



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
Çocuk İmmünolojisi ve Alerji Hastalıkları Bilim Dalı

**KRONİK GRANÜLOMATOZ HASTALIKTA
İNTERFERON GAMMA TEDAVİSİNİN
FAGOSİTER HÜCRELER ÜZERİNE ETKİSİ**

YANDAL UZMANLIK TEZİ

Uz.Dr. Serkan FİLİZ

Antalya, 2012



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
Çocuk İmmünolojisi ve Alerji Hastalıkları Bilim Dalı

KRONİK GRANÜLOMATOZ HASTALIKTA İNTERFERON GAMMA TEDAVİSİNİN FAGOSİTER HÜCRELER ÜZERİNE ETKİSİ

YANDAL UZMANLIK TEZİ

Uz.Dr. Serkan FİLİZ

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Olcay YEĞİN

“Tezimden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir”

Antalya, 2012

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2012.04.0103.008 Proje No ile desteklemiştir.

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Çocuk Alerji ve İmmunoloji Öğretim üyelerinden tez danışmanım Prof.Dr. Olcay YEĞİN, hocam ProfDr. Ayşen BİNGÖL ve Prof Dr Halil ERTUĞ başta olmak üzere tüm anabilim dalı öğretim üyelerine,

Laboratuar aşamasındaki katkılarından dolayı Doç.Dr. Sadi KÖKSOY ve Dr. Emel ŞAHİN'e,

İstatistiksel değerlendirme konusunda yardımlarından dolayı sayın Deniz ÖZEL'e,

Tezimize katılmayı kabul eden ve hasta paylaşımı konusunda ilgilerini esirgemeyen Prof.Dr. Özden SANAL, Prof.Dr. Yıldız CAMCIOĞLU, Prof.Dr. Ayper SOMER, Prof.Dr. Işıl BARLAN, Prof.Dr. Sarah Şebnem KILINÇ, Prof.Dr. İsmail REİSLİ, Prof.Dr. Türkan PATIROĞLU, Prof.Dr. Alişan YILDIRAN, Doç.Dr. Hasibe ARTAÇ, Doç.Dr. Ayşe METİN, Doç.Dr. Güzide AKSU, Doç.Dr. Ferah GENEL, Doç.Dr. Mustafa Yavuz KÖKER ve Uzm.Dr. Can ÖZTÜRK ve İmmunoloji yan dal uzmanı arkadaşlarıma,

Yakın çalışma arkadaşlarım Alerji ve İmmunoloji ekibine,

Tezin gerçekleşmesini sağlayan hasta ve hasta yakınlarına,

Bana her konuda destek olan ve sabır gösteren eşim Meral ve oğlum Ulaş'a

tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	iv
Şekiller Dizini	v
Çizelgeler Dizini	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Primer İmmun Yetmezliklere Giriş	3
2.2. Doğal Bağışıklık sistemi	4
2.3. Fagositik Hücreler	6
2.3.1. Nötrofiller	7
2.3.2. Mononükleer fagositler (Monosit ve makrofajlar)	8
2.4. Fagositoz	9
2.4.1. Mikroorganizmaların tanınması	9
2.4.2. Lökositlerin enfeksiyon bölgesine göçü (Recruitment)	9
2.4.3. Aktive fagositik hücrelerin mikroorganizmaları öldürme mekanizmaları	10
2.4.3.1. Reaktif oksijen ara ürünleri ile öldürme	11
2.4.3.2. Fagosit NADPH oksidaz enzim sistemi	13
2.4.3.3. Reaktif nitrojen ara ürünleri ile öldürme	14
2.4.3.4. Oksijenden bağımsız mekanizmalarla öldürme	14
2.5. Kronik Granülomatoz Hastalık	15
2.5.1. Tanımlama ve tarihçe	15
2.5.2. Genetik	16
2.5.3. Epidemiyoloji	17
2.5.4. Klinik görünüm	18
2.5.4.1. Enfeksiyöz komplikasyonlar	18
2.5.4.2. Enfeksiyon dışı komplikasyonlar	21
2.5.4.2.1. Enflamatuvar komplikasyonlar	21
2.5.4.3. Diğer klinik tablolar	23
2.5.4.3.1. Mc Leod sendromu	23
2.5.4.3.2. X'e bağlı taşıyıcılar	23
2.5.5. Tanı yöntemleri	24
2.5.5.1. Tanısal testler	24
2.5.5.2. Doğrulayıcı testler	25
2.5.5.3. Prenatal tanı	25
2.5.6. Ayırıcı tanı	26

2.5.7. Tedavi	26
2.5.7.1. Antimikrobiyal profilaksi	27
2.5.7.2. İmmun modulator tedavi	27
2.5.7.3. Akut enfeksiyonların tedavisi	29
2.5.7.4. Enflamatuvar ve otoimmün komplikasyonların tedavisi	29
2.5.7.5. Küratif tedavi	30
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	33
3.1. Olgular	33
3.2. Laboratuvar Ölçümleri	34
3.2.1. Kimyasal maddeler ve kitler	34
3.2.2. Çalışma solüsyonlarının ve kimyasalların hazırlanması	35
3.2.3. Akım sitometrik analizi	35
3.2.3.1. Stimulasyon indeksi hesaplanması	35
3.3. İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	37
4.1. Demografik Özellikleri	37
4.2. Stimulasyon İndeksleri	38
4.3. INF- γ Alan ve Almayanların Enfeksiyon Sıklıklarının Karşılaştırılması	43
4.4. ING γ Alan ve Almayanların Aspergillus Enfeksiyonu, Organ Absesi Granüloamatöz Reaksiyon ve Diğer Komplikasyonların Karşılaştırılması	43
4.5. KGH Alt Tiplerine Göre Nötrofil ve Monositlerin 0, 1 ve 24. saatindeki Stimülasyon İndeksleri Karşılaştırılması	44
4.6. KGH Alt Tiplerine Göre INF-gamma Alan ve Almayanlarda Enfeksiyon Sıklıkları Karşılaştırılması	46
4.7. Logistik Regresyon Modelleri	48
4.8. KGH alt tipi ve INF-gamma alıp almama ilişkisi	48
4.9. Genotiplendirme ve Sİ değerleri arasındaki ilişki	49
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇLAR	58
7. ÖZET	61
8. ABSTRACT	63
9. KAYNAKLAR	65
10. EKLER	74
Ek 1. Anket Formu	74

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CYBB	Sitokrom b
DHR-123	Dihydrorhadamine 123
HKHN	Hematopoetik kök hücre transplantasyonu
IBH	İltihabi barsak hastalığı
IL-1	İnterlökin-1
INF-γ	İnterferon-gamma
KGH	Kronik Granülamatoz Hastalık
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NBT	Nitroblue tetrazolium testi
NCF-1	Nötrofil sitozolik faktör-1
PİY	Primer immun yetmezlik
ROS	Reactive oxygen species
Sİ	Stimulasyon İndeksi
TLR	Toll benzeri algaç
TMP-SMX	Trimetoprim-sulfametoksazol
TNF-α	Tümör nekrotik faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Bağışıklık sistemi bileşenleri	5
2.2. Nötrofillerin enfeksiyon alanına göçü	10
2.3. Fagositoz ve hücre içinde mikroorganizmaların parçalanması	11
2.4. Reaktif oksijen ara ürünlerinin sentezindeki kimyasal reaksiyonlar ve enzimler	12
2.5. NADPH oksidaz enzim kompleksi ve aktivasyonu	14
2.6. Oksijene bağımlı ve bağımsız fagositoz mekanizmaları	15
3.1. Deney prosedürü	36
4.1. Hasta ve kontrollerin nötrofil ve monositlerinin DHR-123 testi sonundaki Stimulasyon indeksleri (Sİ) ortanca değerleri	39
4.2. Monositler için DHR-123 testi stimulasyon indeksi Roc analizi	39
4.3. Nötrofiller için DHR-123 testi stimulasyon indeksi Roc analizi	40
4.4. Hasta ve kontrollerin nötrofillerin 0, 1. ve 24. saat stimulasyon indeksleri ortanca değerleri	42
4.5. Hasta ve kontrollerin monositlerin 0, 1 ve 24. saat stimulasyon indeksleri ortanca değerleri	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. İmmun yetmezliklerin sınıflandırılması	4
2.2. Doğal bağışıklık sistemi bileşenleri ve temel fonksiyonları	6
2.3. Kronik granülamatoz hastalığın moleküler ve genetik olarak sınıflandırılması	17
2.4. Farklı merkezlerdeki KGH'li olguların enfeksiyon yerleri ve sıklıkları	19
2.5. KGH olgularda enfeksiyonlar, klinik durumlar ve ilişkili organizmalar	21
2.6. KGH'de tanısal yaklaşım	26
2.7. Kronik granülamatoz hastalık tedavisi	32
4.1. Hastaların demografik özellikleri	38
4.2. 0. ve 1. saatte hastaların nötrofil ve monositlerinin stimülasyon indeksleri	41
4.3. 0. ve 24. saatte hastaların nötrofil ve monositlerinin stimülasyon indeksleri	41
4.4. 1. ve 24. saatte hastaların nötrofil ve monositlerinin stimülasyon indeksleri	41
4.5. INF- γ alan ve almayan hastaların enfeksiyon sıklıkları ortalama değerleri	43
4.6. INF- γ alan ve almayanların aspergillus enfeksiyonu, organ absesi, granülamatoz reaksiyon ve diğer komplikasyonlar açısından değerlendirilmesi	44
4.7. INF- γ alan ve almayanların organ absesi ve granülamatoz reaksiyon sıklıkları ve lokalizasyonları	44
4.8. KGH alt tiplerine göre nötrofil ve monositlerin INF- γ öncesi 0.saat ve sonrası 1. ve 24.saatindeki stimülasyon indeksleri	46
4.9. INF- γ alan ve almayanların KGH alt tipine göre enfeksiyon sıklıkları	47
4.10. KGH alt tipine göre INF- γ tedavisi başlanması kararının logistik regresyon modeli	48

1. GİRİŞ

Kronik Granülomatoz Hastalık (KGH): Fagositik hücrelerin, bazı bakteri ve mantarları fagosit ettikten sonra öldürememesi ile karakterize heterojen, kalıtsal primer bir immun yetmezlik hastalığıdır. Fagositik hücrelerin solunum patlaması ve süperoksit yapımı için gerekli olan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz sistemindeki defektlere bağlı olarak gelişen tekrarlayan ve hayati tehdit eden enfeksiyonlar, artmış enflamatuvar cevaba bağlı granülom oluşumu ile karakterizedir (1,2).

Tanı; hikaye, klinik bulgular ve solunum patlamasının (respiratory burst) gerçekleşemediğinin gösterilmesi ile konulmaktadır. Solunum patlamasındaki reaktif oksijen ara ürünlerinin sentezlenmesinin gösterildiği; Nitroblue tetrazolium testi (BNT) kemiluminisans, sitokrom-c tayini ve dihydorhodamine 123 (DHR-123) akım sitometri de tanıda kullanılan yöntemlerdir. Ayrıca İmmunblotting ya da, gen sekans ve subgrup tayini için mutasyonel analiz gibi moleküler teknikler ile de genotipik tanı kesinleştirilmektedir (3,4).

Günümüzde tedavi; Anti-mikrobiyal profilaksi [Trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX), İtrakonazol, İnterferon-gamma (IFN- γ)], enfeksiyonların tedavisi, enflamatuvar komplikasyonların tedavisi, hematopoetik kök hücre nakli ve gen tedavisini (deneysel) kapsamaktadır (3,5,6).

