'ın FHL'de kullanımı ile ilgili artan çalışmalar vardır(171–175). Emapalumab; HKHN yapılacak hastalarda, sitokin deşarjını baskılayarak hastaları remisyona sokar ve hastalarda HKHN için bir köprü tedavisi görevi görür. Refrakter, tekrarlayan, kemoterapiye rağmen ilerleyen HLH ve kemoterapiye intoleransı olan hastalar için Kasım 2018 de FDA onayı almıştır(171). Ülkemizde de kullanım onayı almıştır.

Yirmi sekiz primer HLH'li çocuğun uzun dönem takibinin yapıldığı bir çalışmada, emapalumab tedavisine yanıt oranı %63 idi. (HLH-94/2004 çalışmalarında sırasıyla %59 ve %51 yanıt olduğu görülmüştü). Hastaların en az %20'sinde meydana gelen en yaygın yan etkiler olarak; enfeksiyon, hipertansiyon, infüzyon kaynaklı yan etkiler ve ateş gözlenmiştir(172). HLH-94 protokolünün başarısız olduğu EBV-HLH'li bir bebekte, şiddetli enfeksiyonlara rağmen emapalumab ile remisyon sağlanmıştır(175).

Ruksolitinib: Bir JAK-STAT yolu inhibitörü olan ruxolitinib ile ilgili çalışmalar da devam etmektedir. Ruksolitinib; IFN- γ , IL-2 IL-6, IL-10, IL-12 ve GM-CSF gibi HLH ile ilişkili sitokinlerin aşağı akışında işlev gören, JAK1 ve JAK2'yi inhibe eder. Çocuklarda yapılan çalışmalarda, ruksolitinibin dirençli ve sekonder HLH'de etkili bir kurtarma tedavisi olduğu gösterilmiştir ve diğer

kemoterapilerle kombine edilmesi düşünülmüştür(176–179). Çocuklarda FHL’de, HKHN’ye kadar başarılı bir remisyon sağladığı gösterilmiştir(180).

2.1.12.2. Hematopoetik Kök Hücre Nakli

Allojenik hematopoetik kök hücre nakli, primer HLH’de bilinen tek küratif tedavidir. PRF1, UNC13D, STX11, STXBP2, RAB27A, LYST ve SH2D1A’da patolojik varyantları olan hastalar ve XIAP eksikliği olan bazı hastalar dahil olmak üzere, uygun bir donör mevcutsa, primer HLH’li birçok pediyatrik hastada endikedir(2).

Allojenik HKHN için hazırlık, tanı anında hemen başlatılmalıdır. HLA tiplemesi belirlenmeli, uygun bir donör aranmalıdır. Tanı anında genetik çalışmalar da gönderilmelidir. HLH gen mutasyonu için heterozigotluk veya homozigotluk nedeniyle kardeş donörde gizli bir yatkınlık veya tanı konmamış HLH olasılığı, donör seçim sürecine dahil edilmelidir(181).

Hemofagositik lenfhistiositoz 2004 çalışmasında, HKHN sonrası 5 yıllık ortalama sağ kalım %66 olarak bildirilmiştir. Ölüm oranı HLH-2004 ile tedavi edilen hastalarda, HLH-94 ile tedavi edilenlere göre daha azdı. Tam eşleşen akraba dışı donörlerle transplant sonrası beş yıllık ortalama sağ kalım %78 iken, tam eşleşen ve akraba olan donörden yapılan transplantta %64 idi. HLH 2004 çalışmasında nakil öncesi tam remisyonun faydalı olduğu ancak HKHN sonrası sağkalımı sağlamak için zorunlu olmadığı sonucu bildirilmiştir(182).

2.1.13. Prognoz

Hastalık, etkili tedavi ve destekleyici bakım olmaksızın genelde hızlı ve ölümcül seyreder. HKHN ve immünokemoterapinin birlikte kullanımıyla, HLH hastalarında sağ kalım önemli ölçüde artmıştır(135). HLH 2004 çalışmasında, HKHN sonrası beş yıllık ortalama sağ kalım %66 olarak bildirilmiştir(182). Sağ kalımda iyileşmeye rağmen, HLH hastalarında erken mortalite önemli ölçüde yüksektir. Ölümlerin yarısından fazlası, tanıdan sonraki 30 gün içinde meydana gelir(183).

Yapılan çalışmalarla çeşitli prognostik faktörler belirlenmiştir. Albumin düşüklüğü, LDH ve IL10 yüksekliği, hiperbilirubinemi, ciddi nötropeni(183), BOS pleositozu, trombositopeni(81,184), hiperferritinemi(81,139–141,184), tedavi ile ferritin seviyelerindeki düşüş oranı(185), tanı anında 2 yaşın altında olma, yüksek DİK skoru(81), hipofibrinojenemi(186), başvuru anında uzamış a-PTT(165,186) ocuklarda HLH ile ilgili belirlenen prognostik faktörlerdir.

2.2. Yenidoğan Sepsisi

2.2.1. Tanımlar

Kanıtlanmış sepsis: Klinik ve laboratuvar bulgularının sepsis ile uyumlu olduğu ve etkenin gösterildiği hastalar

Klinik sepsis: Klinik ve laboratuvar bulgularının sepsis ile uyumlu olduğu ancak etkenin gösterilemediği hastalar

şüpheli sepsis: Bir bebekte risk etmenleri bulunması (klinik bir belirti olsun olmasın) ya da izlemde sepsis düşündüren bulguların görölmesi

Erken başlangıçlı sepsis: Yaşamın ilk 3 gününde (<72 saat) saptanan sepsis

Geç başlangıçlı sepsis: Yaşamın 4-30. günlerinde tanı alan sepsis

Çok geç başlangıçlı sepsis: 30. günden taburcu olana kadar geçen sürede tanı alan sepsis(187).

2.2.2. Yenidoğan Sepsisinin Klinik Bulguları

Erken başlangıçlı sepsisin klinik belirti ve bulguları, çoğu bebekte ilk 24 saatte, %90'ında ilk 48 saat içinde ortaya çıkar. Erken başlangıçlı sepsiste genelde birden çok organ ya da sistem tutulumu görölürken, geç başlangıçlı sepsiste tutulum çok sistemli veya pnömoni, artrit, osteomyelit şeklinde tek odaklı olabilmektedir(188).

Solunum sistemi: Apne, inleme, takipne, burun kanadı solunumu, çekilme, siyanoz, emmeme solunum sistemi bulgularıdır.

Dolaşım sistemi: Taşıkardi ya da bradikardi, hipotansiyon, periferik dolaşım bozukluğu, kapiller geri dolum süresinde uzama dolaşım sistemi bulgularıdır.

Sindirim sistemi: Beslenme intoleransı, kusma, distansiyon, ishal, sarılık, hepatomegali, nekrotizan enterokolit (NEK) sindirim sisteminde görölen bulgularıdır.

Hematolojik sistem: Peteşi, purpura, sarılık, kanama, splenomegali hematolojik sistem tutulumuna bağlı görölen klinik bulgularıdır.

Cilt bulguları: Püstöl, apse, omfalit, kutis marmaratus, sklerema yenidoğan sepsisinin cilt bulgularıdır.

Merkezi sinir sistemi: Huzursuzluk, emmeme, hipoaktivite, uykuya eğilim, tonus azalması, nöbet ve ısı düzensizliği SSS bulgularıdır(187,189).

Ayırıcı tanıda; yenidoğanın geçici takipnesi, apne, mekonyum aspirasyonu, aspirasyon pnömonisi, respiratuvar distress sendromu (RDS), patent duktus arteriosus, NEK, hipoksik iskemik ensefalopati, ventriköl içi kanama, konjenital kalp hastalıkları, hipoglisemi, hipokalsemi gibi metabolik sorunlar, HLH ve doğumsal metabolik hastalıklar gibi yenidoğan dönemine özğü sorunlar düşünölmelidir(187,189).

2.2.3. Yenidoğan Sepsisinde Laboratuvar Bulguları

Kan költürü, BOS költürü, idrar költürü, trakeal aspirat költüründe üreme olması

Beyaz küre sayımı: Beyaz küre sayısının sepsis için pozitif belirleyici değeri çok düşöktür. Kanıtlanmış sepsis vakalarının %50'sinde beyaz küre sayısı normal aralıktadır(190). İlk 24 saatte nötrofil sayısı $6.000-30.000/\text{mm}^3$ arasındayken daha sonra $5.000-20.000/\text{mm}^3$ civarına düşer. Nötropeni varlığı, sepsis için nötrofiliden daha değerlidir(187). İmmatür nötrofil sayısının total nötrofil sayısına oranı (İ/T oranı) yenidoğan sepsisinde en duyarlı göstergedir. İ/T oranı doğumda 0,16 iken 60. saatte 0,12'ye düşer; $>0,2$ olması sepsis için anlamlıdır(191).

Trombosit sayımı: Trombositopeni yenidoğanlarda sepsisin özgül olmayan geç bulgusudur. Bakteriyel enfeksiyonu olan yenidoğanların %50'sinde trombosit sayısı $100.000/\text{mm}^3$ 'ün altındadır(192).

C-reaktif protein (CRP): Enfeksiyon başlangıcından 4-18 saat sonra ölçülebilir düzeye erişir ve 8-60 saatte pik yapar. Yarılanma ömrü 24-48 saattir. Tedavi yanıtında 5-10 günde normale iner ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde kullanılır. Yenidoğan döneminde normal konsantrasyonu 1 mg/dl'nin altındadır. Annede ateş, zor doğum, erken membran rüptürü, perinatal asfiksi, geçirilmiş cerrahi operasyonlar, steroid kullanımı gibi durumlarda da yükselebilir. 12-24 saat aralıklı ölçümlerde CRP'de artış gözlenmesi, sepsis tanısında yardımcıdır(193).

Prokalsitonin (PCT): Postnatal 24. saatte pik değerine ulaşır (ortalama 1,5-2,5 ng/ml), 48-72. saatte 0,5 ng/ml'nin altına düşer. Bakteriyel endotoksin ile karşılaşma sonrası 2-4 saat içinde yükselmeye başlar, 6-8. saatte pik yapar ve en az 24 saat aynı düzeyde kalır. Doğum sonrası artması, preeklampsi, koriyoamniyonit, kafa içi kanama, hipoksi, doğum asfiksisinde artabilmesi tanısal kullanımını sınırlamaktadır(194).

İnterlökin-6 (IL-6): Bakteriyel yapılarla karşılaştıktan sonra hızla, CRP'den önce yükselir, antibiyotik tedavisi sonrası inflamatuvar cevap azaldıkça hızla, genellikle 24 saatte normale döner. Negatif öngörüşel doğruluğu yüksektir. Eşik değeri, 10-500 pg/ml aralığındadır(195). IL-6 dışında IL-8, TNF- α ve sCD163 düzeylerinin de yenidoğan sepsislerinde yükseldiği tespit edilmiştir(196).

Hematolojik skorlama sistemi (Rodwell skorlaması) neonatal sepsisin erken teşhisinde bir tarama testi olarak kullanılabilen basit ve hızlı bir tanı metodudur(197)(Tablo-VI).

Tablo-VI: Rodwell Skorlama Sistemi

KRİTER	ANORMALLİK	SKOR
1. Total lökosit sayısı	<5.000/mm ³	1
	>25.000/mm ³ doğumda	1
	>30.000/mm ³ 12-24.sa	1
	>21.000/mm ³ 2. günden sonra	1
2. Total nötrofil sayısı	1.800-5.400/mm ³	0
	Matür nötrofil görülmemesi	2
	Artma/azalma	1
3. İmmatür nötrofil sayısı	600/mL	0
	>600/mL (artmış)	1
4. İmmatür/total nötrofil oranı	Azalmış	0
	Artmış	1
5. İmmatür/matür nötrofil oranı	<0,3	0
	≥0,3 (artmış)	1
6. Nötrofillerde değişiklikler	Toksik granülasyon, vakuolizasyon, döhle cisimcikleri	1
7. Platelet sayısı	≤150.000/mm ³	1

*Skor ≤ 2: Sepsis olası değil

*Skor 3 veya 4: Olası sepsis

*Skor ≥ 5: Büyük ihtimalle sepsis

Hemofagositik lenfohistiyositoz tanısı, özellikle yenidoğanlarda yaygın olarak görülen diğer durumlarla karışabilir. Sepsis ayırıcı tanıda mutlaka düşünülmesi gereken bir hastalıktır, çünkü hem sepsis hem de HLH, multi organ yetmezliği ile ortaya çıkabilir(16–21,144,152). HLH, yenidoğan döneminde sepsis benzeri klinik ve laboratuvar bulguları gösterdiğinden, HLH tanısı koymada güçlük ve tanının gözden kaçırılmasına neden olabilir. Yenidoğan sepsisi ve HLH'nin ortak klinik ve laboratuvar bulguları tablo-VII' de verilmiştir(18,198).

Tablo-VII: Neonatal sepsis ve HLH'nin ortak klinik ve laboratuvar bulguları

Klinik	Laboratuvar
-Hipotermi -Hipotermi -Ateş	-Sitopeni (Özellikle trombositopeni ve nötropeni)
-Hepatosplenomegali -Sarılık -Abdominal distansiyon -Beslenme intoleransı -Kusma, ishal	-Transaminaz yüksekliği -Bilirubin yüksekliği -Kolestaz
-Solunum sıkıntısı -Apne	-Hiperferritinemi -CRP, IL-6, IL-8, TNF- α ve sCD163 yüksekliği
-Hipoaktivite, emmeme -İrritabilite, huzursuzluk -Uykuya meyil -Hipotoni -Konvülsiyon	-BOS pleositozu -BOS proteininde artış (yenidoğan menenjitlerinde)
-Peteşi, purpura -Kanama -Cutis marmoratus	

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Yeri ve Zamanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde Temmuz 2019-Haziran 2021 tarihleri arasında, sepsis tanısı ile yatan, belirlenen kriterleri sağlayan yirmi iki yenidoğan hastada, familial hemofagositik sendromla ilişkili mutasyon taraması yapılmıştır.

3.2. Araştırma Evreni

Araştırmanın evrenini, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde ilgili tarihler arasında yenidoğan sepsisi tanısı alan hastalardan, aşağıda belirtilen üç kriterden en az ikisini sağlayan hastalar oluşturmuştur. Yenidoğan sepsisi tanısı koyarken, sepsisin klinik ve laboratuvar bulgularının yanı sıra hematolojik bir skorlama sistemi olan Rodwell skorlaması da kullanılmıştır.

Bu kriterler;

- 1.Yenidoğan sepsisi tanısı olması ve
2. Aşağıdaki 3 kriterden en az 2'si olması
 - a. Akraba evliliği ve/veya kardeş ölüm öyküsü
 - b.Ferritin düzeyi >500 ng/mL olması
 - c.Hepatosplenomegali olması

3.3. Çalışma Grubunda İncelenen Parametreler

Yenidoğan sepsisi tanısı; hastaların klinik, fizik muayene, laboratuvar bulguları ve Rodwell skorlamasına göre koyuldu. Yenidoğan sepsisi tanısı alan hastalarda; ek durum ve hastalıklar, cinsiyet, gebelik haftası, akraba evliliği öyküsü, kardeş ölüm öyküsü, antropometrik ölçümler, fizik muayene bulguları (hepatosplenomegali varlığı), tam kan sayımı parametreleri, serum ferritin düzeyi, periferik yayma, Rodwell skorlaması, PRF-1, UNC13D, STX11 ve STXBP2 gen mutasyonları çalışma kapsamına alındı.

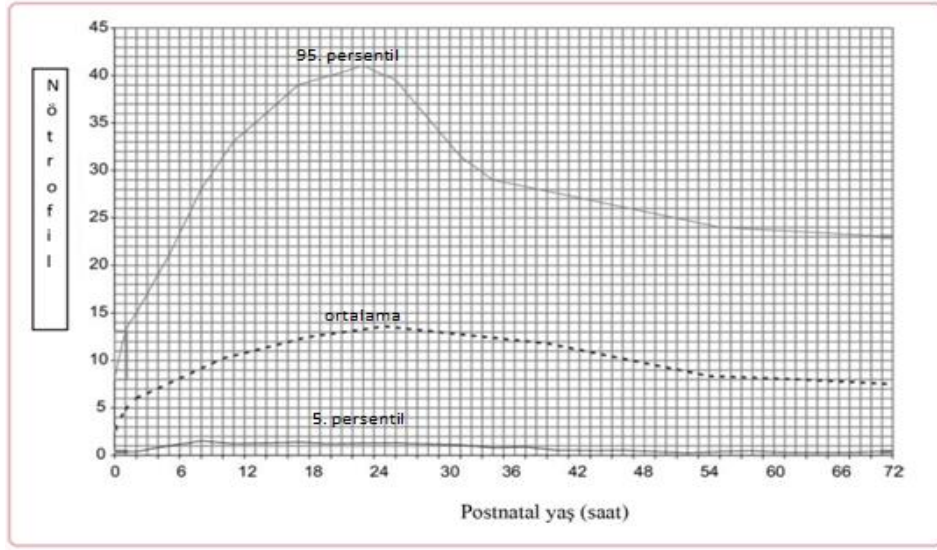
Tam kan sayımında; hemoglobin değeri, total lökosit, total nötrofil sayısı, trombosit sayısı değerlendirildi. Normal aralıklar için hastaların gestasyonel haftaları, doğum ağırlıkları, postnatal günleri göz önüne alındı. Değerlendirmede Türk Neonatoloji Derneği'nin kabul ettiği normal aralıklar esas alındı(199,200). Yenidoğanlarda postnatal gün ve gestasyonel yaşa göre normal hemoglobin değerleri tablo-VIII'de gösterilmiştir(200).