IFN- γ ; T hücreleri, doğal öldürücü (natural killer-NK) hücreler ve NKT hücreleri tarafından üretilen doğal ve kazanılmış bağışıklık cevapta rol oynayan önemli bir sitokindir. Konak savunmasında ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde; antiviral, antimikrobiyal, anti-tümoral özelliği ile etki göstermektedir (7). KGH'de doksanlı yıllardan beri kullanılmasına, etkinliği ile ilgili birçok çalışmaya rağmen tedavideki yeri ve etkinliği hala tartışılmaktadır. Erken çalışmalar, oksidatif metabolizma üzerinde uzun dönem iyileştirici özelliği olduğu, bakteri öldürme ve sitokrom b558 gibi NADPH oksidaz enzim sistemi üzerinde fonksiyonel olarak etkili olduğunu göstermekle birlikte son dönem çalışmalar, IFN- γ tedavisinin klinik etkinliğinin, NADPH oksidaz aktivitesi üzerinden olmadığını göstermektedir (8-12). Belirgin bir toksisite göstermeksizin, enfeksiyon ve hastaneye yatış sıklığında azalma ve yaşam kalitesinde düzelme sağlandığı için tedavi protokollerine yer almaktadır (13). Farklı merkezlerin KGH'deki INF- γ tedavisi deneyimlerine bakıldığında, genellikle ya tanı anında anti-mikrobiyal

tedavinin yanında başlanmakta, ya da klinik izlemde enfeksiyon sıklığını ve ciddiyeti, hastaneye yatış sıklığı durumlarına göre tedaviye eklendiği ya da devam edildiği görülmektedir (14-17).

KGH'li olgularda IFN- γ tedavisi ile ilgili birçok çalışma, modern antimikrobiyal ve antifungal profilaksi tedavi öncesinde yapılmış olduğundan IFN- γ tedavisinin etkinliği ile ilgili yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Son yıllarda KGH tanısında nötrofil oksidatif patlama yanıtı sırasında oluşan reaktif metabolitlerin kantitatif ölçümünde DHR-123 testi sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde DHR-123 testi kolay uygulanabilir olması, X'e bağlı ve otozomal ayırımında yardımcı olması ve çok az sayıda hücre için bile sensitif olması nedeniyle tercih edilmektedir (18,19,20).

Çalışmamızda, ülke genelinde KGH'li olgular ile yapılmış bir insidans çalışması olmadığı için, araştırmamıza katılmayı kabul eden merkezlerde izlenen, IFN- γ tedavisi alan ya da almayan tüm KGH'li olgular çalışmaya alınmıştır. İn-vitro rekombinat IFN- γ ilaveli ve ilavesiz olarak fagositer hücre fonksiyonları DHR-123 testi ile akım sitometri yöntemi ile çalışılmıştır.

Genetik olarak heterojen olan KGH'da IFN- γ kullanımının etkili olup olmayacağını öngörebilen pratik, ucuz bir yöntemin uygulamaya sokulması önemlidir. Bu bağlamda, araştırmamızda farklı genotiplere bağlı KGH'li hastalarda, fagositik hücrelerin oksidatif patlama yapma kapasitelerini ölçülerek, bu aktiviteye interferon gamma'nın etkisinin in-vitro olarak irdelenmiş ve klinik, laboratuvar tüm verilerin birbiriyle ilişkisi araştırılmıştır. Bunun dışında ülkemizde KGH tanısıyla takip edilen hastaların sayısı, genetik ve demografik özelliklerinin saptanarak ülkemizdeki bu hastalar ile ilgili ilk kayıtlı sistemik bilgiler elde edilmiştir. Oldukça pahalı olan IFN- γ tedavisinin yararlı olabileceği olguların öngörülmesi ile sadece fayda görecektir olgulara tedavi verilirse ülkemiz için ekonomik bir yarar sağlanabileceği konusunda yeni veriler elde edilmiş ve IFN- γ 'nın in-vitro etkisinin, olguların genetik defektleriyle ilişkisi irdelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Primer İmmun Yetmezliklere Giriş

Konağın kendisinden farklı yapıya sahip maddeleri yabancı olarak tanımlayıp onu yok etmesine “immunité-bağıışıklık”, bu mekanizmaları inceleyen bilim dalına “immunoloji-bağıışıklık bilimi” denilmektedir. İmmunité sözcüğü Latince "immunis= vergiden muaf" sözünden türetilmiştir (21,22). İmmun sistem; İç ve dış çeşitli uyarılara karşı organizmayı koruyan, özelleşmiş hücreler, proteinler, dokular ve organlardan oluşmuş karmaşık bir sistemdir (23). Bu sistem; enfeksiyona karşı ilk koruyucu engeli oluşturan, mikroorganizmaları tanıyıp yıkıma uğratan ve hazır olan "doğal direnç-doğal bağıışıklık" ile doğal direnci takiben ortaya çıkan, enfeksiyonlara karşı daha özel ve etkili savunmaya sahip "edinsel direnç-edinsel bağıışıklık"tan oluşur.

İmmun sistemin belli bir bölümünde düzensizlik ya da eksiklik sonucunda konjenital (primer) ya da kazanılmış (sekonder) immün yetmezlikler gelişir. Primer immün yetmezlikler (PİY); immün sistemin gelişimi ve fonksiyonunda bozukluklar sonucunda gelişen kronik ve/veya yineleyen enfeksiyonlarla seyreden heterojen hastalıklarla karakterize iken, kazanılmış (sekonder) immün yetmezlikler; HIV gibi enfeksiyonlar, kemoterapi, radyasyon, malnütrisyon gibi nedenlere bağılı olarak gelişebilmektedir (24).

PİY’in birçoğunda basit mendelyan monogenetik geçişli kalıtım olsa da, bazılarında kompleks poligenetik geçiş söz konusudur. Hastalığın penetransı ve gen ekspresyonunun değıışkenliğine bağılı olarak ve çevresel faktörlerin etkisiyle PİY fenotipik çeşitlilik gösterirler (24). Birbirinde farklı klinik ve laboratuvar bulguları olsa da PİY’de genel olarak ortak özellik; enfeksiyonlara, otoimmün hastalıklara ve malignitelere karşı artmış eğilim sözkonusudur (25-28).

PİY, immün sistemin öncelikli olarak tutulan bölgesine göre; doğal ve adaptif bağıışıklık sistemi hastalıkları olarak sınıflandırılmaktadır. İmmün sistem hastalıkları 2009 IUIS (International Union of Immunodeficiency Societies) sınıflamasına göre; Doğal bağıışıklık sistemde; fagositer seri bozuklukları, Toll-benzeri algaç (TLR) aracılı sinyal iletimi bozuklukları ve kompleman sistemi bozuklukları yer almaktadır. Edinsel bağıışıklık sistemi bozuklukları; antikor eksikliği sendromları ve kombine immün yetmezlikleri içermektedir. Ayrıca iyi tanımlanmış immün yetmezlikler, immün

regölasyon hastalıkları ve otoenflamatuar hastalıklar da bu sisteme dahil edilmiştir (Çizelge 2.1) (24).

Selektif IgA eksikliği dışında, tüm PİY nadir görölmekle birlikte, prevelans 1/10.000 canlı doğum olarak tahmin edilmektedir. Prevelans ölkeden ölkeye ve etnik gruplar arasında değışmekle birlikte akraba evliliğinin sık göröldüğü ve izole topluluklarda daha da artmaktadır (29). PİY tanısı alan olguların sayısının giderek artmasına rağmen, klinisyenlerin bu konuda bilgileri henüz yeterli değildir. Birçok olgu, kronik enfeksiyonlar, geri dönüşümsüz organ hasarları ve tanı konulmadan ölüm nedeniyle kaybedilmektedir. PİY'in birçoğunda erken tanı ve uygun tedavi hayat kurtarıcı olmaktadır (30).

Çizelge 2.1. İmmun yetmezliklerin sınıflandırılması (31).

İmmun yetmezlikler
Kombine immün yetmezlikler
Antikor eksiklikleri ile giden immün yetmezlikler
Diğer İyi tanımlanmış immün yetmezlik sendromları
İmmün sistemin regölasyon bozukluğuna bağlı hastalıklar
Fagositer hücre hastalıkları
Doğal bağışıklık sistemi hastalıkları
Otoenflamatuar hastalıklar
Kompleman sistemi hastalıkları

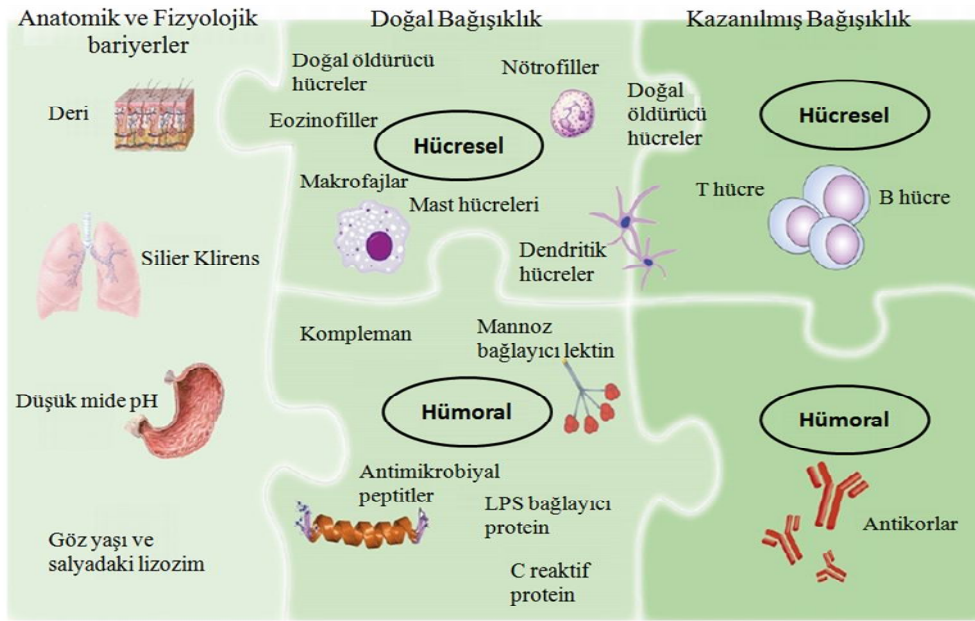
2.2. Doğal Bağışıklık Sistemi

Konak savunma mekanizması, enfeksiyonlara karşı ilk koruyucu engeli oluşturan doğal bağışıklık ve sonrasında daha yavaş olarak devreye giren ancak enfeksiyonlara karşı daha etkili savunma sağlayan edinsel bağışıklığı kapsamaktadır.

Doğal immunitenin keşfi ile ilgili çalışmalar 1908 yılında Metchnikoff ile başlamış olmasına rağmen edinsel bağışıklık ile ilgili çalışmalar nedeniyle son 10 yıla kadar enfeksiyonlara karşı duyarlılık ve koruyucu cevap gibi yüzeysel bilgiler şeklinde sınırlanmıştır. Moleküler düzeyde yapılan çalışmalar sonucunda, doğal bağışıklığın sadece enfeksiyöz etkenlere karşı koruyuculuğunun olmadığı, birçok enflamatuar hastalığın patogeneğinde kritik bir düzenleyici role sahip olduğu gösterilmiştir (22,32). Doğal bağışıklık sistemi, canlılarda doğal olarak bulunan ve onları patojenlere karşı koruyan, organizmanın yapısal ve genetik özelliklerine göre direnç geliştiren yapılardan oluşmuştur (Şekil 2.1).

Bu yapılar:

1. Fiziksel ve kimyasal bariyerler (deri, mukozalar, salgılar, vb)
2. Fagositik hücreler (nötrofiller, makrofajlar ve doğal öldürücü (NK) hücreler)
3. Kan proteinleri (kompleman, TLR, diğer Pattern Tanıyıcı moleküller ve diğer enflamasyon mediatörleri)
4. Doğal bağışıklık hücreleri arasında koordinasyon ve regülasyonu sağlayan sitokinlerden oluşmaktadır.



Şekil 2.1. Bağışıklık sistemi bileşenleri (32).