Tablo-VIII: Yenidoğanlar için normal hemoglobin değerleri

	Hemoglobin konsantrasyonu (g/dL)(ort±SD)		
Yaş	Prematüre*		Term
	1.0-1.5 kg	1.5-2.0 kg	
2. hafta	16.3 (11.7)	14.8 (11.8)	16.5 (12.5)
1. ay	10.9 (8.7)	11.5 (8.2)	14.0 (10.0)
2.ay	8.8 (7.1)	9.4 (8.0)	11.5 (9.0)
3. ay	9.8 (8.9)	10.2 (9.3)	11.5 (9.5)

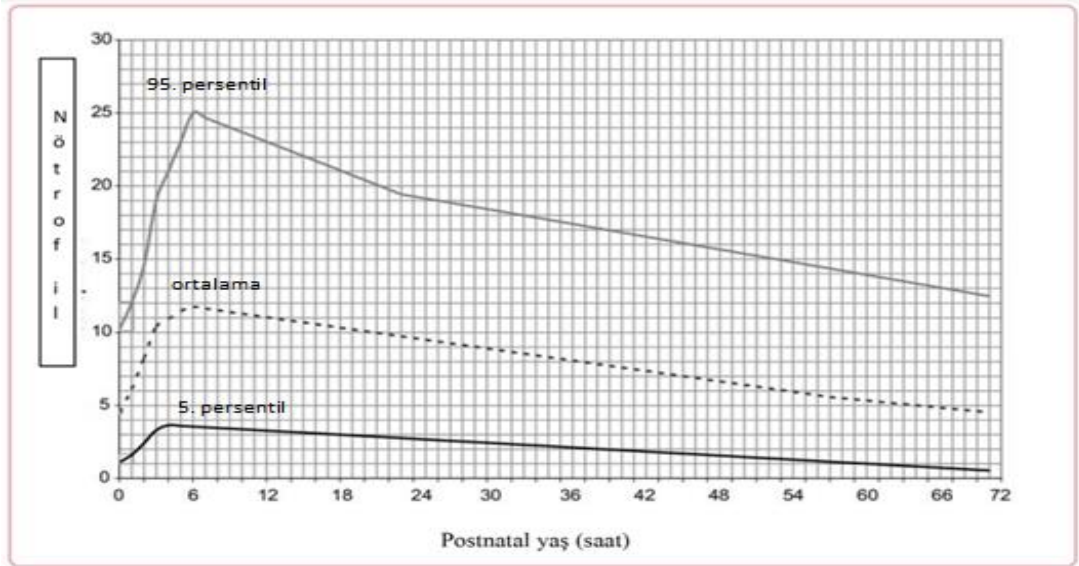
* <37 hafta prematür kabul edilmiştir, gestasyonel haftaya ve laboratuvara göre farklılık olabilir.

Yenidoğanlarda ilk 72 saatte normal beyaz küre sayısı; <28 hafta, 28-36 hafta, >36 hafta olmak üzere 3 grupta değerlendirilir. Gruplara göre normal beyaz küre sayıları şekil-IV, V, VI'da görülmektedir(199).



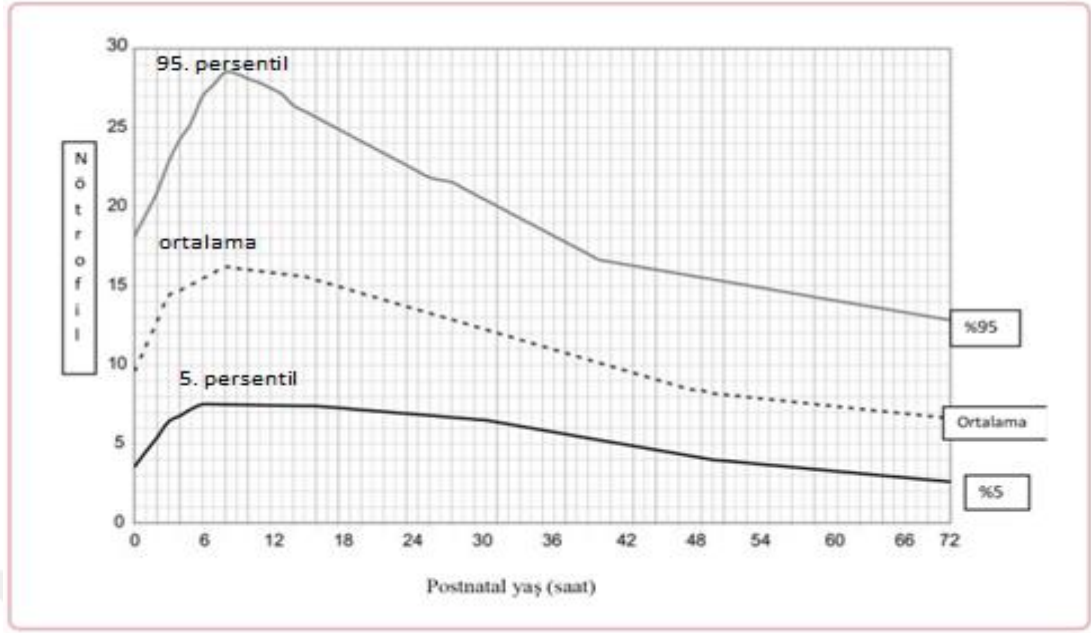
Şekil-IV: <28 haftalık bebeklerde ilk 72 saatte normal beyaz küre değerleri

Yirmi sekiz – otuz altı gestasyonel hafta arası doğan bebeklerin ilk 72 saatteki normal beyaz küre değerleri şekil-V’de görülmektedir.



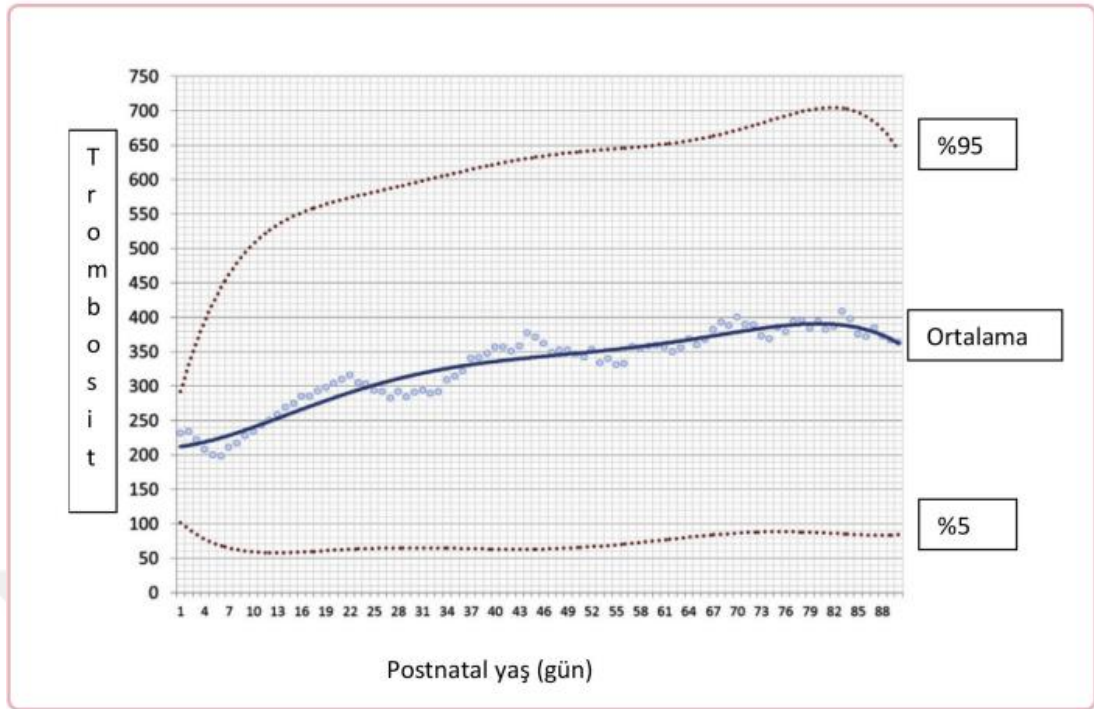
Şekil-V: 28-36 haftalık bebeklerde ilk 72 saatte normal beyaz küre değerleri

Otuz altı gestasyonel haftanın üzerinde doğan bebeklerde ilk 72 saatte normal beyaz küre değerleri şekil-VI’da görülmektedir.



Şekil-VI: >36 haftalık bebeklerde ilk 72 saatte normal beyaz küre değerleri

Yetmiş iki saat ile iki yüz kırk saat arasında; 36. gebelik haftasından sonraki yenidoğanlarda nötrofil konsantrasyonları için 5. persentil değeri 2.700/ μ L ve 95. persentil değeri 13.000/ μ L, 28-36. gebelik haftalarında doğan yenidoğanlarda 5. persentil değeri 1.000/ μ L ve 95. persentil değeri 12.500/ μ L, <28 gebelik haftasında doğan yenidoğanlarda 5. persentil değeri 1300/ μ L ve 95. persentil değeri 15.300/ μ L esas alınır. Yenidoğanlarda ilk 90 gündeki normal trombosit sayıları şekil-VII’de görülmektedir.(199).



Şekil-VII: Yenidoğanlarda ilk 90 gündeki normal trombosit sayıları

Periferik yaymada, immatur/total nötrofil oranı, immatür/matür nötrofil oranı, nötrofillerde toksik granülasyon/vakuolizasyon varlığı incelendi. Bu incelemeler doğrultusunda Rodwell skorlaması yapıldı. Rodwell skorlamasında İ/T oranını değerlendirirken; doğumda 0,16 olması, 60. saatte 0,12'ye düşmesi göz önüne alındı. 0,2 üzerinde olması sepsis için anlamlı kabul edildi.

Serum ferritin düzeyi HLH tanı kriterlerinde de belirlenmiş olduğu üzere, >500 ng/mL üzerinde olan hastalar dahil edildi.

Genetik mutasyonların ve polimorfizmlerin değerlendirilmesinde Ensembl genetik veri tabanı kullanıldı. Bu genetik veri tabanında, mutasyonların ve polimorfizmlerin, protein fonksiyonunu etkileyip etkilemediğini, zararlılığını değerlendirmek için SIFT, Poly-Phen, CADD, REVEL, MetaLR tahmin programları kullanılmıştır(203).

3.4. Kan Örneklerinin Eldesi ve Laboratuvarlara İletilmesi

Hastalardan sepsis tanısı için; bir adet EDTA'lı tüpe, bir adet seperatör jel içeren tüpe kan alınarak KTÜ Tıp Fakültesi tıbbi biyokimya laboratuvarında analiz edildi.

Genetik incelemeler için; bir adet EDTA'lı tüpe, 2 ml kan örneği alındı. Alınan örnekler İntergen Tıbbi Genetik Laboratuvarı'na gönderilene kadar +4 derecede muhafaza edildi. Numuneler, daha sonra toplu bir şekilde laboratuvara iletildi.

3.5. Laboratuvar Yöntemleri

Hemogram ve ferritin değerleri Karadeniz Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı Laboratuvarı'nda çalışıldı.

Tam kan sayımı için 1-2 ml EDTA'lı tüpe alınan kan Sysmex XN-1000 otoanalizatöründe çalışıldı.

Ferritin düzeyi; Beckman Coulter DXI-800 cihazında, kemilüminesans immünoassay yöntemiyle çalışıldı.

Genetik analizler, İntergen Tıbbi Genetik Laboratuvarında yeni nesil tüm gen dizi analizi yöntemi ile yapıldı. Kandan DNA izolasyonu MN NucleoSpin® Blood Kit (Macherey-Nagel GmbH & Co.) kullanılarak yapıldı. Elde edilen DNA örnekleri etiketlenerek, analize kadar -20°C'de saklandı. Hedef gen bölgelerine özgü tasarlanan primerler kullanılarak MyTaq (Bioline) enzimi ile PCR gerçekleştirildi. Aynı örneğe ait PCR ürünleri birleştirilerek pürifiye edilip, sekans hazırlık basamağına alındı. Sekanslama çalışması Miseq-Illumina (Illumina, San Diego, CA, USA) cihazı kullanılarak, imalatçı firmanın protokolünün çalışma metoduna göre, elde edilen veriler IGV 2.3 (Broad Institute) yazılımı ile analiz edildi(204).

Periferik yayma tarafımızca yapıp değerlendirildi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk Shapiro Wilk ile incelendi. Normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmasında Tek Yönlü

Varyans Aanalizi (ANOVA) kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen verilerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde sunuldu. Normal dağılım göstermeyen veriler ise ortanca (minimum–maksimum) şeklinde verildi. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı.. Anlamlılık düzeyi $p<0,050$ olarak alındı

3.7. Etik Kurul ve Kurum İzinleri

Çalışma için, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 19.07.2019 tarihli onayı (protokol no: 2019/154, Sayı: 24237859-) alındı.



4. BULGULAR

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde Temmuz 2019-Haziran 2021 tarihleri arasında yatıp, sepsis tanısı koyulan ve belirlenen HLH kriterlerini sağlayan 22 yenidoğan hastada, FHL'ye ilişkin gen mutasyonları çalışılmıştır.

Altı hasta (%27), takibinde eksitus olmuştur. Eksitus olan hastaların 3'ünde (%50) akraba evliliği tespit edilmiştir. Eksitus olan altı hastanın üçünde (%50) iki gende polimorfizm, ikisinde (%33) tek gende polimorfizm tespit edilmiştir. Bir hastada genetik anormallik saptanmamıştır.

4.1. Hastaların Demografik Özellikleri

Çalışma grubundaki 22 hastanın 13'ü (%59,1) erkek, 9'u kız (%40,9) idi. Erkek/kız oranı 1,4/1 olarak bulundu. On sekiz (%81,8) hasta prematür , dört (%18,2) hasta matür idi. Hastaların soygeçmişleri akrabalık açısından sorgulandığında, dokuz (%40,9) hastanın anne-babası arasında akraba evliliği olduğu tespit edildi. Hiç bir hastada kardeş ölüm öyküsü yok idi. İki hastanın annesinde, nedeni bilinmeyen tekrarlayan intrauterin eksituslar mevcuttu.

4.2. Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulguları

Sepsis tanısı koyulan ve belirlenen HLH ile ilişkili kriterleri sağlayan 22 yenidoğan hasta, üç grupta incelenmiştir; 1) Literatürde benign olarak sınıflandırılmış aynı gen polimorfizmine sahip hastalar (n=12), 2) HLH kliniği ile ilişkili polimorfizmlere sahip olan hastalar (n=3), 3) Heterozigot mutasyon bulunan hastalar (n=6).

Çalışmamıza dahil ettiğimiz tüm sepsis hastalarında hepatosplenomegali mevcuttu. Sepsis tanısı koyulan hastaların sepsis esnasındaki diğer klinik, fizik muayene, laboratuvar bulguları ve Rodwell skorlama puanları tablo-IX'da görülmektedir.

Aynı gen polimorfizmine sahip hastaların klinik ve demografik özellikleri tablo-X'da görülmektedir.