Doğal bağışıklığın konak savunmasında 2 önemli görevi mevcuttur. Birinci görevi; vücudun mikroorganizmalara karşı ilk basamak savunma hattını oluşturarak, patojenin konağa girişini önleyerek, kontrol ve yok edilmesinin sağlanmasıdır. İkinci görevi ise kendinden sonra devreye girecek olan özgül bağışıklığı, hem uyararak hem de yönlendirerek en uygun ve etkili yanıtlara zemin hazırlamaktadır (33). Özel bir patojene karşı değildir, nedenine bakmaksızın tüm enfeksiyon etkenlerine karşı hızlı bir önlem alır. Mikroorganizmaların fagosite edilip öldürülmesi, proenflamatuvar yanıtların tetiklenmesi, antijen sunumuna yardım ve neticede bağışıklık sistemini uyarmak asıl görevleridir (34) (Çizelge 2.2). Doğal bağışıklık sistemi, deri, gastrointestinal sistem, solunum yolu epitel bariyerleri sayesinde mikroorganizmaların birçoğunun vücuda girişini ve dokularda kolonize olarak üremesini engeller. Eğer bir mikroorganizma bu epitel bariyeri geçerse, epitel altı makrofajları ve diğer fagositik lökositler yüzeyindeki

reseptörler ile mikroorganizmalara bağlanır ve onları fagosite ederler. Diğer reseptörleri ile de farklı mikrobiyal molekülleri tanır ve doğal bağışıklık hücrelerini aktive ederler. Mikroorganizmalar bu savunmaları aşıp kana geçerlerse doğal bağışıklığa ait dolaşan proteinler ile tanınırlar. En önemli plazma proteini olan kompleman proteinleri, mikrobiyal yüzey molekülleri ile direkt olarak aktive olarak, hücre lizisi, opsonizasyon ve fagositoz ile enflamasyona yol açarlar (33).

Çizelge 2.2. Doğal bağışıklık sistemi bileşenleri ve temel fonksiyonları (33).

Bileşenler	Temel Fonksiyonu
Bariyerler	
Epitelyal katmanlar	Mikroorganizmaların girişini engeller
Defensinler / Kathelisin	Mikroorganizmaların öldürülmesi
İntraepitelyal lenfositler	Mikroorganizmaların öldürülmesi
Dolaşan efektör hücreler	
Nötrofiller	Erken fagositoz ve mikroorganizmaların öldürülmesi
Makrofajlar	Etkili fagositoz ve mikroorganizmaların öldürülmesi, enflamasyonu tetikleyen sitokinlerin salınımı
Doğal öldürücü hücreler (NK)	Enfekte hücrelerin lizisi ve makrofaj aktivasyonu
Dolaşan efektör proteinler	
Kompleman sistemi	Mikroorganizmaların öldürülmesi, opsonizasyonu ve lökositlerin aktivasyonu
Mannoz bağlayıcı lektin (MBL)	Mikroorganizmaların opsonizasyonu, kompleman lektin yolağının aktivasyonu
C-reaktif protein	Mikroorganizmaların opsonizasyonu ve kompleman aktivasyonu
Sitokinler	
TNF, IL-1, Kemokinler	Enflamasyon
INF- α , β	Viral enfeksiyonlara karşı direnç
INF- γ	Makrofaj aktivasyonu
IL-12	NK ve T hücreleri tarafından INF- γ üretimi
IL-15	NK hücrelerinin proliferasyonu
IL-10, TGF- β	Enflamasyonun kontrolü

2.3. Fagositik Hücreler

Bir Rus zoolog olan Elie Metchnikoff (1845-1916) bazı özelleşmiş hücrelerin mikrobiyal enfeksiyonlara karşı savunma sistemine aracılık ettiği fark ederek bunu insan vücuduna uyarlamış ve mikroorganizmaların hücre içine alınıp ve sindirilmesi olayına fagositoz adını vermiştir. Metchnikoff, enfekte hayvanların bu yolla iyileştiklerini gözlemlenmesi üzerine, fagositozun enfeksiyona karşı savunmada son derece önemli role sahip olduğu göstermiştir. Daha sonraki çalışmalarında iki tip fagositik hücre üzerinde durmuş ve büyük olanına makrofaj ve küçük olanına mikrofaj (nötrofil) adını vermiştir (35)

2.3.1. Nötrofiller

Polimorf nüveli lökositler (çok loplu nükleus nedeniyle) ya da granülosit (sitoplazmalarında çok sayıda granül bulunması nedeniyle) olarak bilinen nötrofiller, bakteri ve mantar enfeksiyonları başta olmak üzere, bir çok enfeksiyona karşı erken yanıtta rol oynayan doğal bağışıklık sisteminin en önemli hücre grubunu oluştururlar (36).

Bu hücreler, diğer kan hücreleri gibi aynı hematopoietik kök hücre öncüllerinden gelişmekte ve mm^3 'de 4.000-10.000 sayı ile dolaşımdaki lökosit havuzunun %30-50'sini oluşturan kanda bulunan majör beyaz kan hücreleridir (33). Dolaşımda küre şeklinde olup, 10-15 μm çapında ve 346 μm^3 hacmine sahip olup fagositoz sırasında parmaklı çıkıntıları oluştururlar. Matür nötrofillerin 3-5 loplu çekirdekleri vardır. Sitoplazma hücrenin %63'ünü, çekirdek %21'ini, granüller %15'ini ve mitokondri %1'den azını oluşturur. Geniş sitoplazmik granüller, boyut ve şekil olarak heterojen olup, nötrofil gelişim basamaklarındaki aşamalara göre üretilen birçok proteinlerden oluşur. Nötrofil sitoplazmasında 2 türlü granül vardır:

- 1) Primer azurofil granüller; erken dönemde oluşur, tipik lizozomal morfolojiye sahiptir. Bu granül içerisinde miyeloperoksidaz ile birlikte defensinler, bakterisidal geçirgenliği artırıcı protein (BPI) ve cathepsin G gibi oksidatif olmayan antimikrobiyal efektörler bulunur.
- 2) Sekonder-özell granüller; içerisinde mikroorganizmaların yıkımını sağlayan lizozim, kollagenaz ve elastaz gibi enzimler bulunmaktadır (35, 36)

Dolaşımdaki yarı ömürleri 6-8 saat arasında değişmekle birlikte dokuda 1-2 güne kadar canlılığını sürdürebilmektedirler. İn-vivo olarak 4 farklı nötrofil havuzu mevcuttur:

1. Kemik iliğı havuzu (totalin %90'ı),
2. Dolaşımdaki havuz (totalin %3'ü),
3. Endotele adhere olmuş marginal havuz (totalin %4'ü),
4. Dokuda eksüdatif halde ya da ekstravaze olmuş halde lokalize halde bulunmaktadır.

Nötrofil havuzu genellikle büyük venlerin endotel yüzeyinde bulunmakta ve stres, enfeksiyon gibi durumlarda hızla harekete geçmektedir. Nötrofil sentezi, enfeksiyona yanıt olarak birçok hücre türü tarafından üretilen; kemik iliğinde nötrofil

öncüllerinin çoğalma ve olgunlaşmasını sağlayan koloni uyarıcı faktörler (G-CSF) olarak tanımlanan sitokinlerce uyarılır.

Dolaşımdaki mikroorganizmaların yanı sıra, damar dışındaki enfeksiyon odağına doğru hareket ederek mikroorganizmaları yutarak öldürürler. Dolaşımdaki nötrofiller bu süre içerisinde enfeksiyon bölgesine yerleşemezse apoptoza uğrayarak, karaciğer ve dalakta yerleşik makrofajlarca fagosite edilirler (35,36).

2.3.2. Mononükleer fagositler (Monosit ve makrofajlar)

Doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemde anahtar rol oynayan esas görevi fagositoz olan hücrelerden oluşur. Monoblastlar, monositer seriye ait ilk öncü olup, kemik iliğinde küçük bir havuza sahiptir. Kemik iliğinde promonositler, monositer seriye ait ana kök hücre grubunu oluşturmakta ve promiyelositten monosite dönüşerek dolaşıma geçmesi yaklaşık 2 gün sürmektedir. Dolaşımda bulunan monositler mm^3 'te 300-600/hücre ile kandaki total lökositlerin %3-6'sını oluşturmaktadır. Dolaşımdaki yarı ömürleri 1-3 gün'dür. Monositler, 10-15 μm çapında, bezelye şeklinde çekirdekleri olan, lizozomlar, fagositik vakuoller ve sitoskeletal filamanlardan oluşan granüler sitoplazmadan oluşmaktadır. Dokulara geçtiğinde özel olarak adlandırılan ve farklı şekillerden oluşan makrofajlara dönüşürler. Deride epiteloid hücreler, karaciğerde Kupffer hücreler, akciğerde alveolar makrofajlar, santral sinir sisteminde mikrogial hücreler ve kemikte osteoklastlar olarak adlandırılırlar. Bu bölgelerde stratejik olarak yerleşim gösteren makrofajların temel amacı, yabancı materyalin filtre edilmesini sağlamaktır. Dolaşımdaki ve dokulardaki mikroorganizmalara karşı etkilidir; nötrofillerden farklı olarak damar dışı dokularda daha uzun süre yaşarlar. Akut enflamasyon sırasında kemik iliğinden enflamasyon alanına göçme süresi 2 günden 6-8 saate kadar kısalabilir. Granülositlerin aksine hem dolaşımdaki, hem de dokuda hızlı bir şekilde çoğalabilirler. Granülo-matoz hastalıklar gibi kronik enflamasyon durumunda doku makrofajları TNF- α ve IFN- γ gibi sitokinlerin varlığında dev hücreler ve epiteloid hücrelere dönüşebilmektedir. Polimorf nüveli lökositler, piyojenik (püy oluşturan) bakterilere karşı majör savunma hücreleri iken, makrofajlar, konak hücreleri içinde yaşayabilen bakteri, virus ve protozoalara karşı savaş veren hücrelerdir (33,35,37).

2.4. Fagositoz

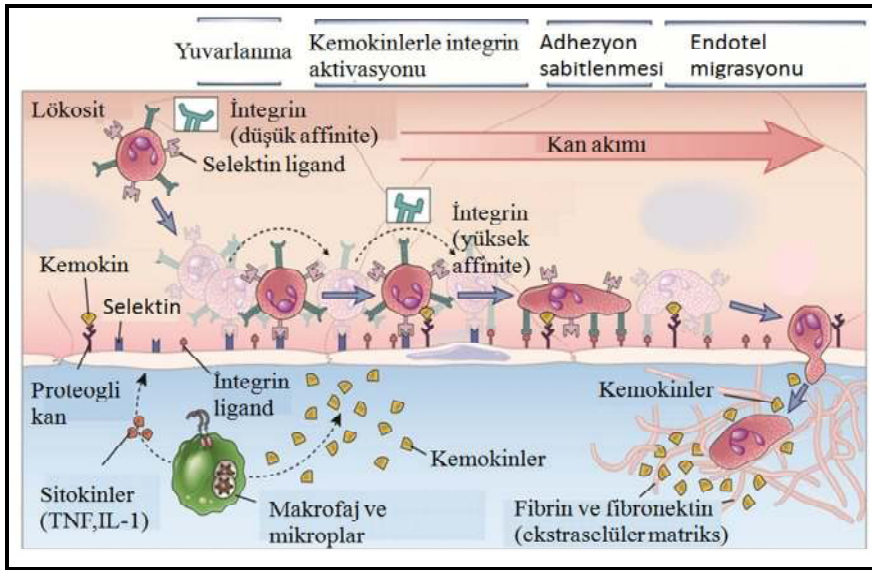
2.4.1. Mikroorganizmaların tanınması

Fagositozun birinci basamağı, dolaşımdaki ve damar dışı dokulardaki mikroorganizmaların fagositik hücrelerce tanınması ile başlar. Fagositik hücrelerin yüzeyinde bulunan dizilim tanıyan reseptörler [“pattern recognition receptors” (PPRs)] patojenliği gösteren moleküler dizilimleri [“pathogen-associated molecular patterns” (PAMPS)] tanır ve aktive olur. Mikroorganizmalarda bulunan farklı yapı ya da paternlere özgü değişik reseptörler söz konusudur. PRR’lerin büyük bir kısmı Toll-benzeri reseptörler (TLRs) sınıfında yer alırsa da, mannoz reseptörü, çöpçü reseptörler (scavenge receptors) gibi reseptör sistemleri ile fagositik hücreler aktive olur ve fagositoz gerçekleşir. Fagositlerin hücre yüzeyinde bulunan TLR’ler, tanıdıkları PAMP’lar ile birleştikleri zaman hücreye bir tehlike varlığını haber vermiş olurlar. TLR’lerin aktivasyonu sonucu ortaya çıkan sinyal, kısaca NF-Kb (nükleer faktor kb) transkripsiyon faktörünü aktive eder ve böylece sitokinler ile enzimlerin ve aktive fagositlerin anti-mikrobiyal etkinliklerinde rolü olan bazı proenflamatuar mediatörlerin salınımı ile fagositoz uyarılmış olur. Efektör moleküller fagozitozu indükler, antijen sunan hücrelerin çoğalmasına neden olarak kazanılmış immün yanıtın oluşmasını başlatır (32-35).

2.4.2. Lökositlerin enfeksiyon bölgesine göçü (Recruitment)

Doğal bağışıklık sisteminin en önemli işlevi, nötrofillerin aktive olup, enfeksiyon alanına göçmesi ve patojenlerin elimine edilmesidir. Nötrofil ve monositler, endoteldeki adezyon moleküllerine bağlanıp, mikroorganizmaların varlığında sentezlenen kemoatraktanların çağrısı üzerine dolaşım dışındaki enfeksiyon bölgesine yönelirler. Enfeksiyon olmadığı dönemlerde nötrofiller dolaşımda salınırlar ya da marginal havuzu oluşturan vasküler endotelde yuvarlanırlar (rolling) ve dokuya göç etmezler. Enfeksiyon bölgesine göç mekanizmasında, proinflamatuar mediatörler, adhezyon molekülleri, kemoatraktanlar ve kemokinlerin yer aldığı çok basamaklı olayları kapsamaktadır (33,34,36,38). Enfeksiyonun ya da doku hasarının erken döneminde aktive makrofajların uyarısıyla sitokinler salınır. Granülosit ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ile kemik iliğinde myeloid kök hücreler uyarılarak dolaşıma milyonlarca hücreler salınır ve karakteristik olarak nötrofil lökositozu gerçekleşir.

Bir mikroorganizma epitel bariyeri geçerse, epitel altı doku makrofajları tarafından tanınırlar. TNF ve interlökin-1 (IL-1) gibi sitokinlerin endotel hücreleriyle etkileşmesiyle E-selektin ve P-selektin isimli adezyon moleküllerinin yüzeydeki gösterimi artar. Lökositlerin yüzeyinde integrinler adı verilen bir diğer adezyon molekülleri daha bulunmaktadır. Bu adezyon molekülleri, ekstraselüler matrix ve kompleman reseptörlerini tanırırlar. Adezyon moleküllerinin etkisiyle lökositler, endotel üzerine yuvarlanırken, enfeksiyon bölgesine yaklaşıncaya endotelden salınan C5a, IL-8, trombosit aktive edici faktör (Platelet Activating Factor, PAF), lökotrienler gibi kemoatraktanlara cevap vererek yüksek konsantrasyona erişirler. İntegrinlerin ligandlarına güçlü bir şekilde bağlanmaları sonucu, lökositlerin endotel yüzeyindeki yuvarlanmaları son bularak, lökositlerin sitoskeletonları yeniden düzenlenir ve hücreler endotel yüzeyine yapışırlar. Kemokinlerin çekim yönünü izleyerek, damar duvarını aşar ve enfeksiyon bölgesine hareket ederler. Lökositlerin enfeksiyon bölgesinde yığılmaları sırasında damarların genişlemesi ve geçirgenliğin artmasına enflamasyon denir (33,36) (Şekil 2.2).



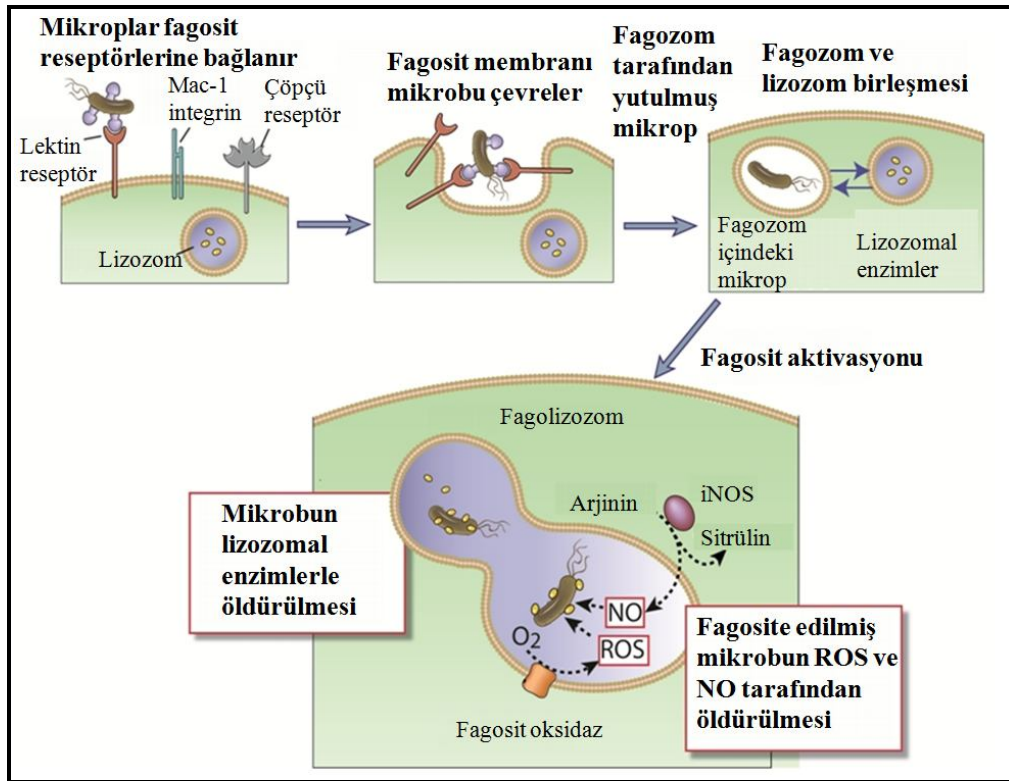
Şekil 2.2. Nötrofillerin enfeksiyon alanına göçü (Kemotaksis) (33).

2.4.3. Aktive fagositik hücrelerin mikroorganizmaları öldürme mekanizmaları

Aktif enerji bağımlı bir süreç olup, veziküller içinde gerçekleşir. Fagositik hücrelerce mikroorganizmaların tanınması, fagositoz aşaması izler ve fagositik hücrelerin aktivasyonu mikroorganizmaların yıkımı ile sonlanır. Fagositik hücre,

plazma membranı aracılığı ile tanıdığı mikroorganizmayı çevreleyerek pseudopodlar (yalancı ayaklar) oluştururlar. Plazma membranı bir fermuar gibi mikroorganizmanın ya da mikroorganizmaya ait partikülün etrafını tamamen çevirerek fagozom adında vaküol oluşturur. Fagozomlar, lizozomlar ile birleşerek fagolizozomları meydana getirirler. Fagosom içinde mikroorganizmalar iki farklı yol ile öldürülür (33).

1. Oksijen bağımlı ya da oksidatif patlama; NADPH oksidaz enzim sistemi ile moleküler oksijenin indirgenip toksik oksijen radikalleri yapımı ile gerçekleşir.
2. Oksijenden bağımsız mekanizma da, nötrofil sitoplazmasında granüller içinde bulunan toksik olan katyonik proteinler, miyeloperoksidaz ve lizozom gibi enzimlerce gerçekleşir.

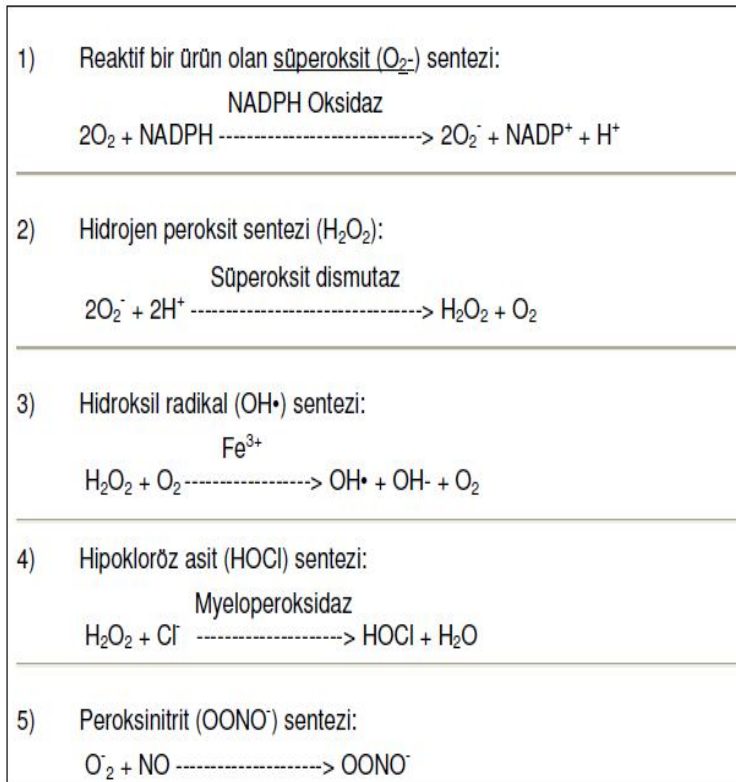


Şekil 2.3. Fagositoz ve hücre içinde mikroorganizmaların parçalanması (33).

2.4.3.1. Reaktif oksijen ara ürünleri ile öldürme

Aktive fagositik hücreler, moleküler oksijeni, hücre içine alınmış mikroorganizmalar için oldukça toksik olan süperoksit anyonu ve reaktif oksijen ara ürünlerine "reactive oxygen species, (ROS) " ayrıştırırlar. Bu sistemin esas elemanı olan fagosit hücre zarında ve/veya vakuol zarında yerleşik olan nikotinamid-adenin-

dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz, moleküler oksijene elektron transferi yaparak süperoksit üreten ve indirme merkezi bulunan çoklu bileşkeli bir enzim sistemidir. Redükte NADPH oluşumunda rol alan hekzoz monofosfat aktivitesinde artış ile elektronlar NADPH'dan moleküler oksijene ve diğer ara ürünlere aktarılır. Moleküler oksijen direkt olarak süperoksit anyonlarına dönüşür. NADPH oksidaz enziminin üretilen süperoksit, zayıf mikrobisidal etkinliği olan bir serbest oksijen radikalıdır ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile metabolize edilerek daha etkin olan hidrojen peroksit'e (H_2O_2) dönüştürülür. Hidrojen peroksit myeloperoksidaz enzimi ile çok toksik olan hipokloröz asit ($HOCl$) dönüştürülür. NADPH oksidaz tarafından katalizlenen bu reaksiyonlar zinciri oksidatif patlama olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.4). Oluşan bu ROS'ler oto-oksidasyon ile granülositler ve çevre dokuya zarar verebileceği için hücre içinde bulunan, SOD, katalaz ve glutatyon redüktaz gibi anti-oksidan sistemlerce bu yıkım önlenir (39,40).