Tablo-IX: Sepsis tanısı esnasında hastaların klinik fizik muayene ve laboratuvar bulguları

HASTA	SEPSİS TANIMI	KLİNİK BULGU	Lökosit (hücre/mm ³)	Trombosit (hücre/mL)	CRP (mg/dL)	Prokalsitonin (ng/mL)	Rodwell skoru
H.S..	Klinik sepsis	Ateş	12.960	528.000	-	0,13	6
Y.E.K.	Klinik sepsis	Desatürasyon, taşikardi	5.130	27.000	138	4,62	5
A.A.T.	Klinik sepsis	Ateş	6.500	504.000	11,1	0,77	5
G.H.	Kanıtlanmış sepsis	Ateş, solunum sıkıntısı	37.230	496.000	111	34,67	6
E.H.C.	Kanıtlanmış sepsis	Ateş	18.230	347.000	40,6	0,37	6
Ö.H.U.	Kanıtlanmış sepsis	Solunum yetmezliği, metabolik asidoz, hipotansiyon	19.150	18.000	29,6	-	6
H.B.Ş.	Klinik sepsis	Kapiller geri dolum zamanında uzama, ateş	12.600	57.000	0,16	-	6
M.K..	Klinik sepsis	Metabolik asidoz, hipotansiyon	9.830	244.000	42,7	-	5
M.A.K..	Klinik sepsis	Solunum sıkıntısı, metabolik asidoz, kapiller kaçak sendromu	30.360	479.000	-	0,66	6
E.Y.C.	Klinik sepsis	Batın distansiyonu, solunum yetmezliği, kapiller dolum zamanında uzama	9.280	726.000	1,3	0,32	6
B.A.Ö.	Kanıtlanmış sepsis	Ateş, kapiller dolum zamanında uzama	6.890	151.000	74,2	0,84	6
F.B.Y.	Kanıtlanmış sepsis	İdrar çıkışında azalma, kilo kaybı, huzursuzluk	13.690	503.000	-	0,81	5
E.Ü.	Klinik sepsis	Solunum sıkıntısı, hipoglisemi	18.720	196.000	-	1,34	5
T.S.	Klinik sepsis	Solunum yetmezliği, ateş, hipotansiyon	13.000	334.000	3,8	14,97	5
B.A.A.	Klinik sepsis	Batın distansiyonu, hipoaktivite	17.090	359.000	66,4	3,97	5
H.M.	Klinik sepsis	Ateş	6.950	231.000	-	14,8	5
O.Ö.	Kanıtlanmış sepsis	Batın distansiyonu, solunum sıkıntısı	2.650	61.000	19,5	2,62	6
E.K	Klinik sepsis	Solunum sıkıntısı, batın distansiyonu	19.520	146.000	10,6	1,16	5
B.N.	Klinik sepsis	Kapiller dolum zamanında uzama, sarılık	25.000	272.000	8,3	0,68	5
M.B	Klinik sepsis	Desatürasyon, takipne, solunum sıkıntısı	9.690	52.000	10,7	4,06	5
A.H.B.	Kanıtlanmış sepsis	Takipne, batın distansiyonu	8.710	232.000	29,4	7,41	5
A.T.	Klinik sepsis	Takipne, hipotoni, cutis marmoratus	20.740	425.000	6,8	-	5

Tablo-X: Aynı gen polimorfizmine sahip hastaların demografik, klinik ve genetik özellikleri

Hasta adı	Cinsiyet	Doğum haftası	Akraba evliliği/ kardeş ölüm öyküsü	Hepatomegali /splenomegali	Polimorfizm	Prognoz
T.S.	erkek	37 hafta	-/-	3cm/1 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het UNC13D'de c.2599G>A (K867E) het.	Sağ
E.Y.C.	kız	31 hafta	+/-	3 cm/2 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) hom. UNC13D'de c.2599G>A (K867E) het.	Sağ
B.A.Ö.	kız	32 hafta	-/-	3 cm/2 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het UNC13D'de c.2599G>A (K867E) het.	Sağ
G.H.	kız	38 hafta	-/-	2 cm/2 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het UNC13D'de c.2599G>A (K867E) hom.	Eksitus
E.H.C.	kız	37 hafta	-/-	3 cm/2 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het UNC13D'de c.2599G>A (K867E) het.	Sağ
Y.E.K.	erkek	31 hafta	-/-	3 cm/3 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) hom UNC13D'de c.2599G>A (K867E) het.	Sağ
B.A.A.	erkek	38 hafta	-/3 intrauterin ölü fetüs	2 cm/1 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het.	Sağ
H.B.Ş.	kız	36 hafta	-/-	3 cm/2 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het.	Sağ
Ö.H.U.	erkek	31 hafta	-/-	4 cm/2 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het.	Eksitus
M.K.	erkek	33 hafta	+/-	2 cm/1 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het.	Sağ
A.A.T.	erkek	33 hafta	-/-	6 cm/2 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het.	Eksitus
M.A.K.	erkek	36 hafta	-/-	3 cm/2 cm	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het .	Sağ

*Hom: Homozigot *Het: Heterozigot

Aynı gen polimorfizmine sahip hastalarda; STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V) heterozigot veya homozigot polimorfizmi; UNC13D geninde c.2599G>A (K867E) homozigot veya heterozigot polimorfizmleri mevcuttu. Altı hastada STXBP2 ve UNC13D genlerinin her ikisinde, altı hastada yalnız STXBP2 geninde polimorfizm vardı. Bu polimorfizmler, literatürde “benign” olarak sınıflandırılmaktadır.

Aynı gen polimorfizmine sahip 12 hastanın tümünde hepatosplenomegali mevcuttu.

İki hastada (%16,6), anne-baba arasında akraba evliliği, bir hastanın annesinde nedeni bilinmeyen tekrarlayan intrauterin ölü fetüs öyküsü vardı. Hiçbir hastada, kardeş ölüm öyküsü yoktu. Üç hasta (%25), takibinde sepsis, septik şok nedeni eksitus oldu. İki hasta yenidoğan yoğun bakım ünitesinde mevcut

klınıkteyken, Beckwith wıedemann sendromu tanısı olan bır hasta da yenidoğan yoğun bakım ünitesinden taburcu olduktan sonra eksitus oldu.

Aynı gen polımorfızmine sahip hastaların laboratuvar bulguları tablo-XI’de görölmektedir.

Tablo-XI: Aynı gen polımorfızmine sahip hastaların laboratuvar bulguları

Hasta	Hemoglobin (g/dL)	Lökosit (hücre/mm ³)	Trombosit (hücre/mL)	Ferritin (ng/mL)	Rodwell skor
T.S.	13,5	13.000	334.000	584,5	5
E.Y.C.	6,8	9.280	726.000	1.180	6
B.A.Ö.	15,1	6.890	151.000	1.043	6
G.H.	9,4	37.230	496.000	1.453	6
E.H.C.	9,8	18.230	347.000	1.361	6
Y.E.K.	8,4	5.130	27.000	1.058	5
B.A.A.	7,7	17.090	359.000	771	5
H.B.Ş.	13,7	12.600	57.000	701,5	6
Ö.H.U.	6,3	19.150	18.000	1.941	6
M.K.	19,1	9.830	244.000	571	5
A.A.T.	12	6.500	504.000	852	5
M.A.K	13,6	30.360	479.000	563	6

Aynı gen polımorfızmine sahip 12 hastanın tümünde, ferritin yüksekliği ve hepatosplenomegali mevcuttu. Bu gruptaki hastaların ikisinde (Ö.H.U., Y.E.K.) (%16,6) anemi+trombositopeni, üç hastada (E.Y.C., E.H.C, B.A.A.) (%25) izole anemi, bır hastada (H.B.Ş) (%8,3) izole trombositopeni vardı.

Çalışmada, altı hastada (%27,2) heterozigot mutasyon tespit edildi. Heterozigot mutasyon tespit edilen hastaların demografık, klınık ve genetik özellikleri tablo-XII’de görölmektedir.

Tablo-XII: Heterozigot mutasyona sahip hastaların demografik, klinik ve genetik özellikleri

Hasta adı	Cinsiyet	Doğum haftası	Akraba evliliği/ kardeş ölümü	Hepatomegali /splenomegali	Mutasyon	Polimorfizm	Tanıları/Prognoz
M.B.	erkek	25 hafta	-/ -	2 cm/2 cm	STXBP2 geninde; c.1034C>T (T345M) het.	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het. UNC13D'de c.2599G>A (K867E) het.	-Covid + anne bebeği -RDS, neonatal pnömoni -Nekrotizan enterokolit -Hiperlipidemi -Pulmoner hemoraji -Hayatta
B.N.	erkek	39 hafta	+/-	2 cm/2 cm	STX11 geninde; c.799G>A (V267M) het.	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het. UNC13D'de c.2599G>A (K867E) het. UNC13D'de c.175G>A (A59T) het.	-Sürrenal hematoma -Konjenital adrenal hiperplazi -Hafif pulmoner darlık -Hayatta
A.H.B	erkek	35 hafta	-/-	3 cm/2cm	UNC13D geninde; c.1759G>A (R587C) het.	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het. STXBP2'de c.1298C>T (A433V) het. UNC13D'de c.2599G>A (K867E) het. UNC13D'de c.175G>A (A59T) het.	-Nekrotizan enterokolit -Kapiller kaçak sendromu -Pulmoner hemoraji -DİK -Hayatta
A.T.	erkek	37 hafta	+/-	2 cm/2 cm	STXBP2 geninde; c.1470G>A (R490Q) het.	-	-Diyabetik anne bebeği -Polihidramnios -Doğumda eritrosit transfüzyon ihtiyacı -Evre 1 intrakranial kanama -Tübülopati -Hayatta
O.Ö.	erkek	36 hafta	-/-	2 cm/2cm	PRF1 geninde; c.1620A>G (p.Q540=) het.	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) het UNC13D'de c.2599G>A (K867E) hom.	-Down sendromu -Duodenal atrezi -Peritonit -Tübülopati -Hayatta
E.K.	erkek	36 hafta	+/-	2 cm/1 cm	STXBP2 geninde; c.1034C>T (T345M) het.	STXBP2'de c.1576A>G (I526V) hom.	-Down sendromu -Duodenal atrezi -Albinizm -Kolestaz -Hayatta

Heterozigot mutasyona sahip altı hastanın ikisinde, STXBP2 geninde c.1034C>T (T345M) heterozigot mutasyonu, birer hastada STXBP2 geninde c.1470G>A (R490Q) heterozigot mutasyonu, STX11 geninde c.799G>A (V267M) heterozigot mutasyonu, UNC13D geninde c.1759G>A (R587C) heterozigot mutasyonu, PRF1 geninde c.1620A>G (p.Q540=) heterozigot mutasyonu tespit edilmiştir. İki hastada (B.N., A.H.B.) heterozigot mutasyona ek olarak HLH kliniği ile ilişkili olabilen, genetik veri tabanındaki SIFT tahmin aracında “zararlı” olarak sınıflandırılan UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi, bir hastada STXBP2 geninde c.1298 C>T (A433V) heterozigot polimorfizmi tespit edilmiştir. Beş hastada (M.B., B.N., A.H.B., O.Ö., E.K.), literatürde “benign” olarak sınıflandırılan, STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V) heterozigot/homozigot polimorfizmi, dört hastada (M.B., B.N., A.H.B., O.Ö.) UNC13D geninde c.2599G>A (K867E) heterozigot polimorfizmi tespit edildi.

Heterozigot mutasyona sahip altı hastanın tümünde, hepatosplenomegali mevcuttu. Üç hastada (%50), anne-baba arasında akraba evliliği vardı. Hiçbir hastada kardeş ölüm öyküsü yoktu. Heterozigot mutasyon tespit edilen hastaların laboratuvar bulguları tablo-XIII’de görülmektedir.

Tablo-XIII: Heterozigot mutasyona sahip hastaların laboratuvar bulguları

Hasta	Hemoglobin (g/dL)	Lökosit (hücre/mm ³)	Trombosit (hücre/mL)	Ferritin (ng/mL)	Rodwell skor
M.B.	7,9	9.690	52.000	773	5
B.N.	13,6	25.000	272.000	647	5
A.H.B.	12,5	8.710	232.000	668	5
A.T.	11,5	20.740	425.000	545	5
O.Ö.	6,3	2.650	61.000	1273	6
E.K.	20	19.000	146.000	671,8	5

Heterozigot mutasyona sahip hastaların laboratuvar değerlendirmesinde; bir hastada (O.Ö.) (%16,6) pansitopeni, bir hastada (M.B.) (%16,6) bisitopeni (anemi+trombositopeni) , bir hastada (A.T.) (%16,6) anemi izlendi, iki hastada sitopeni gözlenmedi.

Çalışmamızda üç hastada da, mutasyon olmaksızın HLH kliniği ile ilişkilendirilen polimorfizmler tespit edilmiştir. HLH kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen hastaların demografik, klinik ve genetik özellikleri tablo-XIV’de görülmektedir.



Tablo-XIV: HLH kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen hastaların demografik, klinik ve genetik özellikleri

Hasta adı	Cinsiyet	Doğum haftası	Akraba evliliği/ kardeş ölüm öyküsü	Hepatomegali /splenomegali	Polimorfizm	Tanıları/Prognoz
H.M..	kız	30 hafta	+/-	2 cm/3 cm	PRF1 geninde; c.272C>T (A91V) heterozigot	-İntrauterin gelişme geriliği, orta prematür -Mekonyum bulaşı -Opere nekrotizan enterokolit, kolostomi -Kolestaz -Evre 1 intrakranial kanama -Kısmi adrenal yetmezlik -Hayatta
E.Ü.	kız	36 hafta	+4 intrauterin ölü fetüs	3 cm/2 cm	UNC13D geninde; c.175G>A (A59T) het.	-İntrauterin gelişme geriliği -Respiratuar distres sendromu -Neonatal pnömoni -Hiperinsülinemik hipoglisemi -Bilateral koanal stenoz -Duodenal obstrüksiyon, anüler pankreas -Down sendromu -Eksitus
H.S.	kız	37 hafta	+/-	3 cm/2cm	UNC13D geninde; c.175G>A (A59T) het.	-Arnold Chiari -Yarık damak/dudak -Aplasia cutis -Ensefalosel -Mikroftalmi -Hidrocefali -Trakeostomi -Gastrostomi -Eksitus

Mutasyon olmayıp, sadece HLH kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen hastaların birinde PRF1 geninde c.272C>T (A91V) heterozigot polimorfizmi, iki hastada da UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi tespit edilmiştir.

Hemofagositik lenfhistiositoz kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen hastaların tümünde, hepatosplenomegali ve anne-baba arasında akraba evliliği öyküsü mevcuttu. Bir hastanın annesinde nedeni bilinmeyen tekrarlayan intrauterin ölü fetüsler vardı.

UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi tespit edilen iki hasta, takibinde sepsis nedeni eksitus oldu.

Hemofagositik lenfhistiositoz kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen hastaların laboratuvar bulguları tablo-XV’de görülmektedir.

Tablo-XV: HLH kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen hastaların laboratuvar özellikleri

Hasta	Hemoglobin (g/dL)	Lökosit (hücre/mm ³)	Trombosit (hücre/mL)	Ferritin (ng/mL)	Rodwell skor
H.M	11,5	6.950	231.000	1.108	5
E.Ü	12,2	18.720	196.000	1.346	5
H.S	10,6	12.960	528.000	813	6

HLH kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen hastalardan, bir hastada (H.S.) (%33) anemi tespit edildi. Trombositopeni, lökopeni izlenmedi.

Çalışmamızda altı hasta (%27) takibinde eksitus olmuştur. Genetik analiz, vakalar tamamlandıktan sonra toplu bir şekilde yapıldığı için, eksitus olan vakaların genetik durumu bilinmediğinden, bu hastalar HLH ile ilgili daha detaylı araştırılmadı. Eksitus olan hastaların özellikleri tablo-XVI’de görülmektedir.

Tablo-XVI: Eksitus olan hastaların demografik, klinik ve genetik özellikleri

Hasta	Cinsiyet	Doğum haftası	Akraba evliliği/ kardeş ölümü	Hepatomegali /splenomegali	Polimorfizm	Tanıları		Eksitus yaşı/ nedeni
Ö.H.U.	erkek	31 hafta	-/ -	4 cm/2 cm	STXBP2 geninde; c.1576A>G (I526V) het.	-Evre 1 intrakranial kanama -Neonatal kolestaz -Refrakter trombositopeni -Metabolik hastalık?	-Kapiller kaçak sendromu -Sekonder HLH -Hemokromatozis	16 gün -Septik şok, DİK
F.B.Y.	kız	39 hafta	+/-	3 cm/2 cm	-	-Hipotonik infant -Proksimal renal tübüler asidoz -Böbrek yetmezliği	-Mitokondriyal hastalık? -Adrenal yetmezlik	2 ay -Sepsis, septik şok
E.Ü.	kız	36 hafta	+/4 intrauterin eksitus	3 cm/2cm	STXBP2’de c.1576A>G (I526V) het. UNC13D’de c.2599G>A (K867E) het UNC13D’de c.175G>A (A59T) het. .	-İntrauterin gelişme geriliği -Respiratuar distres sendromu -Hipotiroidi -Down sendromu -Bilateral koanal stenoz	-Duodenal atrezi -Anüler pankreas -Hiperinsülinemik hipoglisemi	10 gün -Cerrahi patolojilere bağlı sepsis
H.S.	kız	37 hafta	+/-	3 cm/2 cm	STXBP2’de c.1576A>G (I526V) hom. UNC13D’de c.2599G>A (K867E) het UNC13D’de c.175G>A (A59T) het.	-Arnold Chiari -Yarık damak/dudak -Aplasia cutis -Ensefalosel	-Mikroftalmi -Hidrosefali -Trakeostomi -Gastrostomi	3 ay 20 gün -Sepsis, septik şok
A.A.T	erkek	33 hafta	-/-	6 cm/2 cm	STXBP2’de c.1576A>G (I526V) hom.	-Beckwith Wiedemann sendromu -Bronkopulmoner displazi -Neonatal konvülziyon	-Hipertansiyon -Karaciğerde demir birikimi -Trakeostomi -Gastrostomi	23 aylık -Sepsis, septik şok
G.H.	kız	38 hafta	-/-	2 cm/ 2 cm	STXBP2’de c.1576A>G (I526V) het UNC13D’de c.2599G>A (K867E) hom.	-İri bebek -Hipotonik infant -Mekonyum aspirasyon sendromu -Yarık damak -Renal hipoplazi -Bronkopulmoner displazi	-Pulmoner hipertansiyon -Pulmoner stenoz -Sağ kalp dilatasyonu -Sürfaktan protein sentez defekti	2 ay 17 gün -Dirençli nöbet, subependimal kanama, çoklu organ yetmezliği

Eksitus olan hastaların üçünde (%50) akraba evliliği tespit edilmiştir. Eksitus olan altı hastanın ikisinde (Ö.H.U, A.A.T.) STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V) heterozigot/homozigot polimorfizmi, bir hastada (G.H.) STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V) heterozigot ve UNC13D geninde c.2599G>A (K867E) homozigot polimorfizmi, iki hastada (E.Ü., H.S.) STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V) heterozigot/homozigot polimorfizmi, UNC13D geninde c.2599G>A (K867E) heterozigot polimorfizmi ve literatürde HLH kliniği ile ilişkili olabileceği belirtilen UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi tespit edilmiştir. Bir hastada genetik anormallik tespit edilmemiştir. Bu hastalar arasındaki ortak özellik, anne-baba arasında akraba evliliği olmasıdır. Beş hasta sepsis, septik şok, DİK nedenleriyle, bir hasta bronkospazm şeklinde dirençli nöbete bağlı ani kardiyak arrest ve eşlik eden çoklu organ yetmezlikleri nedeniyle eksitus olmuştur.