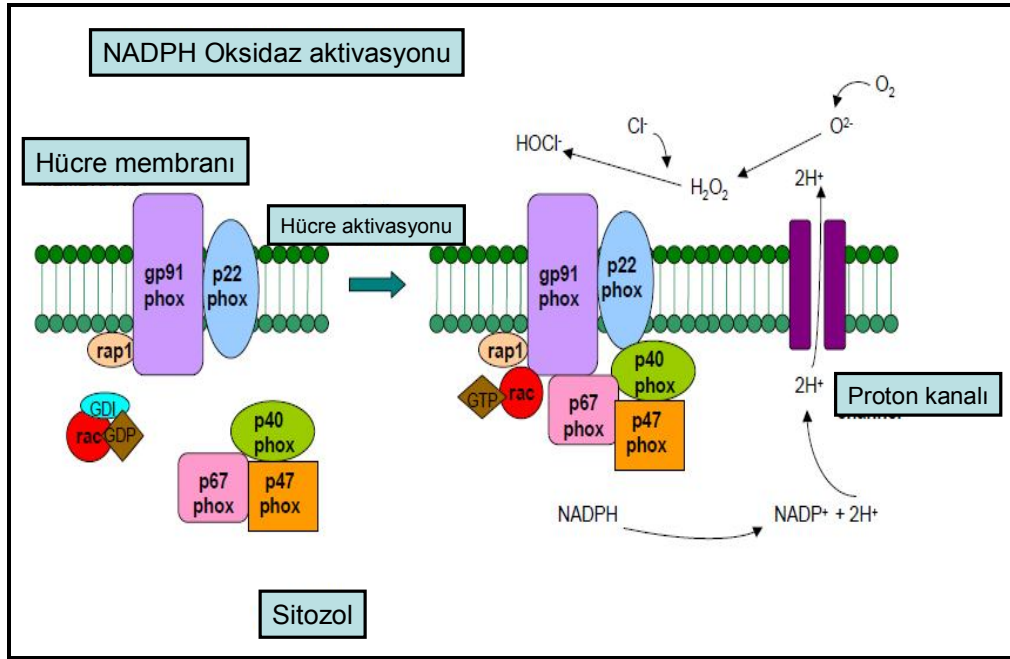


Şekil 2.4. Reaktif oksijen ara ürünlerinin sentezindeki kimyasal reaksiyonlar ve enzimler (41).

2.4.3.2. Fagosit NADPH oksidaz enzim sistemi

Hücre içine invaze olmuş mikroorganizmalara karşı ani ve hızlı cevap için doğal immunitenin vazgeçilmez hücreleri fagositik hücrelerdir. Fagositik hücrelerin bu cevabı olan fagositoz, fagozomlarda proteolitik yıkım ile süperoksit ve reaktif oksijen ara ürünleri yapımıyla gerçekleşir (42). Profesyonel fagositik hücreler olan nötrofil ve monositler uygun şekilde uyarıldıklarında moleküler oksijeni kullanarak fiziksel ve biyokimyasal değişimlere yol açarak solunum patlamasını gerçekleştirirler. Fagositik hücrelerde solunum patlaması ve süperoksit yapımı nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz denilen çoklu protein sistemince gerçekleştirilmektedir (43).

Fagosit NADPH oksidaz sistemi; gp91^{phox} ve p22^{phox} birleşmesinden oluşmuş heterodimer yapıdaki membran bağımlı sitokrom-b558 ile p67^{phox}, p47^{phox}, p40^{phox} ve Rac 1/2'yi içeren sitozolik komponentlerinden meydana gelmiştir. İlk olarak NOX ailesi içinde tanımlanmıştır. Granülosit, monosit/makrofajlarda yüksek oranda eksprese edilmektedir. İstirahat halinde nötrofil granülositlerde, gp91^{phox}: 91-kDa glikoprotein (NOX2 olarak da bilinmektedir) ve p22^{phox} intraselüler vesiküller membranında yerleşiktir. NADPH oksidaz aktivasyon sırasında sitozolik komponentlerden olan p47^{phox} fosforilasyona uğrayarak yapısal değişime uğrar ve membrana doğru gelerek p22^{phox} ile birleşir. P47^{phox}'un membran translokasyonu sonrasında diğer sitoplazmik alt gruplarda p67^{phox}, p40^{phox}, rac1/2 birleşerek NADPH oksidaz enzim kompleksini oluşturur (Şekil 2.5). Sistem tam olarak aktive olunca elektron transferi yapabilmektedir. NADPH kompleksinin oluşumu için glutatyon trifosfataz aktiviteleri olan Rac2 gereklidir. Böylece fagositozdan sonra NADPH oksidaz kompleksinin aktivasyonu ile elektronlar NADPH'dan oksijene transfer edilerek süperoksit radikalleri ve hidrojen peroksit gibi litik enzimlerin oluşumu hücre içi bakteri ve mantarların öldürülmesi gerçekleşir. NADPH oksidaz enzim sisteminin oksidatif patlama dışında ayrıca elektron pompası olarak işlev görerek, vakuol membran içinde elektron gradyenti oluşturmakta, optimal pH ayarlayarak vakuol içinde bulunan proteolitik enzimlerin salınımını ve aktivasyonunu sağlamaktadır (39,40,42).



Şekil 2.5. NADPH Oksidaz enzim kompleksi ve aktivasyonu (44).

2.4.3.3. Reaktif nitrojen ara ürünleri ile öldürme

Fagositik hücreler, ROS oluşumu dışında indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) aracılığıyla oluşturulan nitrik oksit ara ürünleri ile de antimikrobiyal etki gösterirler. NADPH oksidaz, fagositoz ile fagositik vakuol içine alınan hücre dışı mikroorganizmalar üzerinde etkili iken, NO; süperoksit anyonu ile birleşerek daha güçlü bir reaktif ara ürün olan peroksinitrit anyonuna dönüşerek, sitozole invaze olmuş mikroorganizmalar üzerine etki etmektedir.

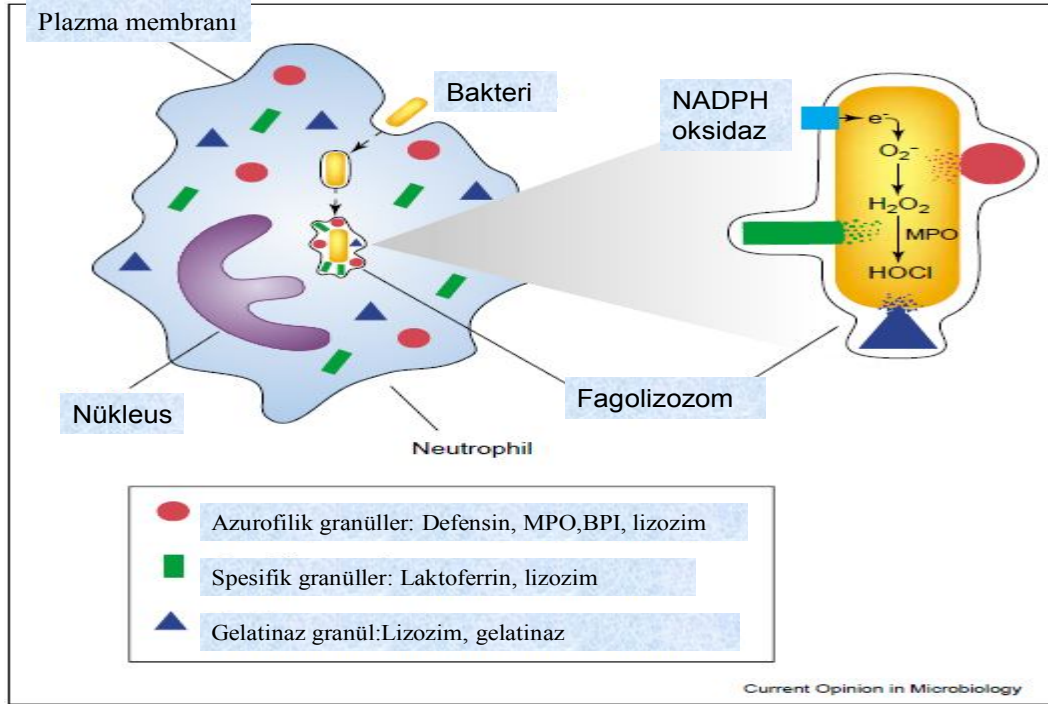
2.4.3.4. Oksijenden bağımsız mekanizmalarla öldürme

Fagositik hücrelerin granüllerinde ve fagolizozomlar içerisinde bulunan proteolitik enzimler ve bazı toksik maddeler ile öldürme biçimidir. Tüm bu mikrobisial maddeler, lizozomların ve fagolizozomların içlerinde sentezlenir ve fagositik hücrelere zarar vermeksizin mikroorganizmaların fagosite ederler. Oksijenden bağımsız olan bu sistem, proteazlar, anti-mikrobiyal proteinler, peptidler ve enzimlerden meydana gelmiş, primer fonksiyonlarına göre 3 farklı granül yapısından oluşmaktadır (35,45) (Şekil 2.6).

1. Azurofilik (Primer) Granüller: İlk üretilen granüller olup, miyeloperoksidaz (MPO) ve nötral proteinaz olan catapsin G, elastaz ve proteinaz 3'ü içerirler. Bakteridal permeabilite arttırıcı protein (BPI), LPS bağlayarak nötrolize

aktivitesi mevcuttur. Defensinler; disülfid sistein içeren antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Total lizozimin 1/3'ü de bu granüller içinde bulunur.

2. Spesifik (Sekonder) Granüller: Laktoferrin, transkobalamin 2, nötrofil gelatin ilişkili lipokalin ve membran ilişkili proteinlerden oluşmaktadır.
3. Gelatinaz (Tersiyer) Granüller



Şekil 2.6. Oksijene bağımlı ve bağımsız fagositoz mekanizmaları (45).

2.5. Kronik Granülomatoz Hastalık (KGH)

2.5.1. Tanımlama ve tarihçe

Fagositik hücrelerin solunum patlaması ve süperoksit yapımı için gerekli olan NADPH oksidaz sistemindeki defektlere bağlı olarak gelişen bazı bakteri ve mantarlarla tekrarlayan ve hayati tehdit eden enfeksiyonlara, artmış enflamatuvar cevaba bağlı granülom oluşumu ile karakterize heterojen, kalıtsal primer bir immun yetmezlik hastalığıdır (2).

İlk olarak Janeway ve arkadaşları (46) tarafından 1954 yılında tanımlanmasına rağmen tam olarak 1959 da Bridges ve ark.'nca (47) "çocukluk çağının ölümcül granülomatoz hastalığı" şeklinde karakterize edilmiştir. Son beş dekat içinde hastalığın moleküler ve klinik özelliklerinin daha iyi tanımlanması, uygun tedavi protokolleri ile bu ürkütücü isimden vazgeçilmiş ve hastalığın adı "kronik granülomatoz hastalık"

olarak değiştirilmiştir (48). Hastalık tedaviye dirençli bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar ile karakterize olduğu için araştırmacılar hastaların granülosit fonksiyonları üzerinde durmuşlardır. Ouie ve ark.'ı (49) 1967'de hastaların nötrofillerin in vitro olarak *S.aureus* ve *Escherichia coli*'yi öldürme fonksiyonunu anormallik olduğu göstermişlerdir. 1967'de Holmes ve ark.'ı (50) fagositlerin bakterileri fagosite etse de oksidatif patlama ile tam olarak öldüremediğini in-vitro göstermişlerdir. Aynı yıl içinde Baehner (51) ve Nathan (52) KGH'li olguların nötrofillerinde bozulmuş olan nitroblue tetrazolium redüksiyon yöntemini (NBT), tanı testi olarak göstermişlerdir. 1973'te süperoksit (OH-) radikalinin solunum patlaması sırasında ilk oluşan ve diğer oksijen metabolitleri için prekürsör olduğu gösterilmiştir (53).

1974 yılında KGH'de nötrofillerin süperoksit anyonu üretemediği gösterilmiştir. Hohn ve Lehrer (54) NADPH oksidaz sistemi ekspresyonundaki defekti tanımlamıştır. Solunum patlamasının ve ara ürünlerin (süperoksit, hidrojen peroksit) yapılamamasının gösterilmesi tanı ve tanımlayıcı olarak kullanılmaya başlanmış ve hala kullanılmaya devam etmektedir. 1986 da Baehner ve ark'ı (55,56) X'e bağlı KGH'da xp21 genini bulmuş ve ardı sıra NADPH oksidaz kompleksinin gp91^{phox}, p22^{phox}, p67^{phox}, p47^{phox} altgrupları farklı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir.

2.5.2. Genetik

Hastalığın NADPH oksidaz sistemindeki 5 farklı gendeki (gp91^{phox}, p47^{phox}, p22^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox}) mutasyona bağlı 2 farklı kalıtım paterni mevcuttur (40) (Çizelge 2.3).

Gp91^{phox} proteini kodlayan gen CYBB (sitokrom b alt grubu) (OMIM*300481), X kromozomunda xp21.1 bölgesinde bulunur ve X'e bağlı KGH yol açar ve toplam olguların %65-70'ini oluşturur. Geri kalan %30'luk kesim otozomal resesif kalıtıma bağlı olarak kadın ve erkek eşit sıklıkla görülmektedir (57-60). Bu olgular p47^{phox}'u kodlayan Nötrofil sitozolik faktör-1 (NCF1) geni, 7q11.23 bölgesinde yerleşmiş ve hastaların %25'inden sorumludur (OMIM*233700). Diğer sitozolik komponent olan p67^{phox}'u kodlayan NCF2, 1q25 bölgesine yerleşmiş ve hastaların %2'sinden sorumludur (OMIM*233710). Membran bağımlı diğer bir komponent olan p22^{phox}, CYBA geninde kodlanıp 16q24 bölgesine yerleşmiş olup, hastaların %3'ünden sorumludur (OMIM*233690) (61). NCF4 geninde kodlanan sitozolik faktör olan p40^{phox}, 22a13.1'de lokalize olup, bu gendeki mutasyona bağlı olarak ciddi inflamatuvar

barsak hastalığı ve hafif düzeyde bozulmuş solunum patlaması aktivitesi ile karakterize bir hasta tanımlanmış (62). Gp91^{phox} proteinin ekspresyonuna göre değerlendirilecek olursa, proteinin hiç yapılmadığı delesyon ya da stop kodon mutasyonu durumunda gp91^{phox0} olarak belirtilmekte, hipofonksiyonel azalmış protein ekspresyonunun olduğu splicing ya da promotor defekt durumunda gp91^{phox-} ve normal sayıda fakat hipofonksiyonel protein üretimini olduğu missense mutasyon durumunda gp91^{phox+} olarak tanımlanmaktadır.

Çizelge 2.3. Kronik granülamatoz hastalığın moleküler ve genetik olarak sınıflandırılması (61,64).

Etkilenen komponent	Kromozom lokalizasyonu	Gen	Geçiş paterni	Sıklık
gp91 phox	Xp21.1	CYBB	X'e bağlı	%70
p22 phox	16p24	CYBA	Otozomal resesif	%5-6
P47 phox	7q11.23	NCF-1	Otozomal resesif	%20
P67 phox	1q25	NCF-2	Otozomal resesif	%5-6

Otozomal resesif kalıtım, etnik köken ve ırk açısından benzer sıklıkta görülmekle birlikte X'e bağlı tipinde olguların üçte birinde de-novo mutasyon görülebilmektedir. NADPH oksidaz aktivitesinde p67^{phox} ile etkileşimde ve hücre iskelet yapısında oldukça önemli olan Rac2 eksikliğinde lökosit adezyon defektine benzer şekilde kemotaksi ve adezyonun bozulduğu, ciddi bakteriyel enfeksiyon, nötrofili ve pü oluşumu olmadan seyreden iki olgu tanımlanmış. KGH 'li olgularda bu 4 farklı alt grup içinde genetik olarak; delesyon, insersiyon, splice site defektleri, nonsense, missense ve nadir olmak üzere regülatuarr mutasyonlar tanımlanmıştır (40,63).

2.5.3. Epidemiyoloji

Hastalığın sıklığı Amerika Birleşik Devletleri'nde 1:200.000/canlı doğum, İsveç'te 1:450.000/canlı doğum, Japonya'da 1.300.000/canlı doğum, İsrail Yahudilerinde 1:218.000/canlı doğum iken, İsrail Araplarında 1:111.000/canlı doğum olarak saptanmıştır (2). X'e bağlı kalıtım nedeniyle öncelikli olarak erkeklerde görülmekte birlikte olguların 1/3'ünde de novo mutasyonlara rastlanmaktadır. Sıklık etnik kökenlere bağlı olarak değişmekte, akraba evliliğinin sık görüldüğü toplumlarda otozomal resesif formları daha sık görülmektedir (65).

KGH erken çocukluktan erişkin döneme kadar herhangi bir zamanda görülebilse de genellikle olgular erken çocukluk ve beş yaş altında tanı almaktadır. Bazı serilerde ortanca tanı yaşı 2.5-3 yaş arasında görülse de son yıllarda geç çocukluk ve erişkin yaşlarda tanı alan olguların sayısı giderek artmaktadır. Genel olarak X'e bağlı KGH, p47^{phox}, a göre daha erken yaşta tanı almakta ve ciddi enfeksiyonlar daha erken yaşta ortaya çıkmaktadır. p22^{phox} ve p67^{phox} alt grubundaki hastalar ile ilgili geniş bir seri olmadığı için hangi gruba daha yakınlığı ile ilgili henüz net bir bilgi bulunmamaktadır (39,63).

2.5.4. Klinik görünüm

Heterojen bir hastalık olması, farklı genotip ve fenotipik etkileşimler nedeniyle klinik bulgular ve prognoz oldukça değişkenlik göstermekle birlikte, KGH'li olgularda ortak özellik, infant veya çocukluk döneminden itibaren tekrarlayan ciddi bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarla karakterize olmalarıdır. Bazı olgular ise geç çocukluk ya da erken erişkin döneminde tekrarlayan olağandışı enfeksiyonlar ile de tanı alabilmektedir (5). Genel olarak en sık görülen klinik bulgular; enfeksiyonlar, granülamatoz hastalıklar, enflamasyon ve kilo alama şeklinde görülmektedir (2).

2.5.4.1. Enfeksiyöz komplikasyonlar

KGH'li olgularda uygun antibiyotik ve anti-fungal tedavi ve profilaksiye rağmen ciddi enfeksiyonlar hala sık görülmektedir. Tipik enfeksiyonlar pürülan bakteriyel pnömoni, sinüzit ya da karaciğer absesi ya da derin doku, kemik gibi dokularda görülen nekrotizan fungal enfeksiyonlar şeklinde görülmektedir (5). Geniş çaplı birçok çalışmaya göre enfeksiyon sıklığı 0.15-0.3/yıl arasında değişmektedir (16). Winkelstein ve ark'nın (60) 368 (259'u X'e bağlı, 81'i, otozomal resesif) KGH'li olguya içeren Amerika Birleşik Devletleri kayıtlarına göre en sık görülen enfeksiyonlar; pnömoni, süpüratif adenit, ciltaltı abse, karaciğer absesi, osteomyelit ve sepsis olarak saptanmıştır. Olguların %5'inde enflamatuvar lezyonlar nedeniyle tanı konulduğu gözlenmiştir. En sık ölüm nedeni *Aspergillus* ya da *Burkholderia cepacia*'ya bağlı pnömoni ve veya sepsis olarak belirtilmiştir. Farklı merkezlerde kayıtlara göre enfeksiyon yerleri ve patojen ajanların görülme sıklıkları değişebilmektedir (Bkz. Çizelge 2.4). Kuzey Amerika kayıtlarında *Staphylococcus aureus* ve *Aspergillus* türleri gibi katalaz üreten mikroorganizmalarla enfeksiyonlar ön planda görülmekle birlikte *Serratia Marcescens*, *Burkholderia cepacia* kompleks ve *Nocardia* türleri de

enfeksiyona yol açabilmektedir. Avrupa kayıtlarında bu etkenlere ek olarak *Salmonella*, *Bacille Calmette-Guerin (BCG)* ve *tuberculosis*, enfeksiyon etkeni olarak da görülebilmektedir (15,39). Bakteriyel enfeksiyonlara genellikle ateş, lökositöz şeklinde semptomatik olmakta iken, fungal enfeksiyonlar ise asemptomatik, rutin tarama sırasında ya da ilerlemiş dönemde ortaya çıkmaktadır (66,67).

Çizelge 2.4. Farklı merkezlerdeki KGH’li olguların enfeksiyon yerleri ve sıklıkları (63).

Enfeksiyon tipi	ABD (n=368) (%)	Japonya (n=221) (%)	İran(n=41) (%)	Almanya (n=39) (%)
Pnömoni	79	88	65	67
Abse	68	77	53	41
Lenfadenit	53	85	75	72
Osteomyelit	25	22	21	15
Sepsis	18	28	*(Belirtilmemiş)	23
Referans	(195)	(80)	(120)	(100)

Pnömoni, erken dönemde başladığı için genellikle hastalığın en sık görülen tablosunun oluşturmaktadır. Katalaz pozitif mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonlar görülürken, birçok olguda kültürde üreme saptanamamaktadır. Tanı genellikle, klinik, radyolojik (direkt grafi, tomografi ya da MRI), biyopsi ve kültür ile konulmaktadır. Tekrarlayan pnömoni, akciğer absesi, efüzyon ve ampiyem, mediastinal lenfadenopati ve nekrotizan nodüller görülebilmektedir (60).

En sık izole edilen patojenler; *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens*, *Nocardia* ve *Aspergillus* türleridir. 1980’lerden sonra TMP-SMX tedavisinin rutin profilaksiye alınması ile genel olarak bakteriyel enfeksiyonlar ve Stafilokok’lara bağlı enfeksiyonların sıklığı azalmıştır. Profilaksi öncesi stafilokoklara bağlı akciğer, cilt ve kemik enfeksiyonları görülürken, günümüzde karaciğer, lenf nodu ve cilt enfeksiyonları şeklinde görülmektedir. İnfantlarda *Serratia marcescens*,’e bağlı osteomyelit ve yumuşak doku enfeksiyonları görülebilmektedir. Birleşik Devletlerdeki kayıtlarda mikobakteri enfeksiyonlarına bağlı pnömoni olguların %6’sında saptanırken, tüberkülozun endemik olduğu ülkelerde daha sık görüldüğü bildirilmektedir (60,68,69). BCG aşısına bağlı lokal BCGitis oluşabilmekle beraber disseminasyon nadir olarak görülmektedir (70). *S.aureus*, *Klebsiella* türleri, *S.marcessens*, *B cepacia* komplekse ve bazı mantar türlerine bağlı cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları

profilaksi öncesine göre azalmış olsa da hala görülebilmektedir. Bakteriyemi nadir görülmekle birlikte *B.cepacia*, *S.mercenscens* ve *Chromobacterium violaceum*'a bağlı olarak görülebilmektedir (6).

Fungal enfeksiyonlar, bakteriyel enfeksiyonlardan daha az sıklıkla görülmesine rağmen mortalitenin en önemli sebebini oluşturmaktadırlar. Itrakonazol profilaksisi, vorikanazol, posakonazol gibi yeni anti-fungal ajanlar enfeksiyon sıklığını ve mortalite riskini azaltmıştır. *Aspergillus* türleri en sık görülen mantar enfeksiyonları şeklinde ortaya çıkmakta, enfeksiyon fungal patojenin inhalasyonu ile başlamakta, pnömoniye yol açarak kosta ve omurgaya yayılmakta ve beyine metastaz yapabilmektedir. *Aspergillus nidulans* özellikle yüksek oranda osteomiyelit ve mortaliteye yol açabilmektedir (60). Bunların yanında yeni tanımlanmış bazı mantar türleri bu hastalıkta görülebilmektedir. *Neosatorya udagawae*, karakteristik olarak KGH'li olgularda kronik, progresif invazif enfeksiyona yol açmakta, *Penisilium piceum* gibi patojen olmayan mantarlar hastalarda akciğerlerde nodüller ve osteomyelite yol açabilmektedir (71). Endemik dimorfik mantar enfeksiyonları olan histoplasmosis, blastomycosis, coccidioidomycosis KGH'li olgularda enfeksiyona neden olmamaktadır. Saman yığını, ölü yaprak gibi ortamların solunumuna ile *Aspergillus*'a bağlı olarak gelişen yeni tanımlanmış olan "mulch pnömonitis" görülebilmektedir. Bu fenomen; organik maddelerin ve fungusların solunumu ile aniden gelişen nefes darlığı, ateş, radyolojik olarak pulmoner infiltrasyonla karakterize bir hipersensitivite reaksiyonu olup KGH'li olgularda tanı sırasında bile görülebilmektedir (63). KGH'li olgularda görülen enfeksiyöz ve enfeksiyöz dışı durumlar ve sorumlu ajanlar Çizelge 2.5'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.5. KGH olgularda enfeksiyonlar, klinik durumlar ve ilişkili organizmalar (72).