Hemoglobin, lökosit sayısı, trombosit sayısı, ferritin, rodwell skorlarında, gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır (tablo-XVII).

Tablo-XVII: Laboratuvar verilerinin gruplar arasında istatistiksel karşılaştırması

	Heterozigot Mutasyon	Aynı Polimorfizme Sahip Hastalar	Anlamlı Polimorfizmi Olan Hastalar	p değeri
	Ortalama $\pm$ S. S Ortanca (Min-Mak)	Ortalama $\pm$ S. S Ortanca (Min-Mak)	Ortalama $\pm$ S. S Ortanca (Min-Mak)	
Hemoglobin (g/dL)	12 $\pm$ 4,8	11,3 $\pm$ 3,9	11,4 $\pm$ 0,8	0,942*
Lökosit (hücre/mm³)	14.298,3 $\pm$ 8.558,9	15.440,8 $\pm$ 9.837	12.876,7 $\pm$ 5.885,4	0,901*
Trombosit (hücre/mL)	198.000 $\pm$ 14.2091,5	311.833,3 $\pm$ 220.980	318.333,3 $\pm$ 182.418	0,497*
Ferritin (ng/mL)	669,9 (545 - 1273)	947,5 (563 - 1941)	1108 (813 - 1346)	0,228**
Rodwell Skoru	5 (5 - 6)	5 (5 - 6)	5 (5 - 6)	0,182**

**Kruskal Wallis H testi *Tek yönlü varyans analiz

5. TARTIŞMA

Hemofagositik lenfohistiyositoz; primer ve sekonder HLH olarak sınıflandırılan, NK hücreler ve T lenfositlerin kontrol edilemeyen aktivasyonu sonucu gelişen sitokin fırtınası ve neticesinde hiperinflamasyon, kontrolsüz immün yanıt ve çoklu organ tutulumu ile karakterize bir sendromdur. Primer HLH, esas olarak CTL ve NK hücrelerinin sitotoksitesini etkileyen monogenik bozukluklardan oluşur. İkincil HLH, enfeksiyon, malignite, otoimmün hastalık ve allojenik sonrası hematopoietik kök hücre nakli gibi çeşitli durumlarda, bir komplikasyon olarak ortaya çıkar(25).

Hemofagositik lenfohistiyositoz, hem çocuklarda hem de yetişkinlerde ortaya çıkabilir. Gerçek insidansı bilinmemekle birlikte, familial HLH insidansı 15 yaş altında 1.2/1.000.000 olarak bildirilmiştir(60).

Familial HLH'nin, klasik olarak otozomal resesif kalıtım gösterdiği ve akraba evliliğinin sık görüldüğü toplumlarda, insidansının arttığı bilinmektedir(7,8).

Çok sayıda yayında belirtildiği gibi, HLH yenidoğanlarda sıklıkla başka durumları taklit edebildiğinden, tanı koyulması güçtür. Yenidoğan döneminde HLH tanısı, sıklıkla sepsis tanısıyla karışabilir. Çünkü hem sepsis hem de HLH karakteristik çoklu organ yetmezliği ile ortaya çıkabilir(16–21).

Hemofagositik lenfohistiyositoz sendromu geniş bir özet tanı olarak kullanılırken, günümüzde artık birçok pediatrik hastanın, aslında HLH sendromu ile komplike hale gelebilen, geniş bir genetik hastalık yelpazesinde olduğu fikri daha çok kabul edilmektedir(2). Patofizyolojinin aydınlatılmasıyla beraber tek bir HLH genindeki homozigot mutasyona ek olarak, HLH'li bireylerin birleşik heterozigot, digenik veya heterozigot kalıtım gösterebileceği ve özellikle heterozigot varyantların tek başına hastalık fenotipini başlatmak için yeterli olmayabileceği; ek tanımlanmamış genetik kusurlar veya çevresel faktörler (enfeksiyon, malignite,

otoimmünite gibi) varlığında HLH gelişimine zemin hazırlayabileceği bilinmektedir(90–94).

Karadeniz bölgesinde akraba evliliği ve dolayısıyla otozomal resesif kalıtmalı hastalıklar sık görüldüğünden, biz bu çalışmada familyal HLH ile ilgili farkındalık uyandırmayı amaçlamaktayız. FHL, yenidoğan sepsisleri ile benzer klinik ve laboratuvar bulguları gösterdiğinden, yenidoğan döneminde sepsis tanısı ile izlenen vakalarda, bu tanının gözden kaçırılmış olabileceğini düşünüyoruz.

Familyal HLH’li bazı hastalar, kesin hastalık geliştirmeden önce tekrarlayan, sıklıkla kendi kendini sınırlayan, HLH benzeri ancak tanı kriterlerini tam sağlamayan epizodlar yaşayabileceğinden, bu formdaki HLH’yi tanıyabilmek önemlidir(37). Son yıllarda hastalıkla ilgili heterozigot mutasyonlar ve bu mutasyonların nispeten hafif seyirli olduğu gösterildiğinden, eksitus olmayan ancak heterozigot mutasyonu veya polimorfizmi olan vakalarda da, kliniğin sepsisin tetiklediği bir primer HLH kliniği olabileceğini ve tetikleyici faktör ortadan kalktığında kliniğin kendini sınırlamış olabileceğini, bu hastalarda ilerleyen yaşlarda tetikleyici faktörler varlığında HLH gelişebileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamıza dahil edilen hastaların genetik analizinde; altı hastada heterozigot mutasyon, üç hastada mutasyon olmaksızın literatürde HLH kliniği ile ilişkilendirilmiş polimorfizm, 12 hastada literatürde benign kategorisinde sınıflandırılan aynı gen polimorfizmleri tespit edildi. Bir hastada HLH ile ilişkili genetik anormallik izlenmedi. Homozigot mutasyon saptanmadı.

Aynı gen polimorfizmine sahip 12 hastada; STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V) heterozigot veya homozigot polimorfizmi; UNC13D geninde c.2599G>A (K867E) homozigot veya heterozigot polimorfizmleri mevcuttu. Altı hastada STXBP2 ve UNC13D genlerinin her ikisinde, altı hastada STXBP2 geninde polimorfizm vardı. Bu polimorfizmler, Ensembl genetik veri tabanında ‘benign’ olarak sınıflandırılmaktadır ve literatürde bu polimorfizmlerin neden olduğu HLH vakası tespit edilememiştir(205).

Çalışmamızda, hastaların %40,9'unda anne ve baba arasında akraba evliliği tespit edildi. Heterozigot mutasyon tespit edilen altı hastanın üçünde, HLH kliniği ile ilişkilendirilen polimorfizm tespit edilen hastaların tümünde anne ve baba arasında akraba evliliği mevcuttu.

Çalışmamızda tespit edilen mutasyonlar heterozigot mutasyon veya tek gen polimorfizmleri idi. Genetik alanındaki çalışmaların ilerlemesiyle birlikte; heterozigot mutasyonların da tetikleyici faktörler varlığında HLH'ye yol açabileceği gösterilmiştir(85,102–105).

Hastaların tümünde klinik olarak hepatomegali/splenomegali mevcuttu. Bilindiği üzere organomegali, sepsis ve HLH'nin ortak klinik bulgularındandır(187,189). Hayatta olan hastalarımızın takiplerinde organomegalileri kayboldu.

Hastaların hemogram bulguları; gestasyonel haftaları, doğum ağırlıkları ve sepsis esnasındaki postnatal yaşlarına göre değerlendirildi. Beş hastada (%22,7) izole anemi, üç hastada (%13,6) anemi+trombositopeni, bir hastada (%4,5) pansitopeni, iki hastada (%9) izole trombositopeni tespit edildi. Sitopeni, hem sepsis hem de HLH'de ortak olarak görülen laboratuvar bulgularındandır(206). Hayatta olan hastaların takiplerinde sitopenisi düzeldi.

Pansitopeni tespit edilen hastada (O.Ö.), ise PRF1 geninde, c.1620A>G (p.Gln540=) heterozigot mutasyonu tespit edildi.

Heterozigot mutasyon tespit edilen altı hastanın ikisinde (M.B., E.K.), STXBP2 geninde c.1034C>T (T345M) heterozigot mutasyonu mevcuttu. Bu hastalardan biri (M.B.), COVID pozitif anneden, 25 haftalık doğmuş bir prematüreydi. Hastada, STXBP2 geninde c.1034C>T (T345M) heterozigot mutasyonu tespit edildi. Ayrıca STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V) heterozigot ve UNC13D geninde c.2599G>A (K867E) heterozigot polimorfizmleri mevcuttu. Anne ile baba arasında akraba evliliği, kardeş ölüm öyküsü yoktu. Prematürite, respiratuar distres sendromu, neonatal pnömoni, erken başlangıçlı sepsis, sepsisle eş zamanlı anemi, trombositopeni ve hiperlipidemi, pulmoner hemoraji, opere

nekrotizan enterokolit, neonatal konvülziyon ve ROP tanıları ile yenidoğan yoğun bakım ünitesinde takip edildi. Sepsis esnasında hepatosplenomegalisi mevcuttu, takibinde organomegalisi kayboldu. Laboratuvar tetkiklerinde sepsisle eş zamanlı anemi (Hgb:7,9 g/dl) ve trombositopenisi (plt:52000 hücre/ml) vardı. Ferritin yüksekliği (773 ng/mL) mevcuttu. Serum lipemik görünümde olması nedeniyle bakılan trigliserit 1087 mg/dL idi. Takibinde normal sınırlara geriledi. Hasta hayattadır ve poliklinik takiplerine devam etmektedir. Ensembl genetik veri tabanına göre; STXBP2 geninde c.1034C>T (T345M) heterozigot mutasyonu SIFT tahmin programında ‘‘zararlı’’, Poly-Phen tahmin programında ‘‘muhtemelen zarar verici’’ REVEL tahmin programında ‘‘olası hastalık yapıcı’’ olarak sınıflandırılmıştır(205). Haziran 2021’de yayınlanan bir makalede; Suudi Arabistan’da 1995-2014 yıllarında HLH tanısı alan 86 çocuğun retrospektif incelemesinde 2 hastada (5 aylık ve 9 aylık) STXBP2 geninde c.1034C>T (T345M) heterozigot mutasyonu gösterilmiştir ve yeni tanımlanan bir ‘‘*missense mutasyon*’’ (yanlış anlamlı mutasyon) olduğu belirtilmiştir. Çalışmada hasta bazında klinik ve laboratuvar bulguları belirtilmemekle birlikte; STXBP2 geninde mutasyon saptanan 27 familial HLH hastasının tümünde ateş ve splenomegali izlenmiş; %96’sında hepatomegali, %4’ünde deri döküntüsü, %48’inde sarılık, %91’inde pansitopeni, %55’inde hiperbilirubinemi, %73’ünde karaciğer enzim yüksekliği, %47’sinde hipertrigliseridemi, %77’sinde hiperferritinemi, %43’ünde koagülopati, %11’inde nöbetler, %69’unda santral sinir sistemi tutulumu, %72’sinde kemik iliğinde hemofagositoz, %22’sinde reaktivasyon tespit edilmiş(207). Bizim hastamızda da benzer olarak hepatosplenomegali, bisitopeni, ferritin yüksekliği ve hipertrigliseridemi mevcuttu. Hastanın mevcut klinik ve laboratuvar bulgularının sepsise bağlı olduğu düşünülmüştü ancak heterozigot bir HLH gen mutasyonu tespit edilen hastanın klinik durumunun, sepsisin tetiklediği bir familial HLH olabileceği, tetikleyen faktör (sepsis) ortadan kaldırıldığında kendini kendini sınırlandırmış olabileceğini düşünüyoruz. Bildiğimiz üzere, literatürde heterozigot mutasyonlara bağlı çokça HLH vakası yayınlanmıştır. Bu hastanın ilerleyen zamanlarda tetikleyici faktörler ile HLH geliştirme riski olduğunu düşünüyoruz.

STXBP2 geninde c.1034C>T (T345M) heterozigot mutasyonu tespit edilen diğer hasta (E.K.), 36 haftalık doğmuş bir prematüre bebektir. Anne ile baba arasında

akraba evliliği mevcuttu, kardeş ölüm öyküsü yoktu. Down sendromu, hipotiroidi, duodenal atrezi, albinizm, kolestaz ve sepsis tanıları ile yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlendi. Sepsis esnasında hepatosplenomegali mevcuttu. Laboratuvar incelemesinde sitopeni yoktu. STXBP2 geninde c.1034C>T (T345M) heterozigot mutasyon tespit edilen diğer hastada bahsedildiği üzere, literatürde yayınlanan vakalara dayanarak, bu hastanın kliniğinin de sepsisin tetiklediği bir primer HLH kliniği olabileceğini düşünüyoruz.

Heterozigot mutasyon saptanan bir diğer hasta (B.N), 39 haftalık olarak doğan bir bebektir. Genetik incelemesinde STX11 geninde c.799G>A (V267M) heterozigot mutasyonu, STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V) heterozigot polimorfizmi, UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi tespit edildi. Hasta Suriye uyruklu idi. Anne ile baba arasında akraba evliliği öyküsü vardı. Klinik sepsis, skrotal hiperpigmentasyon, konjenital adrenal hiperplazi, sağ sürrenal bezde hematoma tanıları ile yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlendi. Sepsis esnasında fizik muayenede hepatomegali ve splenomegali vardı. Ferritin 647 ng/mL idi. Sitopenisi yoktu. Lökositozu mevcuttu. Takibinde organomegalisi kayboldu. Hasta hayattadır ve poliklinik takiplerinde devam etmektedir. STX11 geninde c.799G>A (V276M) heterozigot mutasyonu, Ensembl genetik veri tabanında PolyPhen tahmin programında “muhtemel zarar verici”, diğer tahmin programlarında “tolere edilebilir”, “muhtemel benign” olarak sınıflanmaktadır(205). Hastada tespit edilen UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi ise, Ensembl genetik veri tabanına göre SIFT tahmin aracında “zararlı” olarak sınıflandırılmaktadır(205). Literatürde STX11 geninde c.799G>A (V276M) heterozigot mutasyonunun tespit edildiği yayınlanmış bir HLH vakası mevcuttur. Persistan ateş ve masif plevral efüzyon kliniği ile başvurup, laboratuvarında pansitopeni, karaciğer enzim yüksekliği, trigliserit ve ferritin yüksekliği, hipoalbuminemi, ANA pozitifliği, USG’de kolesistit, perisplenik ve perihepatik mayi (transuda) tespit edilen 11 yaşındaki hastanın kemik iliği aspirasyonunda hemofagositik hücreler izlenmiş; belirsiz otoimmün hastalığa sekonder HLH tanısı ile deksametazon ve siklosporin tedavileri verilen hasta 1 yıl sonra pannikülit, hepatosplenomegali, HLH reaktivasyonu kliniğiyle tekrar başvurmuş. Hastaya tekrar kemoterapi başlanmış ve siklosporin kesiminden 6 ay sonra tekrar relaps olan

hastanın detaylı genetik analizde STX11 geninde V267M heterozigot mutasyon tespit edilmiş(208). Vakamızın literatürdeki hasta ile benzer yanları organomegali ve ferritin yüksekliği idi. Klinik belirtilerin başlangıç yaşları benzer değildi. Bu hastanın da, sepsisin tetiklediği ve tedavi edilmesiyle kendini sınırladığı hafif seyirli bir primer HLH vakası olabileceğini düşünüyoruz. Literatürde bildirilen vakanın da adölesan yaşta başladığı göz önüne alındığında, hastamızın ilerleyen yaşlarda HLH geliştirme olasılığını göz ardı edemeyiz.

Heterozigot mutasyon tespit edilen hastalardan diğer hasta (A.T.), 32 haftalık doğan prematür bir bebektir. Genetik incelemede STXBP2 geninde c.1470G>A (R490Q) heterozigot mutasyonu tespit edildi. Hastanın anne ile baba arasında akrabalık evliliği vardı, kardeş ölüm öyküsü yoktu. Diyabetik anne bebeği, polihidramnios, B12 eksikliği, doğumda anemi, doğumda eritrosit süspansiyonu replasman ihtiyacı, ROP, sekum ASD, kronik akciğer hastalığı, tekrarlayan sürfaktan ihtiyacı, tübülöpati tanıları ile yenidoğan yoğun bakım ünitesinde takip edildi. Fizik muayenesinde sepsis esnasında hepatosplenomegalisi vardı, takibinde organomegalisi kayboldu. Laboratuvar parametrelerinde sepsis esnasında lökositozu mevcuttu, sitopenisi yoktu. Ferritin 544 ng/mL idi. Hasta hayattadır ve ilgili poliklinik takiplerine devam etmektedir. Ensembl genetik veri tabanına göre STXBP2 geninde c.1470G>A (R490Q) heterozigot mutasyonu SIFT tahmin programında “zararlı”, diğer tahmin programlarında “benign”, “muhtemel benign”, “tolere edilebilir” olarak sınıflandırılmıştır(205). Literatür taramasında bu mutasyona sahip olduğu bildirilen HLH hastası tespit edilememiştir. STXBP2 geni munc18-2 proteinini kodlar ve bu proteini eritrositler de eksprese eder. STXBP2 mutasyonunda intrinsek eritroid defekti, anormal eritropoez olduğu gösterilmiştir(86). Bu hastada, doğumda eritrosit transfüzyonu gerektirecek ölçüde anemi görülmesi ve tekrarlayan eritrosit süspansiyonu ihtiyacı, bu mutasyona bağlı olabilir. Hastanın ilerleyen zamanlarda, tetikleyici faktörler ile HLH kliniği geliştirme riski olduğunu düşünüyoruz.