Enfeksiyonlar	Enfeksiyonların Yüzdesi	Hastalık Durumları	Olguların yüzdesi	Enfeksiyöz ajanlar	İzole edilenlerin yüzdesi
Pnömoni	70-80	Lenfadenopati	98	Staphylococcus aureus	30-50
Lenfadenit	60-80	Hipergammaglobunemi	60-90	Escherichia coli	5-10
Cilt enfeksiyonları	60-70	Hepatosplenomegali	50-90	Aspergillus	10-20
Hepatik/perihepatik abse	30-40	Splenomegali	60-80	Salmonella	5-10
Osteomyelit	15-30	Kronik Hastalık Anemisi	Sık	Klebsiella	5-10
Otitis Media	15-20	Düşük kilo	70	Burkholderia cepacia	5-10
Konjuktivit	10-20	Kronik ishal	20-60	Staphylococcus epidermis	5
Enterik enfeksiyonlar	5-15	Kısa yapı	50	Serratia marcescens	5-10
İdraryolu enfeksiyonu	5-15	Gingivitis	50	Enterobacter	3
Sinüzit	<10	Dermatit	35	Streptococcus	4
Renal/perinefritik abse	<10	Koryoretinit	0-35	Proteus	3
Beyin absesi	<5	Hidronefroz	0-25	Candida albicans	3
Perikardit	<5	Ülseratif stomatit	5-25	Nocardia	2
Menenjit	<5	Pulmonar fibroz	<10	Haemophilus influenzae	1
		Ösafajit	10	Pneumocystis carinii	<1
		Gastrik anal daralma	10	Mycobacterium fortuitum	<1
		Granülamatoz ilokolit	10	Chromobacterium violaceum	<1
		Granülamatoz sistit	10	Chromobacterium violaceum	<1
		Glomerulonefrit		Francisella philomiragia	<1

2.5.4.2. Enfeksiyon dışı komplikasyonlar

2.5.4.2.1 Enflamatuvar komplikasyonlar

Enfeksiyon hastalıkları dışında KGH’li olguların diğer karakteristik özellikleri granülom ve enflamasyon oluşturmalarıdır. Proenflamatuvar mediatorlerdeki artış ya da anti-enflamatuvar mediatörlerdeki azalmaya bağlı olarak enflamatuvar komplikasyonlar ve otoimmün hastalıklar sıklıkla görülmektedir (73).

NADPH oksidaz normalde apoptozda ve makrofajların apoptotik hücreleri temizlemesinde düzenleyici bir rol üstlenir. KGH’li olgulara azalmış NADPH oksidaz aktivitesine bağlı olarak makrofaj aktivitesi değişmekte, antijenlerin ve intraselüler elementlerin temizlenmesi bozulmakta, nötrofil göçü yoğunlaşma ve IL-8, IL-1 β , caspaz ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin yapımında artışa yol açarak otoimmünitenin tetiklendiği düşünülmektedir (74,75). Çok çekirdekli büyük hücrelerden oluşmuş kazeöz olmayan granülomlar özellikle beyin, akciğer, karaciğer, dalak ve gastrointestinal ve genitoüriner sistemlerde oluşmaktadır. Visseral bölge tutulduğunda özellikle gastrik çıkış darlığı ve ve üreteral obstrüksiyonuna yol açabilmektedir. Birçok

granülomda patojen tespit edilmemekte ve steroid tedavisine hızlı bir şekilde iyi yanıt vermektedir (6). KGH'li olgularda akciğerlerde de CT'de diffüz infiltrasyonlarla seyreden patojenin gösterilemediği enflamatuvar lezyonlar görülmekte ve bazı olgularda hipoksi ve solunum sıkıntısına yol açabilmektedir.

Gastrointestinal sistemde, karın ağrısı, ishal, kolit, proktit, fistül ve obstrüksiyona yol açabilmektedir. Marciano ve ark'ın (76) 140 KGH'lik bir serisinde X'e bağlı olanların %43'ünde ve otozomal ressesif geçişli olanların %11'inde semptomatik biyopsi ile ispatlanmış inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) gösterilmiştir. İBH, KGH'li olgularda özellikle perirektal alanda görülmekte ve patolojik olarak Crohn hastalığından ayırt edilmesi zor olmaktadır. İBH'lığı barsağa lokalize olup, barsak dışı bulgulara rastlanmamaktadır.

Walther ve ark'ı (77) olguların %38'inde mesanede granülom, üreteral obstrüksiyon ve idrar yolu enfeksiyonu şeklinde genitoüriner sistem ile ilgili komplikasyonlar saptamışlardır. Hem sistemik lupus hem de diskoid tipte lupus, hem KGH'li hastalarda hem de X'e bağlı kadın taşıyıcılarda rastlanmaktadır. Hastalarda genel popülasyona oranla artmış sıklıkta sarkoidoz, immün trombositopenik purpura (İTP), IgA nefropatisi, juvenil idiyopatik artrit (JİA) gibi otoimmün hastalıklar görülmektedir (78,79). Amerika Ulusal Sağlık Raporuna göre olguların %10'undan fazlasında İBH dışında otoimmünite ile ilgili bulgularının olduğu gösterilmiştir (60). Otoimmünite ile ilişki tam olarak belli olmamasına karşın enflamatuvar komplikasyonlar ile ilişkili bazı genler arasında polimorfizmler öne sürülmüştür (MPO: mannoz bağlayıcı lektin; Fc reseptörleri 2a, 3a ve 3b; TNF- α ; IL-1 reseptör) (6).

Hastalarda karaciğer ile ilgili anomaliler de sık görülmektedir. 194 olguyu kapsayan bir kohortta olguların %73'ünde karaciğer enzimlerinde yükseklik ve %25'inde alkalen fosfatazda yükseklik ve %15'inde ilaç ilişkili hepatit tablosuna rastlanmıştır (80). Yine bu seride olguların %80'inde portal venopati ile ilişkili splenomegali belirtilmiştir. Karaciğer absesi ve hepatomegali olguların 1/3'ünde görülmekte ve portal hipertansiyon ve trombositopeni mortalite ilişkili önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (81).

Kororetinal lezyonlar özellikle X'e bağlı KGH'li olguların %24'ünde görülmektedir. Bunların büyük çoğunluğu asemptomatik seyretmekle birlikte bazı olgularda geniş retinal hasara bağlı körlük gelişebilmektedir (82). Tekrarlayan enfeksiyonlara bağlı olarak bronşektazi, obliteratif bronşiolit ve kronik fibroz gibi

kronik solunum yolu hastalıkları sık görülmektedir (63). Nörolojik problemler; beyin absesi, santral sinir sisteminde granülamatoz hastalık, leptomeningeal ve fokal beyinde lipit-makrofaj yüklü infiltrasyonlar şeklinde ortaya çıkabilmektedir (83,84). KGH'lı olgularda büyüme gelişme geriliği ve kilo alamama oldukça sık rastlanmakta, boy uzaması erken erişkin döneme kadar uzamayılabilmektedir (85). Atopik dermatit benzeri hastalık, sistemik ya da derin yerleşimli cilt enfeksiyonları, fasial granülom, discoid lupus, seboraik dermatit benzeri hastalık şeklinde cilt bulgularıda hastalarda sıklıkla görülebilmektedir (86,87,88).

2.5.4.3. Diğer klinik tablolar

2.5.4.3.1. McLeod sendromu

Kell kan hücre antijen sistemini kodlayan gen, CYBB'ye bağlanarak gp91 phox'u kodlayan gene yakın bölgede olup Xp21'de kodlanmaktadır. X kromozomunda delesyonu olan olgularda her iki gende (contiguous gen) bozukluğa bağlı olarak X'e bağlı KGH ve McLeod sendromu görülmektedir. Bu sendrom, akantositoza bağlı anemi, yükselmiş kreatin fosfarilaz, geç başlangıçlı periferik ve santral sinir sistemi bulguları ile karakterizedir (89).

Eş zamanlı görülebilen immun yetmezlikler KGH'li olguların mevcut hastalığı komplike hale getirmekte ve enfeksiyöz komplikasyonları arttırabilmektedir. KGH'li olguların allel varyantlarında görülebilen Mannoza bağlayıcı lektin (MBL), otoimmünite ve pulmoner komplikasyonlarla seyretmesine yol açmaktadır. IgA eksikliği ile ilişkili KGH'li olgular da bildirilmiştir (90,91,92).

2.5.4.3.2. X'e bağlı taşıyıcılar

X'e bağlı gp91 phox mutasyonu taşıyıcılarda X kromozomunun liyonzasyonu (birinin ya da diğerinin X kromozomunun her hücresinde inaktivasyon) bağlı olarak fagositlerde biri normal, diğerinde bozulmuş olan iki farklı oksidatif patlamaya yol açmaktadır. Fagositik hücrelerin %10'unun normal oksidatif patlama yapması ciddi bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara karşı koruyucu olabildiği için X'e bağlı taşıyıcı olanların birçoğunda klinik iyi seyirli iken, %5-10'un altında oksidatif patlama yapan olgularda hafif-orta şiddetli KGH formları görülebilmektedir (2). Heterozigot kadın X'e bağlı kadın taşıyıcılarında diskoid lupus, aftöz stomatit ve fotosensitivite şeklinde farklı klinik tablolar görülebilmektedir (93,94).

2.5.5. Tanı yöntemleri

Klinik olarak tekrarlayan ciddi, olağan dışı ve KGH'li olgularda görülen organizmalarla enfeksiyon öyküsü olan olgular, KGH açısından incelenmeli ve nötrofil fonksiyon testlerinin yapılması gereklidir. Ailede KGH öyküsü olan bireylerde neonatal veya postnatal erken dönemde taranmalıdır. KGH'nin patognomonik bir bulgusunun olmamasına rağmen hepatosplenomegali, ishal, anormal yara iyileşmesi olan olgular dikkatle incelenmelidir. Tipik bir laboratuvar bulgusu olmamasına rağmen hastalarda, tekrarlayan enfeksiyonlara bağlı hipergammaglobunemi, kronik hastalık anemisi, özellikle enfeksiyon dönemlerinde artmış eritrosit sedimentasyon sayısı ve C -reaktif protein görülebilir (Bkz. KGH tanısal yaklaşım, Çizelge 2.6) (63,72).

2.5.5.1. Tanısal testler

Nötrofil oksidatif patlama yanıtını ölçmeye dayanan, süperoksit yapımın ölçüldüğü testlerdir. Bu testler; direkt süperoksit yapımının ölçülmesi, ferrokrom c redüksiyon testi, kemiluminesans, nitroblue tetrazolium (NBT) redüksiyon testi ve dihidrodammin-123 (DHR) oksidasyon testleridir (2). Günümüzde DHR-123 testi kolay uygulanabilir olması, X'e bağlı ve otozomal ayırımında yardımcı olması ve çok az sayıda hücre için bile sensitif olması nedeniyle tercih edilmektedir (95,96). Tanısal testler sonucuna göre immunblot ya da moleküler sekans çalışmaları ile doğrulama ve spesifik genotiplendirme yapılmaktadır (2).