Heterozigot mutasyon tespit edilen hastalardan (A.H.B.), 35 haftalık doğmuş bir prematüreydi. Genetik incelemesinde, UNC13D geninde c.1759G>A (R587C) heterozigot mutasyonu, UNC13D geninde HLH kliniği ile ilişkilendirilen c.175G>A

(A59T) heterozigot polimorfizmi, STXBP2 geninde c.1298C>T A(433V) polimorfizmi, STXBP2 ve UNC13D genlerinde benign varyantlar tespit edildi. Anne ile baba arasında akraba evliliği, kardeş ölüm öyküsü yoktu. Prematürite, kanıtlanmış sepsis, kapiller kaçak sendromu, DİK, trombositopeni, kolestaz, opere nekrotizan enterokolit, peritonit, ASD, VSD, triküspit ve mitral yetmezlik, neonatal konvülziyon tanıları ile yenidoğan yoğun bakım ünitesinde takip edildi. Sepsis ve kapiller kaçak sendromu esnasında hepatosplenomegalisi mevcuttu. Ferritin 668 ng/mL idi. Ferritinle eş zamanlı bakılan hemogramında sitopenisi yoktu ancak hastanın takibinde pansitopenisi ve DİK tablosu gelişmişti. Hasta hayattadır ve takibinde organomegalisi kaybolmuştur. UNC13D geninde c.1759C>T (R587C) heterozigot mutasyonu, Ensembl genetik veri tabanında tahmin programlarında “tolere edilebilir”, “benign”, “muhtemelen benign” olarak sınıflandırılmıştır. Klinik önemi belirsiz varyant olarak belirtilmiştir(205). Literatürde bu mutasyona bağlı bildirilen HLH vakası tespit edemedik. STXBP2, UNC13D ve STX11 genlerindeki mutasyonların trombosit degranülasyonunu etkilediği bilinmektedir. 2018 yılında yayınlanan bir makalede, artmış kanama eğilimi nedeniyle araştırılan 12 hastanın 8’inde familial HLH genlerinde heterozigot varyantlar tespit edildiği ve bu varyantlardan birinin de UNC13D genindeki c.1759G>A (R587C) varyantı olduğu belirtilmiştir(209). Hastada ayrıca STXBP2 geninde c.1298C>T (A433V) polimorfizmi de tespit edilmiştir. Genetik veri tabanlarında benign olarak sınıflandırılmıştır ancak 2012 yılında STXBP2 genindeki mutasyonların platelet sekresyonlarına etkisinin araştırıldığı bir makalede, dahil edilen 5 FHL hastasının birinde c.1298C>T (A433V) polimorfizmi olduğu da raporlanmıştır. Hastaların klinik özelliklerinden bahsedilmemiştir(210). Literatürde UNC13D geninde c.1759C>T (R587C) heterozigot mutasyonuna sahip bildirilmiş HLH vakası bulunmamaktadır ancak; hasta, şiddetli sepsis, DİK tablosunun tetiklediği bir familial HLH kliniği olabilir. Ayrıca literatürde yayınlanan vakalar doğrultusunda, hastanın koagülopati tablosuna; STXBP2 genindeki c.1298C>T (A433V) polimorfizminin katkısı olabileceğini düşünüyoruz.

Heterozigot mutasyon tespit edilen son hasta (O.Ö), 36 haftalık doğmuş bir prematüre bebektir. Genetik incelemesinde PRF1 geninde, c.1620A>G (p.Gln540=) heterozigot mutasyonu tespit edildi. Hastanın anne baba arasında akraba evliliği,

kardeş ölüm öyküsü yoktu. Down sendromu, hipotiroidi, duodenal atrezi, nozokomiyal sepsis, ürosepsis, peritonit, tübülopati tanıları ile yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlendi. Sepsis esnasında pansitopenisi, hepatosplenomegalisi, ve ferritin yüksekliği (1273 ng/mL) tespit edildi. PRF1 geninde, c.1620A>G (p.Gln540=) heterozigot mutasyonu Ensembl genetik veri tabanına göre “klinik önemi belirsiz mutasyon” olarak sınıflandırılmıştır ve literatürde bu mutasyona sahip HLH vakası tespit edilmemiştir(205). Literatürde yayınlanmış bir vaka olmamasına rağmen, bu hastanın pansitopeni, hepatosplenomegali ve hiperferritineminin eşlik ettiği klinik tablosunun, şiddetli sepsisin tetiklediği bir primer HLH kliniği olabileceğini, tetikleyici faktör ortadan kalktığında kendini sınırlandırmış olabileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda heterozigot mutasyona sahip 2 hastada ve bunların dışında mutasyon olmayan 3 hastada da HLH kliniği ile ilişkilendirilen polimorfizmler tespit edildi. STXBP2 ve STX11 genlerinde heterozigot mutasyonu olan 2 hasta (B.N., A.H.B.) eşlik eden UNC13D geninde c.175G>A (A59T) polimorfizmine rağmen hayattadır ve sağlıklıdır. Mutasyon olmaksızın sadece UNC13D geninde c.175G>A (A59T) polimorfizmi olan 2 hasta (E.Ü., H.S.) takibinde sepsis/septik şok nedeni eksitus olmuştur.

Hemofagositik lenfhistiyositoz kliniği ile ilişki polimorfizm tespit edilen hastadalardan biri (H.M), 30 haftalık doğan bir prematüre bebektir. PRF1 geninde c.272C>T (A91V) heterozigot polimorfizmi tespit edildi. Hastanın anne ile baba arasında akraba evliliği vardı, kardeş ölüm öyküsü yoktu. Canlandırma sonrası bakım, mekonyum bulaşı, prematürite, nozokomiyal sepsis, opere nekrotizan enterokolit, kolostomi, kolestaz, evre 1 intakranial kanama, kısmi adrenal yetmezlik tanıları ile yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlendi. Sepsis esnasında sitopeni tespit edilmedi. Hepatosplenomegalisi vardı. Sepsisle eş zamanlı bakılan ferritin 1108,2 ng/mL idi. PRF1 genindeki c.272C>T (A91V) polimorfizmi Ensembl genetik veri tabanına göre, SIFT tahmin programında “zararlı”, Poly-Phen tahmin programında “muhtemel zarar verici”, Meta LR tahmin programında “zarar verici” olarak sınıflandırılmıştır(205). PRF1 genindeki bu polimorfizminin, perforin ekspresyonunu azalttığı ve hücre sitotoksitesini olumsuz yönde etkilediği

gösterilmiştir(211–213). Literatürde, PRF1 geninde c.272C>T (A91V) polimorfizmi olup, HLH kliniği olan çok sayıda vaka yayınlanmıştır. Daha sıklıkla erişkin başlangıçlı HLH ile ilişkilendirilmiştir(214,215). Hatta T hücreli lenfoma, akut lenfoblastik lösemilerde de bu polimorfizm izlenmiş bu hastaların bazılarında ileri dönemlerde HLH gelişmiştir(100). Bu polimorfizm ayrıca otoimmün lenfoproliferatif sendrom, aplastik anemide de tanımlanmıştır(216). 25 ve 27 yaşlarında, atipik başlangıçlı familial HLH tanısı alan 2 kardeşte homozigot ve ebeveynlerinde heterozigot c.272C>T (A91V) polimorfizmi gösterilmiştir(14). 2004 yılında yayınlanan bir makaleye göre; 13 yaşında familial HLH tanısı alan (inatçı ateş, hepatosplenomegali, sitopeni, lenfadenopati, anemi, trombositopeni, sarılık ve kolestaz, hipertrigliseridemi, hipofibrinojenemi, hipoalbüminemi, hiperferritenemi) ve eksitus bir hastada PRF1 geninde ekson 2’de c.272C>T (A91V) homozigot ve ekson 3’de G695A heterozigot polimorfizmleri tespit edilmiştir. Aile taraması yapıldığında hastanın ikiz kardeşinde homozigot, anne-baba-erkek kardeşinde heterozigot A91V polimorfizmi izlenmiştir(217). Elli familial HLH hastası çocuğun incelendiği bir çalışmada, yaş aralığı 3-15 yaş olan 5 hastada, c.272C>T (A91V) heterozigot polimorfizmi izlenmiş; bu hastaların 3’ünde HLH ye yol açan biallelik başka mutasyonlar tespit edilmiş; ebeveynlerinin birinde de c.272C>T (A91V) heterozigot polimorfizmi gösterilmiştir. 2 hastada ise c.272C>T (A91V) heterozigot polimorfizmi dışında mutasyon gösterilememiştir. Hastaların çoğu hepatomegali, splenomegali, nütropeni ve hipofibrinojenemi ile başvurmuş; lenfopeni, hipertrigliseridemi, merkezi sinir sistemi tutulumu, ateş, anemi ve trombositopeni de yaygın olarak görülmüştür(218). Çalışmamızdaki hastanın literatürle benzer yanı; hepatosplenomegali, ferritin yüksekliğiYDİ. Literatürde bildirilen c.272C>T (A91V) polimorfizimli vakalara dayanarak, hastanın sepsisin tetiklediği bir primer HLH vakası olabileceği ve sepsis tedavisiyle klinik düzelme sağlanmış olabileceğini düşünüyoruz. Hastada, ilerleyen yaşlarda tetikleyici faktörler varlığında HLH geliştirme olasılığı bulunabilir.

Hemofagositik lenfohistiositoz kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen iki hastada, UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi mevcuttu. Bu polimorfizm Ensembl genetik veri tabanında SIFT tahmin programında ‘‘zararlı’’, diğer tahmin programlarında ‘‘benign, muhtemelen benign,

tolere edilebilir'' olarak sınıflandırılmıştır(205). UNC13D geninde mutasyon olan 15 çocuk hastanın değerlendirildiği bir seride; bir hastada homozigot, bir hastada heterozigot (4 aylık ve 2,5 aylık), UNC13D geninde c.175G>A (A59T) ''missense'' varyantı tespit edilmiş ve bu hastalarda Munc13-4 ekspresyonunun olmadığı gösterilmiştir. Hastalarda ateş, pansitopeni, splenomegali, hipertrigliseridemi, hipofibrinojenemi mevcuttu, ferritin düzeyleri belirtilmemiştir(219). Yine UNC13D mutasyonuna sahip hastaların ebeveynlerinin ve kardeşlerinin de incelendiği bir çalışmada; hastalardan birinin beş yaşındaki kız kardeşinde UNC13D geninde; c.175G>A (A59T) homozigot varyantı ve azalmış NK hücre sitotoksitesi ancak normal degranülasyon tespit edilmiştir. Bu sağlıklı kardeşte, ilerleyen dönemde HLH gelişme olasılığına dikkat çekilmiştir(220). UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi tespit edilen hastalardan biri (E.Ü), 36 haftalık olarak doğmuştu. Anne ile baba arasında akraba evliliği mevcuttu. Kardeş ölüm öyküsü yoktu ancak annede nedeni bilinmeyen dört tane intrauterin eksitus vardı. Prematürite, IUGR, neonatal pnömoni, RDS, sepsis, hiperinsülinemik hipoglisemi, bilateral koanal stenoz, down sendromu, hipotiroidi, opere duodenal atrezi, duodenal obstrüksiyon tanıları ile yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlendi. Takibinin 10. gününde cerrahi patolojilere bağlı sepsis nedeniyle eksitus oldu. Sepsis esnasında fizik muayenede hepatosplenomegali mevcuttu. Ferritin 765,4 ng/mL idi. Hastanın, literatürdeki vakalarla benzer olarak hepatosplenomegalisi, ferritin yüksekliği mevcuttu. UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi tespit edilen diğer hasta ise (H.S), 37 haftalık doğan bir bebektir. Anne ile baba arasında akraba evliliği mevcuttu. Kardeş ölüm öyküsü yoktu. Ciddi kraniosefal anomali: Arnold chiari, yarık damak- dudak, aplasia cutis, ensefalosel, mikroftalmi, hidrosefali tanıları ile yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlendi. 3 ay 20 günlükken sepsis, septik şok nedeni eksitus oldu. Hastanın sepsis esnasında hepatosplenomegalisi mevcuttu, takibinde gerilemedi. Ferritin 813 ng/mL idi ve eş zamanlı bakılan hemogramında anemisi mevcuttu. Ancak hastanın takibinde daha sonra bisitopeni ve pansitopenileri oldu. Bu hastada da literatürdeki vakalarla benzer olarak hepatosplenomegali, ferritin yüksekliği ve sitopeni mevcuttu. Verilere dayanarak bu eksitus olan hastaların şiddetli sepsis kliniklerinin, belki de birer primer HLH olabileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda hemogram bulguları, ferritin, rodwell skorlarında gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmadı. Bu durum muhtemelen örneklem sayısının yeterince fazla olmamasına bağlıdır.

Bizim bu çalışmadaki amacımız; sepsis ve HLH'nin benzerlikleri nedeniyle, tanıda ayırım gücü olması dolayısıyla, sepsisli hastalarda HLH tanısının atlanabiliyor olabileceğini araştırmak idi. Bu nedenle sepsis tanısı alan ve belirlediğimiz kriterleri sağlayan hastalarda yaptığımız genetik incelemeler ile; bahsettiğimiz üzere altı hastada heterozigot mutasyonlar, heterozigot mutasyonu olan iki hastada beraberinde HLH kliniği ile ilişkili polimorfizm, üç hastada mutasyon olmadan HLH kliniği ile ilişkilendirilen polimorfizmler tespit ettik. Literatürde yayınlanan vakalara göre heterozigot mutasyonları veya tek gen polimorfizmleri olan hastalarda geç başlangıçlı HLH görülebileceğini, HLH kliniğinin daha hafif ve yavaş seyirli olduğunu bilmekteyiz. Bunlara dayanarak heterozigot mutasyon veya polimorfizm tespit ettiğimiz hastaların kliniğinin sepsisin tetiklediği bir primer HLH kliniği olabileceğini ve sepsis tedavisi ile inflamasyonun kendi kendini sınırlanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Yine literatür verilerine dayanarak mutasyon ve polimorfizm tespit ettiğimiz ve hayatta olan hastalarda, ilerleyen yaşlarda tetikleyici faktörler varlığında HLH gelişme olasılığını göz ardı edemeyiz.

Sonuç olarak; sepsis ve HLH'nin klinik ve laboratuvar olarak ayırımı, sepsisli hastalarda HLH tanısı konulması zordur. Bilinen HLH kriterlerinin, HLH için spesifik olmadığını bilmekteyiz. Bu kriterler, HLH'nin ayırıcı tanıda olduğu akut hasta bir çocukta tümüyle sağlansa bile, aynı anda birden fazla etyolojik hastalık olasılığı göz önünde bulundurulmalıdır ve bu da tanısal zorluklara neden olmaktadır. 2021 yılında yayınlanan ve ferritin>500 ng/mL olan 163 çocuk hastanın dahil edildiği bir çalışmada, HLH tanı kriterlerinin tümünü sağlayan hastalarda dahi ileri inceleme ile SJIA, arjininosüksinat liyaz eksikliği, lizinürik protein intoleransı, kronik granülomatoz hastalık, NLRC4, immün yetmezlikler zemininde çeşitli enfeksiyonlar, riketsiyal erlichia enfeksiyonu, kronik hastalığında EBV enfeksiyonu gibi çeşitli tanımlar konulmuştur(221).

HLH'nin bilinen bir genetik nedeni olmaksızın enfeksiyonlar, maligniteler, altta yatan immün yetmezlik durumları gibi bir çok durumda da gerçekleşebileceğini

ve buna sekonder HLH denildiğini bilmekteyiz. Bu durumlarda dahi HLH gelişiminin altında, konakçı yanıtlarının tanımlanamamış genetik yönleriyle birlikte tetikleyiciler ortak rol oynayabilir. Klasik birincil HLH ile ilişkili yaygın homozigot gen mutasyonlarının ötesinde, çok çeşitli tek gen polimorfizmlerinin ve heterozigot mutasyonların da, tetikleyici faktörlerin varlığında artık HLH kliniğine yol açabileceğini bilmekteyiz. Bu durum primer ve sekonder HLH arasındaki ayrımı da bulanıklaştırmaktadır. WES (tüm ekzom analizi) ve WGS (tüm genom dizileme) gibi giderek daha yaygın kullanılan genetik analizler ile HLH genetiği hakkındaki bilgilerimiz de artacaktır.

Bu çalışmayı yapmaktaki asıl amacımız; sepsis tanılı yenidoğanlarda fazla invaziv tetkik yapmadan, HLH taraması için kullanabileceğimiz parametreler belirlemektir. Bunun için, sepsis tanısı koyulan ve yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda; 1) Serum ferritin>500 ng/mL 2) Akraba evliliği ve/veya kardeş ölüm öyküsü 3) Hepatosplenomegali kriterlerinin en az ikisini sağlayan hastalarda, HLH ile ilişkili genlerde, %27,2 ihtimalle heterozigot mutasyon, %22,7 ihtimalle HLH kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilmiştir.

Çalışma sonuçlarımıza dayanarak, biz yenidoğan sepsisli hastalarda; 1) Serum ferritin>500 ng/mL 2) Akraba evliliği ve/veya kardeş ölüm öyküsü 3) Hepatosplenomegali kriterlerinin en az ikisini sağlayan hastalarda, HLH ile ilgili ileri araştırma yapılmasını öneriyoruz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

1. Çalışmamızda, hastaların %40,9'unda anne ve baba arasında akraba evliliği tespit edildi.
2. Tüm hastalarda hepatosplenomegali mevcuttu.
3. Beş hastada (%22,7) izole anemi, üç hastada (%13,6) anemi ve trombositopeni, bir hastada (%4,5) pansitopeni, iki hastada (%9) izole trombositopeni tespit edildi.
4. On iki hastada literatürde “benign” kategorisinde sınıflandırılan polimorfizmler tespit edildi. Bunlar STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V) heterozigot veya homozigot polimorfizmi; UNC13D geninde c.2599G>A (K867E) homozigot veya heterozigot polimorfizmleri idi. 6 hastada STXBP2 ve UNC13D genlerinin her ikisinde, 6 hastada STXBP2 geninde polimorfizm tespit edildi.
5. Altı hastada heterozigot mutasyon tespit edildi. İki hastada, STXBP2 geninde c.1034C>T (T345M) heterozigot mutasyonu, bir hastada STXBP2 geninde c.1470G>A (R490Q) heterozigot mutasyonu, bir hastada STX11 geninde c.799G>A (V267M) heterozigot mutasyonu, bir hastada UNC13D geninde c.1759G>A (R587C) heterozigot mutasyonu, bir hastada da PRF1 geninde c.1620A>G (p.Gln540=) heterozigot mutasyonu mevcuttu. İki hastada (B.N., A.H.B.) heterozigot mutasyona ek olarak HLH kliniği ile ilişkili olabilen, genetik veri tabanlarında “zararlı” olarak sınıflandırılan c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi tespit edildi.

6. Heterozigot mutasyona sahip altı hastanın beşinde, literatürde “benign” olarak sınıflandırılan, STXBP2 geninde c.1576A>G (I526V) heterozigot/homozigot polimorfizmi, UNC13D geninde c.2599G>A (K867E) heterozigot polimorfizmi tespit edildi.
7. Heterozigot mutasyona sahip hastaların %50’sinde, anne ile baba arasında akraba evliliği mevcuttu.
8. Üç hastada, mutasyon olmaksızın, HLH kliniği ile ilişkili “zararlı” polimorfizmler tespit edildi. Bu hastaların birinde PRF1 geninde c.272C>T (A91V) heterozigot polimorfizmi, iki hastada da UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi mevcuttu.
9. Hemofagositik lenfhistiositoz kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edilen hastaların tümünde, anne ile baba arasında akraba evliliği mevcuttu.
10. Çalışmamızda hiçbir hastada kardeş ölüm öyküsü yoktu. Kardeş ölüm öyküsünün olmaması primer HLH’yi ekarte ettirmemektedir.
11. Altı hasta (%27,2) takibinde eksitus oldu. Eksitus olan dört hastada genetik veri tabanlarında “benign” olarak sınıflandırılan polimorfizmler ve iki hastada HLH kliniği ile ilişkili olabilecek UNC13D geninde c.175G>A (A59T) heterozigot polimorfizmi mevcuttu polimorfizm tespit edildi.

6.2. Öneriler

1. Yenidoğan sepsisi ve HLH’nin klinik ve laboratuvar benzerliklerinden dolayı, bu durumların ayrımı, yenidoğan sepsisli hastalarda HLH tanısı konulması güçtür. Yenidoğan sepsisi olan hastalarda, HLH olabileceğini de göz ardı etmemek gerekir.
2. Familial HLH’li bazı hastalar, kesin hastalık geliştirmeden önce tekrarlayan, sıklıkla kendi kendini sınırlayan, HLH benzeri ancak tanı

kriterlerini tam sağlamayan epizodlar yaşıyabileceğinden, bu formdaki HLH'yi tanıyabilmek önemlidir.

3. Sepsis tanıılı yenidoğanlarda fazla invaziv tetkik yapmadan, HLH taraması için kullanabileceğimiz parametreler belirlemek amacıyla yaptığımız çalışmada; 1)Serum ferritin>500 ng/mL 2)Akraba evliliği ve/veya kardeş ölüm öyküsü 3)Hepatosplenomegali kriterlerinin en az ikisini sağlayan hastalarda, HLH ile ilişkili genlerde, %27,2 ihtimalle heterozigot mutasyon, %22,7 ihtimalle HLH kliniği ile ilişkili polimorfizm tespit edildiğinden, ve literatürde bu mutasyonlara veya polimorfizmlere sahip HLH vakaları da bildirildiğinden, bu kriterlerden en az ikisini taşıyan hastalarda HLH ile ilgili ileri araştırma yapılmasını öneriyoruz.

7. KAYNAKLAR

1. Al-Samkari H, Berliner N. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Annu Rev.* 2018;13(27–49):1.1-1.23.
2. Canna SW, Marsh RA. Pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood.* 2020;135(16):1332–43.
3. Yang JJ, Lei DK, Ravi V, Maloney NJ, Crew A, Worswick S. Overlap between hemophagocytic lymphohistiocytosis and drug reaction and eosinophilia with systemic symptoms: a review. *Int J Dermatol.* 2020;60(8):1–8.
4. Iio K, Ariyama Y, Tomita H, Sakakibara H, Hataya H. Secondary haemophagocytic lymphohistiocytosis associated with metronidazole. *Postgrad Med J.* 2019;95(1125):390.
5. Astigarraga I, Gonzalez-Granado LI, Allende LM, Alsina L. Haemophagocytic syndromes: The importance of early diagnosis and treatment. *An Pediatr.* 2018;89(2):124.e1-124.e8.
6. Allen CE, Marsh R, Dawson P, Bollard CM, Shenoy S, Roehrs P, et al. Reduced-intensity conditioning for hematopoietic cell transplant for HLH and primary immune deficiencies. *Blood.* 2018;132(13):1438–51.
7. Gürgey A, Göğüş S, Özyürek E, Aslan D, Gümrük F, Çetin M, et al. Primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in Turkish children. *Pediatr Hematol Oncol.* 2003;20(5):367–71.
8. Abdullatif H, Mohsen N, El-Sayed R, El-Mougy F, El-Karaksy H. Haemophagocytic lymphohistiocytosis presenting as neonatal liver failure: A case series. *Arab J Gastroenterol.* 2016;17(2):105–9.
9. Iwatani S, Uemura K, Mizobuchi M, Yoshimoto S, Kawasaki K, Kosaka Y, et al. Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Presenting as Hydrops Fetalis. *Am J Perinatol Reports.* 2015;05(01):e022–4.
10. Malloy CA, Polinski C, Alkan S, Manera R, Challapalli M. Hemophagocytic lymphohistiocytosis presenting with nonimmune hydrops fetalis. *J Perinatol.* 2004;24(7):458–60.
11. Bechara E, Dijoud F, De Saint Basile G, Bertrand Y, Pondarré C. Hemophagocytic lymphohistiocytosis with munc13-4 mutation: A cause of recurrent fatal hydrops fetalis. *Pediatrics.* 2011;128(1):e251-4.

12. Wang Y, Wang Z, Zhang J, Wei Q, Tang R, Qi J, et al. Genetic features of late onset primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in adolescence or adulthood. *PLoS One*. 2014;9(9):e107386.
13. Zhang K, Jordan MB, Marsh RA, Johnson JA, Kissell D, Meller J, et al. Hypomorphic mutations in PRF1, MUNC13-4, and STXBP2 are associated with adult-onset familial HLH. *Blood*. 2011;118(22):5794–8.
14. Clementi R, Emmi L, Maccario R, Liotta F, Moretta L, Danesino C, et al. Adult onset and atypical presentation of hemophagocytic lymphohistiocytosis in siblings carrying PRF1 mutations. *Blood*. 2002;100(6):2266–7.
15. Zhang K, Chandrakasan S, Chapman H, Valencia CA, Husami A, Kissell D, et al. Synergistic defects of different molecules in the cytotoxic pathway lead to clinical familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2014;124(8):1331–4.
16. Bas AY, Demirel N, Zenciroglu A, Yarali N, Metin A. Familial haemophagocytic lymphohistiocytosis in two newborn siblings: A good mimicker of newborn sepsis. *Ann Trop Paediatr*. 2007;27(3):231–5.
17. Lee NM, Yi DY, Yoon SW, Chae SA, Lim IS, Choi YS. Haemophagocytic lymphohistiocytosis in a preterm infant: A case report. *J Pak Med Assoc*. 2018;68(1):127–9.
18. McLean J, Katebian R, Suh E, Mirza K, Amin S. Neonatal Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Neoreviews*. 2019;20(6):e316–25.
19. Dalili H, Zarrini P, Mosayebi Z, Ramyar A, Dalili H. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in a Neonate: Case Report. *Acta Med Iran*. 2017;55(1):82–4.
20. Karapinar B, Yilmaz D, Balkan C, Akin M, Ay Y, Kvakli K. An unusual cause of multiple organ dysfunction syndrome in the pediatric intensive care unit: Hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Crit Care Med*. 2009;10(3):285–90.
21. Whaley BF. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in the neonate. *Adv Neonatal Care*. 2011;11(2):101–7.
22. Friedman RM, Steigbigel NH. Histiocytic medullary reticulosis. *Am J Med*. 1965;38(1):130–3.
23. Farquhar JW, Claireaux AE. Familial Hemophagocytic Reticulosis. *Arch Dis Child*. 1952;27(136):519–25.
24. Risdall RJ, McKenna RW, Nesbit ME, Krivit W, Balfour HH, Simmons RL, et al. Virus-associated hemophagocytic syndrome: A benign histiocytic proliferation distinct from malignant histiocytosis. *Cancer*. 1979;44(3):993–1002.

25. Morimoto A, Nakazawa Y, Ishii E. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: Pathogenesis, diagnosis, and management. *Pediatr Int*. 2016;58(9):817–25.
26. Griffin G, Shenoi S, Hughes GC. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: An update on pathogenesis, diagnosis, and therapy. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2020 Aug 1;34(4):101515.
27. Stepp SE, Dufourcq-Lagelouse R, Deist F Le, Bhawan S, Certain S, Mathew PA, et al. References and Notes Perforin Gene Defects in Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Science*. 1999;286(5446):1957–9.
28. Côte M, Ménager MM, Burgess A, Mahlaoui N, Picard C, Schaffner C, et al. Munc18-2 deficiency causes familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 and impairs cytotoxic granule exocytosis in patient NK cells. *J Clin Invest*. 2009;119(12):3765–73.
29. Feldmann J, Callebaut I, Raposo G, Certain S, Bacq D, Dumont C, et al. Munc13-4 is essential for cytolytic granules fusion and is mutated in a form of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL3). *Cell*. 2003;115(4):461–73.
30. Zur Stadt U, Schmidt S, Kasper B, Beutel K, Diler AS, Henter J-I, et al. Linkage of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL) type-4 to chromosome 6q24 and identification of mutations in syntaxin 11. *Hum Mol Genet*. 2005;14(6):827–34.
31. Zur Stadt U, Rohr J, Seifert W, Koch F, Grieve S, Pagel J, et al. Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Type 5 (FHL-5) Is Caused by Mutations in Munc18-2 and Impaired Binding to Syntaxin 11. *Am J Hum Genet*. 2009;85(4):482–92.
32. Heeg M, Ammann S, Klemann C, Panning M, Falcone V, Hengel H, et al. Is an infectious trigger always required for primary hemophagocytic lymphohistiocytosis? Lessons from in utero and neonatal disease. *Pediatr blood cancer*. 2018;65(11):e27344.
33. Canna SW, Almeida de Jesus A, Gouni S, Brooks SR, Marrero B, Liu Y, et al. An activating NLRC4 inflammasome mutation causes autoinflammation with recurrent macrophage activation syndrome. *Nat Genet*. 2014;46(10):1140–6.
34. Canna SW, Girard C, Malle L, de Jesus A, Romberg N, Kelsen J, et al. Life-threatening NLRC4-associated hyperinflammation successfully treated with IL-18 inhibition. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(5):1698–701.
35. Liang J, Alfano DN, Squires JE, Riley MM, Parks T, Kofler J, et al. Novel NLRC4 Mutation Causes a Syndrome of Perinatal Autoinflammation With Hemophagocytic Lymphohistiocytosis, Hepatosplenomegaly, Fetal Thrombotic Vasculopathy, and Congenital Anemia and Ascites. *Pediatr Dev Pathol*. 2017;20(6):498–505.

36. Henderson LA, Cron RQ. Macrophage Activation Syndrome and Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Childhood Inflammatory Disorders: Diagnosis and Management. *Pediatr Drugs*. 2020;22(1):29–44.
37. Jordan MB, Allen CE, Greenberg J, Henry M, Hermiston ML, Kumar A, et al. Challenges in the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis: Recommendations from the North American Consortium for Histiocytosis (NACHO). *Pediatr Blood Cancer*. 2019;66(11):1–12.
38. Roupheal NG, Talati NJ, Vaughan C, Cunningham K, Moreira R, Gould C. Infections associated with haemophagocytic syndrome. *Lancet Infect Dis*. 2007;7(12):814–22.
39. Dilber E, Erduran E, Kalyoncu M, Aynaci FM, Ökten A, Ahmetoğlu A. Hemophagocytic Syndrome as an Initial Presentation of Miliary Tuberculosis Without Pulmonary Findings. 2009;34(9):689-692.
40. Erduran E, Makuloglu M, Mutlu M. Case Report A Rare Hematological Manifestation of Brucellosis: Reactive Hemophagocytic Syndrome. *J Microbiol Immunol Infect*. 2010;43(2):159–62.
41. Erduran E, Çakır M. Reactive hemophagocytic lymphohistiocytosis and Crimean Congo hemorrhagic fever. *Int J Infect Dis*. 2010;14S(3):e349–50.
42. Ozdemir H, Çiftçi E, Ince EU, Ertem M, Ince E, Doğru U. Hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection. *J Pediatr Hematol Oncol* . 2011;33(2):135-7.
43. Hauch H, Skrzypek S, Woessmann W, Lehmborg K, Ehl S, Speckmann C, et al. Tuberculosis-Associated HLH in an 8-Month-Old Infant: A Case Report and Review. *Front Pediatr*. 2020;8(556155.):1–8.
44. Brandalise SR, Zama D, Gordon PM, Ishii E. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Children: Pathogenesis and Treatment. *Front Pediatr*. 2016;4(47):1–9.
45. Strenger V, Merth G, Lackner H, Aberle SW, Kessler HH, Seidel MG, et al. Malignancy and chemotherapy induced haemophagocytic lymphohistiocytosis in children and adolescents-a single centre experience of 20 years. *Ann Hematol*. 2018;97(6):989–98.
46. Lehmborg K, Sprekels orn, Nichols KE, Woessmann W, Suttorp M, Bernig T, et al. Malignancy-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis in children and adolescents. *Br J Haematol*. 2015;170(4):539–49.
47. Ali S, AlThubaiti S, Renzi S, Krueger J, Chiang KY, Naqvi A, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis is a sign of poor outcome in pediatric Epstein-Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant*. 2019;23(1):1–7.

48. Hazen MM, Woodward AL, Hofmann I, Degar BA, Grom A, Filipovich AH, et al. Mutations of the Hemophagocytic Lymphohistiocytosis-Associated Gene UNC13D in a Patient With Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;58(2):567–70.
49. Kaufman KM, Linghu B, Szustakowski JD, Husami A, Yang F, Zhang K, et al. Whole-Exome Sequencing Reveals Overlap Between Macrophage Activation Syndrome in Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis and Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(12):3486–95.
50. Vastert SJ, Van Wijk R, D'urbano LE, De Vooght KMK, De Jager W, Ravelli A, et al. Mutations in the perforin gene can be linked to macrophage activation syndrome in patients with systemic onset juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology.* 2010;49(3):441–9.
51. Rabah F, Al-Hashmi N, Beshlawi I. Wolman's disease with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Hematol Oncol.* 2014;31(6):576–8.
52. Karaman S, Urganc N, Kutluk G, Çetinkaya F. Niemann-Pick disease associated with hemophagocytic syndrome. *Turk J Hematol.* 2010;27(4):303–7.
53. Düzenli Kar Y, Özdemir ZC, Kiral E, Kiliç Yildirim G, Dinleyici E, Bör Ö. Hemophagocytic Lymphohystiocytosis Associated with Type Ia Glycogen Storage Disease. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2019;41(4):e260–2.
54. Gholamreza B, Ghasem MA. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Syndrome Associated with Gaucher Disease Type 2. *Turkish J Hematol.* 2014;31(3):307–8.
55. Duval M, Fenneteau O, Doireau V, Faye A, Emilie D, Yotnda P, et al. Intermittent hemophagocytic lymphohistiocytosis is a regular feature of lysinuric protein intolerance. *J Pediatr.* 1999;134(2):236–9.
56. Gokce M, Unal O, Hismi B, Gumruk F, Coskun T, Balta G, et al. Secondary hemophagocytosis in 3 patients with organic acidemia involving propionate metabolism. *Pediatr Hematol Oncol.* 2012;29(1):92–8.
57. Rioualen S, Dufau J, Flatres C, Lavenant P, Misery L, Roué JM. DRESS complicated by hemophagocytic lymphohistiocytosis in an infant treated for congenital toxoplasmosis. *Ann Dermatol.* 2017;144(12):784–7.
58. Lakhoua G, Aouinti I, Sahnoun R, Kastalli S, Daghfous R, Zaïem A. A hemophagocytosis syndrome attributed to phenobarbital. *Press Medicale.* 2016;45(3):379–81.

59. Penel-Page M, Ben Said B, Phan A, Hees L, Hartmann-Merlin C, Girard S, et al. Correctly address the cause of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Arch Pediatr*. 2017;24(3):254–9.
60. Meeths M, Horne A, Sabel M, Bryceson YT, Henter J. Incidence and Clinical Presentation of Primary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Sweden. *Pediatr Blood Cancer*. 2015;62(2):346–52.
61. Niece JA, Rogers ZR, Ahmad N, Langevin A-M, Kenneth L McClain. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Texas: Observations on Ethnicity and Race. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;54(3):424–428.
62. Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, Filipovich AH, McClain KL. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2011;118(15):4041–52.
63. Gurgey A, Unal S, Okur H, Orhan D, Yurdakok M. Neonatal primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in Turkish children. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2008;30(12):871–6.
64. Ferreri AJM, Dognini GP, Campo E, Willemze R, Seymour JF, Bairey O, et al. Variations in clinical presentation, frequency of hemophagocytosis and clinical behavior of intravascular lymphoma diagnosed in different geographical region. *Haematologica*. 2007;92(4):486–92.
65. Golstein P, Griffiths GM. An early history of T cell-mediated cytotoxicity. *Nat Rev Immunol*. 2018;18(8):527–35.
66. Prager I, Watzl C. Mechanisms of natural killer cell-mediated cellular cytotoxicity. *J Leukoc Biol*. 2019;105(6):1319–29.
67. Horne A, Zheng C, Lorenz I, fstedt M Lo, Montgomery SM, Janka G, et al. Subtyping of natural killer cell cytotoxicity deficiencies in haemophagocytic lymphohistocytosis provides therapeutic guidance. *Br J Haematol*. 2005;129(5):658–66.
68. Hasegawa D, Kojima S, Tatsumi E, Hayakawa A, Kosaka Y, Nakamura H, et al. Elevation of the Serum Fas Ligand in Patients With Hemophagocytic Syndrome and Diamond-Blackfan Anemia. *Blood*. 1998;91(8):2793–9.
69. F Fujiwara, S Hibi SI. Hypercytokinemia in Hemophagocytic Syndrome. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1993;15(1):92–8.
70. Bracaglia C, De Graaf K, Marafon DP, Guilhot F, Ferlin W, Prencipe G, et al. Elevated circulating levels of interferon- γ and interferon- γ -induced chemokines characterize patients with macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(1):166–72.
71. Xu XJ, Tang YM, Song H, Yang SL, Xu WQ, Zhao N, et al. Diagnostic accuracy of a specific cytokine pattern in hemophagocytic lymphohistiocytosis in children. *J Pediatr*. 2012;160(6):984-990.e1.

72. Merli P, Gentile L, Quagliarella F, Cefalo MG, Strocchio L, Locatelli F, et al. QuantiFERON-TB Gold can help clinicians in the diagnosis of haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol*. 2020;191(2):e64–7.
73. Lin M, Park S, Hayden A, Giustini D, Trinkaus M, Pudek M, et al. Clinical utility of soluble interleukin-2 receptor in hemophagocytic syndromes: a systematic scoping review. *Ann Hematol*. 2017;96(8):1241–51.
74. Gao Z, Wang Y, Wang J, Zhang J, Wang Z. Soluble ST2 and CD163 as Potential Biomarkers to Differentiate Primary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis from Macrophage Activation Syndrome. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2019;11(1):e2019008.
75. Rood JE, Rao S, Paessler M, Kreiger PA, Chu N, Stelekati E, et al. ST2 contributes to T-cell hyperactivation and fatal hemophagocytic lymphohistiocytosis in mice. *Blood*. 2016;127(4):426–35.
76. Weiss ES, Girard-Guyonvarc' C, Holzinger D, De Jesus AA, Tariq Z, Picarsic J, et al. Interleukin-18 diagnostically distinguishes and pathogenically promotes human and murine macrophage activation syndrome. *Blood*. 2018;131(13):1442–55.
77. Put K, Avau A, Brisse E, Mitera T, Phanie Put S, Proost P, et al. Cytokines in systemic juvenile idiopathic arthritis and hemophagocytic lymphohistiocytosis: tipping the balance between interleukin-18 and interferon- γ . *Rheumatology*. 2015;54(8):1507–17.
78. Ohadi M, Lalloz MRA, Sham P, Zhao J, Dearlove AM, Shiach C, et al. Localization of a Gene for Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis at Chromosome 9q21.3-22 by Homozygosity Mapping. *Am J Hum Genet*. 1999;64(1):165–71.
79. Zhang L, Li Z, Liu W, Ma H, Wang T, Zhang R. Genetic characterization of pediatric primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in China: a single-center study. *Ann Hematol*. 2019;98(10):2303–10.
80. Almalky MA, Saleh SHA, Baz EG, Fakhr AE. Clinico-laboratory profile and perforin gene mutations of pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis cases: A five-year single center study. *Pan Afr Med J*. 2020;36(354):1–12.
81. Kaya Z, Bay A, Albayrak M, Kocak U, Yenicesu I, Gursel T. Prognostic factors and long-term outcome in 52 Turkish children with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Crit Care Med*. 2015;16(6):e165–73.
82. Branch B, Epidemiology C, Nakamura L, Bertling A, Care I. To the editor : First characterization of platelet secretion defect in patients with familial hemophagocytic. 2015;125(2):412–5.
83. Tang BL. A unique SNARE machinery for exocytosis of cytotoxic granules and platelets granules. *Mol Membr Biol*. 2015;32(4):120–6.

84. De Saint Basile G, Sepulveda FE, Maschalidi S, Fischer A. Cytotoxic granule secretion by lymphocytes and its link to immune homeostasis. *F1000Res*. 2015;4(F1000 Faculty Rev):930.
85. Cetica V, Sieni E, Pende D, Danesino C, De Fusco C, Locatelli F, et al. Genetic predisposition to hemophagocytic lymphohistiocytosis: Report on 500 patients from the Italian registry. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(1):188-196.e4.
86. Kostova EB, Beuger BM, Veldhuis M, van der Werff ten Bosch J, Kühnle I, van den Akker E, et al. Intrinsic defects in erythroid cells from familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 patients identify a role for STXBP2/Munc18-2 in erythropoiesis and phospholipid scrambling. *Exp Hematol*. 2015;43(12):1072-1076.e2.
87. Stepensky P, Bartram J, Barth TF, Lehmborg K, Walther P, Amann K, et al. Persistent Defective Membrane Trafficking in Epithelial Cells of Patients With Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Type 5 Due to STXBP2/MUNC18-2 Mutations. *Pediatr Blood Cancer*. 2013;60(7):1215–22.
88. Vogel GF, Van Rijn JM, Krainer IM, Janecke AR, Posovszky C, Cohen M, et al. Disrupted apical exocytosis of cargo vesicles causes enteropathy in FHL5 patients with Munc18-2 mutations. *JCI Insight* . 2017;2(14):e94564.
89. Pagel J, Beutel K, Lehmborg K, Koch F, Maul-Pavicic A, Rohlf A-K, et al. Distinct mutations in STXBP2 are associated with variable clinical presentations in patients with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 (FHL5). *Blood*. 2012;119(25):6016-24.
90. Chinn IK, Eckstein OS, Peckham-Gregory EC, Goldberg BR, Forbes LR, Nicholas SK, et al. Genetic and mechanistic diversity in pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2018;132(1):89–100.
91. Tang X, Guo X, Li Q, Huang Z. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 in a Chinese Tibetan patient caused by a novel compound heterozygous mutation in STXBP2. *Med*. 2019;98(43):e17674.
92. Mukda E, Trachoo O, Pasomsub E, Tiyasirichokchai R, Iemwimangsa N, Sosothikul D, et al. Exome sequencing for simultaneous mutation screening in children with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Int J Hematol*. 2017;106(2):282–90.
93. Hu X, Liu D, Jiang X, Gao B, Chen C. Identification of a novel nonsense mutation in the UNC13D gene from a patient with hemophagocytic lymphohistiocytosis: a case report. *BMC Med Genet*. 2018;19(1):82.
94. Jin Z, Wang Y, Wang J, Zhang J, Wu L, Gao Z, et al. Primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: the utility of family surveys in a single-center study from China. *Orphanet J Rare Dis*. 2018;13(1):17.

95. Horne A, Ramme KG, Rudd E, Zheng C, Wali Y, Al-Lamki Z, et al. Characterization of PRF1, STX11 and UNC13D genotype-phenotype correlations in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol*. 2008;143(1):75–83.
96. Manno EC, Salfa I, Palma P, Bertaina A, Lombardi A, Moretta F, et al. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 diagnosed at school age: A case report. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2014;36(2):e128-30.
97. Lu G, Xie Z De, Shen KL, Ye LJ, Wu RH, Liu CY, et al. Mutations in the perforin gene in children with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Chin Med J (Engl)*. 2009;122(23):2851–5.
98. Jin Z, Wang Y, Wang J, Zhang J, Wu L, Gao Z, et al. Primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: The utility of family surveys in a single-center study from China. *Orphanet J Rare Dis*. 2018;13(1):1–11.
99. Trizzino A, Zur Stadt U, Ueda I, Risma K, Janka G, Ishii E, et al. Genotype-phenotype study of familial haemophagocytic lymphohistiocytosis due to perforin mutations. *J Med Genet*. 2008;45(1):15–21.
100. Chia J, Kim PY, Whisstock JC, Dunstone MA, Trapani JA, Voskoboinik I. Temperature sensitivity of human perforin mutants unmasks subtotal loss of cytotoxicity, delayed FHL, and a predisposition to cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(24):9809–14.
101. Shabrish S, Kelkar M, Yadav RM, Bargir UA, Gupta M, Dalvi A, et al. The Spectrum of Clinical, Immunological, and Molecular Findings in Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: Experience From India. *Front Immunol*. 2021;12:612583.
102. Spessott WA, Sanmillan ML, McCormick ME, Patel N, Villanueva J, Zhang K, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis caused by dominant-negative mutations in STXBP2 that inhibit SNARE-mediated membrane fusion. *Blood*. 2015;125(10):1566–77.
103. De Benedetti F, Grom AA, Cron RQ, Chatham WW, Zhang K, Li H, et al. A Heterozygous RAB27A Mutation Associated with Delayed Cytolytic Granule Polarization and Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *J Immunol*. 2016;196(6):2492–503.
104. Rohr J, Beutel K, Maul-pavicic A, Vraetz T, Thiel J, Warnatz K, et al. Atypical familial hemophagocytic lymphohistiocytosis due to mutations in UNC13D and STXBP2 overlaps with primary immunodeficiency diseases. *Haematologica*. 2010;95(12):2080–7.

105. Xu X, Xue H, Zhao W, Wang H, Shi H, Wang N, et al. Clinical presentation and outcome of pediatric patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis in China : A retrospective multicenter study on behalf of the Histiocytosis Study Group of the Chinese Pediatric Society. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64(4):1–6.
106. Sieni E, Cetica V, Hackmann Y, Coniglio ML, Da Ros M, Ciambotti B, et al. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis: When rare diseases shed light on immune system functioning. *Front Immunol*. 2014;16(5):167.
107. Zhang K, Chandrakasan S, Chapman H, Valencia CA, Husami A, Kissell D, et al. Synergistic defects of different molecules in the cytotoxic pathway lead to clinical familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2014;124(8):1331–4.
108. Xu XJ, Tang YM. Dilemmas in diagnosis and management of hemophagocytic lymphohistiocytosis in children. *World J Pediatr*. 2020;16(4):333–40.
109. Larroche C, Ziol M, Zidi S, Dhote R, Roulot D. Liver involvement in hemophagocytic syndrome. *Gastroenterol Clin Biol*. 2007;31(11):959–66.
110. Broglie L, Vitola B, Thakar MS, Basel D, Szabo S, Agni R, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis mimicking neonatal hemochromatosis. *Pediatr Hematol Oncol*. 2019;36(7):451–6.
111. Perrella SL, Graddipedi ARH, Gridneva Z. Liver failure Among Young Saudi Infants: Etiology, Clinical Presentation, and Outcome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2020;70(2):e26–32.
112. Horne A, Wickström R, Jordan MB, Yeh EA, Naqvi A, Henter J-I, et al. How to Treat Involvement of the Central Nervous System in Hemophagocytic Lymphohistiocytosis? *Curr Treat Options Neurol*. 1940;19(1):3.
113. Gurgey A, Aytac S, Balta G, Oguz K, Gumruk F. Central nervous system involvement in Turkish children with primary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Child Neurol*. 2008;23(11):1293–9.
114. Zhao Y, Zhang Q, Li Z, Zhang L, Lian H, Ma H, et al. Central Nervous System Involvement in 179 Chinese Children with Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Chin Med J*. 2018;131(15):1786–92.
115. Deiva K, Mahlaoui N, Beaudonnet F, De Saint Basile G, Caridade G, Moshous D, et al. CNS involvement at the onset of primary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Neurology*. 2012;78(15):1150–6.
116. Feng W, Yang X, Li J, Gong S, Wu Y, Zhang W, et al. Neurologic Manifestations as Initial Clinical Presentation of Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Type2 Due to PRF1 Mutation in Chinese Pediatric Patients. *Front Genet*. 2020;11:126.

117. Wang J, Tuo H, Wu L, Wang X, Wang Z. Neurological symptoms of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 2. *J Integr Neurosci*. 2020;19(1):131–5.
118. Chung TW. CNS Involvement in Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: CT and MR Findings. *Korean J Radiol*. 2007;8(1):78–81.
119. F Y Wen, Xiao L, Xian Y, Wen XH, Guan XM, Liao ML, et al. Prognosis of the central nervous system involvement in patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Chinese J Hematol*. 2017;38(10):848–52.
120. Blincoe A, Heeg M, Campbell PK, Hines M, Khojah A, Klein-Gitelman M, et al. Neuroinflammatory Disease as an Isolated Manifestation of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *J Clin Immunol*. 2020;40(6):901–16.
121. Lee G, Lee SE, Ryu KH, Yoo ES. Posterior reversible encephalopathy syndrome in pediatric patients undergoing treatment for hemophagocytic lymphohistiocytosis: Clinical outcomes and putative risk factors. *Blood Res*. 2013;48(4):258–65.
122. Zerah ML, DeWitt CA. Cutaneous findings in hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Dermatology*. 2015;230(3):234–43.
123. Dourra M, Mussad S, Singer R. Cutaneous Manifestations in a Patient With Reactive Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Cureus*. 2020;12(8):e10089.
124. Braunberger T, Hawkes JE, Clarke JT, Boynton KK, Leiferman KM. Cutaneous Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: Bean Bags From the Bone. *JAMA Dermatology*. 2016;152(8):950-2.
125. Bay A, Calka O, Akdeniz N, Öner AF, Kirimi E. Newborn infant with hemophagocytic lymphohistiocytosis and generalized skin eruptions. *J Dermatol*. 2006;33(9):628–31.
126. Larson KN, Gaitan SR, Stahr BJ, Morrell DS. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in a Newborn Presenting as “Blueberry Muffin Baby.” *Pediatr Dermatol*. 2017;34(3):e150–1.
127. Morrell DS, Pepping MA, Scott J, Paul J, Esterly NB, Drolet BA. Cutaneous Manifestations of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Arch Dermatol*. 2002;138(9):1208–12.
128. Karras A. What nephrologists need to know about hemophagocytic syndrome. *Nat Rev Nephrol*. 2009;5(6):329–36.
129. Hashimoto H, Sugiura T, Matsushima H. Hemophagocytic syndrome with acute kidney injury accompanied by erythrophagocytic macrophages in the tubular lumen. *CEN Case Reports*. 2019;8(4):252–5.

130. Thaunat O, Delahousse M, Fakhouri F, Martinez F, Stephan JL, Noël LH, et al. Nephrotic syndrome associated with hemophagocytic syndrome. *Kidney Int.* 2006;69(10):1892–8.
131. Fitzgerald NE, McClain KL, Fitzgerald NE, Singleton EB, McClain KL. Imaging characteristics of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Radiol.* 2003;33(6):392–401.
132. Al-Herz W, Yasumi T, Giardino G, De Luca M, Cirillo E, Palma P, et al. Two Brothers with atypical UNC13D-Related Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Characterized by Massive Lung and Brain Involvement. *Front Immunol.* 2017;8:1892.
133. Zenz WM, Urban CE, Popper HH, Holter W, Petek W, Zach MS. Fatal pulmonary involvement in a patient with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Pulmonol.* 1994;17(3):197–201.
134. Bergsten E, Horne A, Aricó M, Aricó A, Astigarraga I, Maarten Egeler R, et al. Confirmed efficacy of etoposide and dexamethasone in HLH treatment: long-term results of the cooperative HLH-2004 study. *Blood.* 2017;130(25):2728–38.
135. Trottestam H, Horne AC, Aricò M, Egeler RM, Filipovich AH, Gadner H, et al. Chemoimmunotherapy for hemophagocytic lymphohistiocytosis: Long-term results of the HLH-94 treatment protocol. *Blood.* 2011;118(17):4577–84.
136. Palazzi DL, McClain KL, Kaplan SL. Hemophagocytic Syndrome in Children: An Important Diagnostic Consideration in Fever of Unknown Origin. *Clin Infect Dis.* 2003;36(3):306–12.
137. Cohen LA, Gutierrez L, Weiss A, Leichtmann-Bardoogo Y, Zhang DL, Crooks DR, et al. Serum ferritin is derived primarily from macrophages through a nonclassical secretory pathway. *Blood.* 2010;116(9):1574–84.
138. Wu JR, Yuan LX, Ma ZG, Chen XX, Gu L GJ. GDF15-Mediated Upregulation of Ferroportin Plays a Key Role in the Development of Hyperferritinemia in Children With Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer.* 2013;60(6):940–5.
139. Carl E Allen, Xiaoying Yu, Claudia A Kozinetz KLM. Highly Elevated Ferritin Levels and the Diagnosis of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer.* 2008;50(6):1227–35.
140. Basu S, Maji B, Barman S, Ghosh A. Hyperferritinemia in Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: A Single Institution Experience in Pediatric Patients. *Indian J Clin Biochem.* 2018;33(1):108–12.
141. Zhao XX, Lian HY, Zhang L, Ma HH, Wang D, Zhao YZ, et al. Significance of serum ferritin level in hemophagocytic lymphohistiocytosis diagnosis. *Int J Lab Hematol.* 2019;41(4):503–8.

142. W S Lee, P J McKiernan DAK. Serum ferritin level in neonatal fulminant liver failure. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 2001;85(3):F226.
143. Kenneth L McClain OE. Clinical features and diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis [Internet]. UpToDate. 2020. <https://www.uptodate.com>
144. Stapp J, Wilkerson S, Stewart D, Coventry S, Mo JQ, Bove KE. Fulminant neonatal liver failure in siblings: Probable congenital hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Dev Pathol*. 2006;9(3):239–44.
145. Henter J, Carlson LA, Soder O, Nilsson-ehle P, Elinder G. Lipoprotein Alterations and Plasma Lipoprotein Lipase Reduction in Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Acta Paediatr Scand*. 1991;80(6–7):675–81.
146. Valade S, Mariotte E, Azoulay E. Coagulation Disorders in Hemophagocytic Lymphohistiocytosis/Macrophage Activation Syndrome. *Crit Care Clin*. 2020;36(2):415–26.
147. Wang Y, Liu D, Zhu G, Yin C, Sheng G, Zhao X. Significance of soluble CD163 and soluble CD25 in diagnosis and treatment of children with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2015;53(11):824–9.
148. Suzuki N, Morimoto A, Ohga S, Kudo K, Ishida Y, Ishii E. Characteristics of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Neonates: A Nationwide Survey in Japan. *J Pediatr*. 2009;155(2):235–9.
149. Henter J-I, Horne A, Aricó M, Egeler RM, Filipovich AH, Imashuku S, et al. HLH-2004: Diagnostic and Therapeutic Guidelines for Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;48(2):124–31.
150. Vermeulen MJ, De Haas V, Mulder MF, Flohil C, Fetter WPF, Van de Kamp JM. Hydrops fetalis and early neonatal multiple organ failure in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Eur J Med Genet*. 2009;52(6):417–20.
151. Yetgin S, Aytac S, Gurakan F, Yurdakok M. Nonimmune hydrops fetalis in two cases of consanguineous parents and associated with hereditary spherocytosis and hemophagocytic hystiocytosis. *J Perinatol*. 2007;27(4):252–4.
152. Bode SFN, Ammann S, Al-Herz W, Bataneant M, Dvorak CC, Gehring S, et al. The syndrome of hemophagocytic lymphohistiocytosis in primary immunodeficiencies: Implications for differential diagnosis and pathogenesis. *Haematologica*. 2015;100(7):978–88.
153. Roberts D, Harris NL. Newborn Twins with Thrombocytopenia, Coagulation Defects, and Hepatosplenomegaly. *N Engl J Med*. 2004;351(19):2025–2025.

154. Henter JI, Nennesmo I. Neuropathologic findings and neurologic symptoms in twenty-three children with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Pediatr*. 1997;130(3):358–65.
155. Nair PC, Wali Y, Zechariah M, Zakia-Al-Lamki. Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) presenting on the 3rd day of life. *Indian J Pediatr*. 2001;68(10):995–7.
156. Jakovcic S. Lipid Metabolism in the Developing Fetus and the Newborn. *Pediatr Clin North Am*. 1965;12(3):585–94.
157. Filipovich AH. Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) and related disorders. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr* . 2009;1:127–31.
158. Gars E, Purington N, Scott G, Chisholm K, Gratzinger D, Martin BA, et al. Bone marrow histomorphological criteria can accurately diagnose hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Haematologica*. 2018;103(10):1635–41.
159. Simon AC, Delhi Kumar CG, Basu D, Ramesh Kumar R. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Children: Clinical Profile and Outcome. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2020;42(5):e281–5.
160. Henter J-I, Samuelsson-Horne A, Aricò M, Maarten R, Filipovich AH, Gadner H, et al. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis with HLH-94 immunochemotherapy and bone marrow transplantation. *Am Soc Hematol*. 2002;100(7):2367–73.
161. Kahan B. Drug therapy: cyclosporine. *N Engl J Med*. 1989;321(25):1725–38.
162. Oliviera A de, Fechine LM, Neto FC, Nicodemus JM, Silva GB, Silva LS V. Posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) induced by cyclosporine use in a patient with collapsing focal glomerulosclerosis. *Int Urol Nephrol*. 2008;40(4):1095–8
163. Mahlaoui N, Ouachée-Chardin M, Basile GD Saint, Neven B, Picard C, Blanche S, et al. Immunotherapy of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with antithymocyte globulins: A single-center retrospective report of 38 patients. *Pediatrics*. 2007;120(3):e622-8.
164. Bosnak M, Erdogan S, Aktekin EH, Bay A. Therapeutic plasma exchange in primary hemophagocytic lymphohistiocytosis: Reports of two cases and a review of the literature. *Transfus Apher Sci*. 2016;55(3):353–6.
165. Chen TY, Hsu MH, Kuo HC, Sheen JM, Cheng MC, Lin YJ. Outcome analysis of pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Formos Med Assoc*. 2021;120(1):172–9.
166. Imashuku S. Treatment of Epstein-Barr Virus-related Hemophagocytic. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2011;33(1):35–9.

167. Chellapandian D, Das R, Zelle K, Wiener SJ, Zhao H, Teachey DT, et al. Treatment of Epstein Barr virus-induced haemophagocytic lymphohistiocytosis with rituximab-containing chemo-immunotherapeutic regimens. *Br J Haematol.* 2013;162(3):376–82.
168. Strout MP, Seropian S, Berliner N. Alemtuzumab as a bridge to allogeneic SCT in atypical hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Nat Rev Clin Oncol.* 2010;7(7):415–20.
169. Marsh RA, Allen CE, McClain KL, Weinstein JL, Kanter J, Skiles J, et al. Salvage Therapy of Refractory Hemophagocytic Lymphohistiocytosis With Alemtuzumab. *Pediatr Blood Cancer.* 2013;60(1):101–9.
170. Jiang L, Yuan CM, Hubacheck J, John E Janik, Wilson W, Morris JC, et al. Variable CD52 expression in mature T cell and NK cell malignancies: implications for alemtuzumab therapy. *Br J Hematol.* 2009;145(2):173–9.
171. Merli P, Algeri M, Gaspari S, Locatelli F. Novel Therapeutic Approaches to Familial HLH (Emapalumab in FHL). *Front Immunol.* 2020;11:608492.
172. Locatelli F, Jordan MB, Allen C, Cesaro S, Rizzari C, Rao A, et al. Emapalumab in Children with Primary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *N Engl J Med.* 2020;382(19):1811–22.
173. Vallurupalli M, Berliner N. Emapalumab for the treatment of relapsed/refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood.* 2019;134(21):1783–6.
174. Al-Salama ZT. Emapalumab: First Global Approval. *Drugs.* 2019;79(1):99–103.
175. Lounder DT, Bin Q, De Min C, Jordan MB. Treatment of refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis with emapalumab despite severe concurrent infections. *Blood Adv.* 2019;3(1):47–50.
176. Wang J, Wang Y, Wu L, Wang X, Jin Z, Wang Z. Ruxolitinib for refractory/relapsed hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematologica.* 2020;105(5):210–2.
177. Broglie L, Pommert L, Rao S, Thakar M, Phelan R, Margolis D, et al. Ruxolitinib for refractory/relapsed hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood Adv.* 2017;1(19):1533–6.
178. Wei A, Ma H, Li Z, Zhang L, Zhang Q, Wang D, et al. Short-term effectiveness of ruxolitinib in the treatment of recurrent or refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis in children. *Int J Hematol.* 2020;112(4):568–76.

179. Zhao Y, Shi J, Li X, Wang J, Sun J, Zhou J, et al. Salvage therapy with dose-escalating ruxolitinib as a bridge to allogeneic stem cell transplantation for refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Bone Marrow Transplant.* 2020;55(4):824–6.
180. Ramanan KM, Uppuluri R, Ravichandran N, Patel S, Swaminathan VV, Jayakumar I, et al. Successful remission induction in refractory familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with ruxolitinib as a bridge to hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer.* 2020;67(3):e28071.
181. Kenneth L McClain, MD P. Treatment and prognosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. UpToDate. [Internet]. 2020. <https://www.uptodate.com>
182. Bergsten E, Horne A, Myrberg IH, Aricó M, Astigarraga I, Ishii E, et al. Stem cell transplantation for children with hemophagocytic lymphohistiocytosis: results from the HLH-2004 study. *Blood Adv.* 2020;4(15):3754–66.
183. Bin Q, Gao J-H, Luo J-M. Prognostic factors of early outcome in pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis: an analysis of 116 cases. *Ann Hematol.* 2016;95(9):1411–8.
184. Trottestam H, Berglöf E, Horne A, Onelöv E, Beutel K, Lehmberg K, et al. Risk factors for early death in children with haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Acta Paediatr Int J Paediatr.* 2012;101(3):313–8.
185. Lin TF, Ferlic-Stark LL, Allen CE, Kozinetz CA, McClain KL. Rate of Decline of Ferritin in Patients with Hemophagocytic Lymphohistiocytosis as a Prognostic Variable for Mortality. *Pediatr Blood Cancer.* 2011;56(1):154–5.
186. Dao ATT, Luong VT, Nguyen TT, Huynh QT V, T.Phan TT, Lam MT, et al. Pediatric Hematology and Oncology Risk Factors for Early Fatal Outcomes Among Children with Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH): A Single-Institution Case-Series in Vietnam. *Pediatr Hematol Oncol.* 2013;31(3):271–81.
187. Satar M, Arısoy AE, Çelik İH. Yenidoğan Enfeksiyonları Tanı ve Tedavi Rehberi Türk Neonatoloji Derneği. [Internet]. 2018. <https://www.neonatology.org>.
188. Satar M, Özlü F. Neonatal sepsis: a continuing disease burden. *Türk J Pediatr .* 2012;54(5):449–57.
189. Shane AL, Sánchez PJ, Stoll BJ. Neonatal sepsis. *Lancet.* 2017;390(10104):1770–80.
190. Polin RA. Management of Neonates With Suspected or Proven Early-Onset Bacterial Sepsis. *Pediatrics.* 2012;129(5):1006–15.

191. Schmutz N, Henry E, Jopling J, Christensen RD. Expected ranges for blood neutrophil concentrations of neonates: the Manroe and Mouzinho charts revisited. *J Perinatol*. 2008;28(4):275–81.
192. Manzoni P. Hematologic Aspects of Early and Late-Onset Sepsis in Preterm Infants. *Clin Perinatol*. 2015;42(3):587–95.
193. Delanghe JR, Speeckaert MM. Translational research and biomarkers in neonatal sepsis. *Clin Chim Acta*. 2015;7(451):46–64.
194. Pontrelli G, De Crescenzo F, Buzzetti R, Jenkner A, Balduzzi S, Carducci FC, et al. Accuracy of serum procalcitonin for the diagnosis of sepsis in neonates and children with systemic inflammatory syndrome: a meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2017;17(1):302.
195. Gilfillan M, Bhandari V. Biomarkers for the diagnosis of neonatal sepsis and necrotizing enterocolitis: Clinical practice guidelines. *Early Hum Dev*. 2017;105:25–33.
196. Prashant A, Vishwanath P, Kulkarni P, Sathya Narayana P, Gowdara V, Nataraj SM, et al. Comparative Assessment of Cytokines and Other Inflammatory Markers for the Early Diagnosis of Neonatal Sepsis—A Case Control Study. *PLoS One*. 2013 Jul 15;8(7):68426.
197. Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J Pediatr*. 1988;112(5):761–7.
198. Elalfy MS, Ragab IA, AbdelAal NEM, Mahfouz S, Rezk AR. Study of the diagnostic criteria for hemophagocytic lymphohistiocytosis in neonatal and pediatric patients with severe sepsis or septic shock. *Pediatr Hematol Oncol*. 2021;38(5):486–96.
199. Christensen RD, Henry E, Jopling J, Wiedmeier SE. The CBC: Reference Ranges for Neonates. *Semin Perinatol*. 2009;33(1):3–11.
200. Perk Y, Atasay B, Çetinkaya M. Kan Ürünleri Transfüzyon Rehberi 2021 Güncellemesi. [Internet]. 2021. <http://www.neonatology.org.tr>
201. Gleason C, Devaskar SU. Avery's Diseases of the Newborn. In: Gleason C, Devaskar SU. 9. Baskı. Elsevier; 2012. 368–89.
202. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, Daly CH, Brinc D, Venner AA, et al. Closing the Gaps in Pediatric Laboratory Reference Intervals: A CALIPER Database of 40 Biochemical Markers in a Healthy and Multiethnic Population of Children. *Pediatr Clin Chem*. 2012;58(5):854–68.
203. Cunningham F, Allen JE, Allen J, Alvarez-Jarreta J, Amode MR, Armean IM, et al. Ensembl 2022. *Nucleic Acids Res*. 2022;50(D1):D988–95.

204. Benowitz SI. New study challenges gold standard for validating DNA sequencing results [Internet]. 2016. <https://www.genome.gov>
205. Cunningham F, Allen JE, Allen J, Alvarez-Jarreta J, Amode MR, Armean IM, et al. Ensembl [Internet]. 2022. <https://www.ensembl.org>
206. Machowicz R, Janka G, Wiktor-Jedrzejczak W. Similar but not the same: Differential diagnosis of HLH and sepsis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2017;114:1–12.
207. Al Ahmari A, Alsmadi O, Sheereen A, Elamin T, Jabr A, El-Baik L, et al. Genetic and clinical characteristics of pediatric patients with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood Res*. 2021;56(2):86–93.
208. Pasqualini C, Jorini M, Carloni I, Giangiacomi M, Cetica V, Aricò M, et al. Cytophagic histiocytic panniculitis, hemophagocytic lymphohistiocytosis and undetermined autoimmune disorder: Reconciling the puzzle. *Ital J Pediatr*. 2014;40(1):1–5.
209. Fager Ferrari M, Leino E, Rossing M, Norström E, Strandberg K, Steen Sejersen T, et al. Germline heterozygous variants in genes associated with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis as a cause of increased bleeding. *Platelets*. 2018;29(1):56–64.
210. Al Hawas R, Ren Q, Ye S, Karim ZA, Filipovich AH, Whiteheart SW. Munc18b/STXBP2 is required for platelet secretion. *Blood*. 2012;120(12):2493–500.
211. Voskoboinik I, Thia MC, Trapani JA. A functional analysis of the putative polymorphisms A91V and N252S and 22 missense perform mutations associated with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2005;105(12):4700–6.
212. Voskoboinik I, Sutton VR, Ciccone A, House CM, Chia J, Darcy PK, et al. Perforin activity and immune homeostasis: The common A91V polymorphism in perforin results in both presynaptic and postsynaptic defects in function. *Blood*. 2007;110(4):1184–90.
213. Risma KA, Frayer RW, Filipovich AH, Sumegi J. Aberrant maturation of mutant perforin underlies the clinical diversity of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Clin Invest*. 2006;116(1):182–92.
214. Carvelli J, Piperoglou C, Farnarier C, Vely F, Mazodier K, Audonnet S, et al. Functional and genetic testing in adults with HLH reveals an inflammatory profile rather than a cytotoxicity defect. *Blood*. 2020;136(5):542–52.
215. Miller PG, Niroula A, Ceremsak JJ, Gibson CJ, Taylor MS, Birndt S, et al. Identification of germline variants in adults with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood Adv*. 2020;4(5):925–9.

216. Brennan AJ, Chia J, Trapani JA, Voskoboinik I. Perforin deficiency and susceptibility to cancer. *Cell Death Differ.* 2010;17(4):607–15.
217. Busiello R, Adriani M, Locatelli F, Galgani M, Fimiani G, Clementi R, et al. Atypical features of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood.* 2004;103(12):4610–2.
218. Molleran Lee S, Villanueva J, Sumegi J, Zhang K, Kogawa K, Davis J, et al. Characterisation of diverse PRF1 mutations leading to decreased natural killer cell activity in North American families with haemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Med Genet.* 2004;41(2):137–44.
219. Santoro A, Cannella S, Bossi G, Gallo F, Trizzino A, Pende D, et al. Novel Munc13-4 mutations in children and young adult patients with haemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Med Genet.* 2006;43(12):953–60.
220. Rudd E, Bryceson YT, Zheng C, Edner J, Wood SM, Ramme K, et al. Spectrum, and clinical and functional implications of UNC13D mutations in familial haemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Med Genet.* 2008;45(3):134–41.
221. Si SJ, Tasian SK, Bassiri H, Fisher BT, Atalla J, Patel R, et al. Diagnostic Challenges in Pediatric Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *J Clin Immunol.* 2021;41(6):1213–8.