2.5.5.1.1. Dihidrodammin-123 (DHR) testi

Reaktif metabolitlerin kantitatif ölçümünde flow sitometri kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Nötrofil oksidatif patlama yanıtının tespitinde, yanıt sırasında üretilen reaktif oksijen metabolitlerine (O_2^- ; H_2O_2) farklı afiniteleri olan farklı kimyasallar kullanılmıştır [DHR 123; H_2O_2 , HE (hydeoethidine); O_2^-]. Mitokondri aktivasyonu ile florasan özelliği kazanan bir boya olan DHR, oksidatif patlama geç döneminde üretilen H_2O_2 etkisi ile okside olarak güçlü florasan özellikteki rhadamin 123'e indirgenir (myeloperoksidaz varlığında). 488 nm'de ışık yayarak akım sitometrik analizde histogramda sağa doğru kayma gerçekleşir. KGH'li olgularda oksidatif patlama gerçekleşmediği için indirme olmaz, rhadamine 123 ortaya çıkmaz ve histogramda sağa doğru kayma gerçekleşmez (97,98). Bazı durumlarda yalancı pozitiflik görülebilir. Miyeloperoksidaz eksikliği ve SAPHO sendromunda (sinovit, akne, püstülozis, hiperostoz ve osteit) süperoksit yapımı normal olmasına karşın (NBT

testi ve ferrisitokrom c testi normal) DHR testinde anormallik görülebilmektedir (99,100). Ayrıca Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) eksikliğinde de azalmış solunum patlaması ve bakteriyel enfeksiyonlara artmış yatkınlık ile karakterize olup, KGH'nin aksine hemolitik anemi ile ilişkilidir (101).

DHR 123 testi ile akım sitometrik analiz sonrasında PMA ile uyarılan "stimule" fagositlerden elde edilen florasın yoğunluğunun geometrik ortalamasının " uyarılmamış" fagositlerden elde edilen florasın yoğunluğunun geometrik ortalamasına oranı stimülasyon indeksi (Sİ) hesaplanır. Sağlıklı kişilerde Sİ değeri 60-150 arasına değişmekte hastalarda ise 1-10 arasında değişebilmektedir (41).

2.5.5.1.2. Nitroblue tetrazolium testi (NBT)

En eski ve en bilinen KGH tanı testidir. Basit ve hızlı bir şekilde fagosit NADPH oksidaz aktivitesi tayinidir. Nitroblue boyası ve tetrazolium tuzları, oksijen radikalleri etkisi ile sarı renkten koyu mavi/siyah formazan bir renge dönüşür. Sağlıklı kişilerde NBT boyası indirgenerek sarıdan maviye dönüşürken, KGH'li olgularda indirgenme olmadığı için renk değişimi olmaz ve sarı renkli kalır. Bu testte pozitif hücrelerin %95'inde fagosit oksidaz aktivitesi normal olarak saptanması gereklidir (51).

2.5.5.2. Doğrulayıcı testler

İmmunblot ya da DNA dizi analizi testleri hastalığın doğrulanması ve genetik danışma verilebilmesi için yapılabilir.

2.5.5.3. Prenatal tanı

KGH'li aile bireyinin kesin mutasyonu belli ise kordosentez ile alınan fetal kandandan genotiplendirme yapılabilir ayrıca benzer şekilde fetal kan örneğinden DHR- 123 yöntemi ile oksidatif fonksiyonları ölçülerek prenatal danışma verilebilir (72).

Çizelge 2.6. KGH’de tanısal yaklaşım (5).

Klinik bulgular	Ciddi tekrarlayan pulmoner ve hepatik enfeksiyonlar ve abseler
	<i>B.cepacia</i> , <i>Nocardia</i> ve <i>Aspergillus</i> gibi spesifik etyolojik patojenlerin saptanması
	Genitoüriner ve gastrointestinal sistemde granülamatoz lezyonlar
Laboratuvar	Anemi, poliklonal hipergammaglobunemi, CRP ve sedimentasyon artışı, T ve B lenfosit immunitésinin normal olması
Tanı testleri	NBT, DHR-123
Moleküler testler	İmmunblot ya da akım sitometri Moleküler teknikler (Gen sekans analizi ve alt grup için mutasyon analizi)

2.5.6. Ayırıcı tanı

KGH’ta ayırıcı tanıda özellikle özellikle KGH’li olgularda gözlenen mikroorganizmalar ile tekrarlayan ve veya olağan dışı ciddi enfeksiyonlarla karakterize hastalıklar gözden geçirilmelidir. Kistik Fibroz, HiperIgE sendromu, Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz eksikliği ve Crohn hastalığı ayırıcı tanıda düşünölmelidir (72).

2.5.7. Tedavi

KGH tanımlandığı 1950’lerden beri hastalığın prognozunda belirgin şekilde iyileşme saptanmıştır. Tedavinin ana hedefleri;

1. Aşılama ve ajan patojenden kaçınarak enfeksiyonların önlenmesi
2. Anti-mikrobiyal profilaksi (TMP-SMX, İtrakanzol)
3. İmmunmodölatör INF- γ tedavisi
4. Enfeksiyöz komplikasyonların agresif ve hızlı bir şekilde parenteral antibiyotik tedavisi
5. İnate ve tekrarlayan durumlarda cerrahi tedavi (72).

KGH’li olguların genel olarak enfeksiyon riskini azaltmaları için birtakım durumlar mevcuttur. Öncelikle BCG aşısı dışında canlı virüs aşıları dahil bütün rutin aşılar yapılmalı, cilt yaralanmalarında sabunlu su ile yıkanmalı ve %2 hidrojen peroksit gibi antiseptikler kullanılmalıdır. Perianal abse oluşumunun önlenmesi için konstipasyon önlenmeli, sabunlu ılık oturma banyoları ile anal hijyen sağlanmalıdır. Sigara içilmemesi, içilen yerlerin havalandırılması, yatak başı nemlendirici kullanılmaması, *Aspergillus* sporları kaynağı olabilecek ortamlardan kaçınılmalıdır. Gingivostomatitin önlenmesi için, düzenli ağız bakımı yapılmalıdır (72).

2.5.7.1. Antimikrobiyal profilaksi

Antimikrobiyal profilaksi TMP-SMX, antifungal profilaksi (Itrakonazol) ve immunstimulan tedavi olan INF- γ triadından oluşmaktadır. Bu tedavi şeması ile ciddi enfeksiyonlara bağlı mortalite sıklığında belirgin azalma gözlenmiştir (9,102,103). KGH'li olgularda ilk kullanılan ajanlar nafsilin ve TMP-SMX iken zamanla TMP-SMX standart tedavi rejimi olarak yerini almıştır. TMP-SMX profilaksisi ile yapılan retrospektif bir çalışmada enfeksiyonlar için her 100 ayda enfeksiyon sayısı X'e bağlı olanlarda 7.1'den 2.4'e, otozomal resesif kalıtmı olanlarda ise 15.8'den 6.9'a düştüğü gösterilmiştir. TMP-SMX, KGH'li olgularda en sık görülen 4 ajanı kapsadığı ve kommensal barsak mikroflorasına çok az etkisi olduğu için tercih edilmektedir (103). Profilaktik olarak 5 mg/kg/gün iki doz olacak şekilde verilmekte, alerjisi olanlar için alternatif olarak dikloksasin, oral sefolosporin ya da flurokilonon tercih edilmektedir.

Akut enfeksiyon durumunda kültür sonuçları çıkana kadar ampirik olarak *S.aureus*, *Burkholderia*, *S.marcescens* ve *Nocardia*'yı içeren oral ciprofloksacin ve intravenöz meropenem şeklinde başlanmalıdır. Ek olarak TMP-SMX iki katına çıkarılmalı, pnömoni durumunda vorikanazol antifungal olarak eklenmelidir (104).

Azol grubu antifungallerin tedaviye eklenmesi ile KGH'li olgularda fungal enfeksiyonların sıklığı ve mortalite sıklığında belirgin azalma sağlamıştır. Gallin ve arkadaşlarının yaptığı prospektif randomize çift kör plasebo kontrollü bir çalışmada 39 KGH'li olgunun 1 yıllık izlemi boyunca itrakonazol alan grupta ciddi 1 fungal enfeksiyon gözlenirken plasebo grubunda 7 ciddi fungal enfeksiyon gözlenmiştir (102). Itrakonazol <13 yaş 100 mg/gün dozunda, >13 yaşında 200 mg/gün dozunda verilmektedir. Itrakonazole dirençli fungal enfeksiyon durumunda vorikanazol ya da posakonazol tedavi verilebilir (105).

2.5.7.2. İmmunmodulator tedavi [İnterferon gamma (IFN- γ)]

İnterferon-gamma, T hücreleri, doğal öldürücü (natural killer-NK) ve NKT hücreleri tarafından üretilen doğal ve adaptif immun cevapta rol oynayan oldukça önemli bir sitokindir. Konak savunmasında ve immun regülasyonda; antiviral, antimikrobiyal, anti-tümoral özelliği ile etki göstermektedir (106). Fagositik hücreler üzerinde pleiotropik etki ile konak savunmasında önemli rol oynar. T hücre differansiasyon, aktivasyon, homeostazında etkilidir. Dentritik hücreler ve makrofajları stimule ederek, MHC gösterimin artması, antijen sunumu ve ek-uyarıcı moleküllerin

salınımını denetler. NK hücrelerinin sitotoksik etkilerinde ve hücre-ilişkili cevapta etkili olup, nötrofillerde; kemokin yapımının artması, adhezyon moleküllerinin aktivasyonu, süperoksit yapımının uyarımı ve solunum patlamasında etkili olduğu gösterilmiştir (106,107).

Endojen IFN- γ , altmış altı aminoasitten oluşan 12.kromozomda kodlanan bir protein iken rekombinat IFN- γ E.coli'den saflaştırılmış 139 aminoasitlik bir monomerdur. Antiviral, immunmodölatör ve antiproliferatif aktiviteye sahip, yarılanma ömrü 3.5-7.5 saat olup, bioyararlanımı %89 oranındadır (108).

Majör makrofaj aktive edici faktör olup in vivo ve in vitro olarak reaktif oksijen ara ürünleri üretimini arttırdığı ve mikroorganizmaların ölümüne yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca Lepramatoz lepra ve kanser tedavisinde, monositlerin hidrojen peroksit yapımını arttırdığı saptanmıştır (109). KGH'li olgulara verilen INF- γ tedavisi ile in-vitro olarak monosit ve granülositlerde süperoksit yapımında parsiyel düzelme saptandığı, belirgin bir toksisite göstermeksizin, enfeksiyon sıklığında, hastaneye yatış sıklığında ve yaşam kalitesinde düzelme sağlandığı için tedavi protokollerine yer almaktadır (13).

Vücut yüzey alanı 0.5 m^2 'in üzerindeki çocuklar için doz 50 mcg/m^2 iken yüzey alanı $<0.5 \text{ m}^2$ 'in altındaki çocuklar için 1.5 mcg/m^2 şeklinde subkutan olarak haftada 3 gün olacak şekilde verilmektedir. Ateş, miyalji en sık görülen yan etkiler olup, gece korkuları, yorgunluğa yol açabilmektedir (63). Doksanlı yıllardan beri kullanılmasına, etkinliği ile ilgili birçok çalışmaya rağmen tedavideki yeri ve etkinliği hala tartışılmaktadır. Erken çalışmalar, oksidatif metabolizma üzerinde uzun dönem iyileştirici özelliği olduğu, bakteri öldürme ve sitokrom b558 gibi NADPH oksidaz enzim sistemi üzerinde fonksiyonel olarak etkili olduğunu göstermekle birlikte, son dönem çalışmalarda IFN- γ tedavisinin klinik etkinliğinin, NADPH oksidaz aktivitesi üzerinden olmadığını göstermektedir (8-12). Geniş kapsamlı çok merkezli plasebo kontrollü bir çalışma INF- γ tedavisi alan ve almayanlar karşılaştırıldığında, yaş, cins, profilaksi olarak antibiyotik kullanımı ve mutasyon tipine bakılmaksızın, INF- γ alanlarda plasebo grubuna göre ciddi enfeksiyon sıklığının %70 daha az olduğu saptanmıştır (2). Aynı çalışmada in vitro süperoksit yapımı, bakterisidal aktivite ya da sitokrom seviyesinde bir farklılığı yol açmadığı saptanmamıştır. Başka bir çalışma da in-vitro olarak Aspergillus conidia'ya karşı nötrofil aktivitesinde artışa yol açtığı gösterilmiştir. Yakın dönem retrospektif bir İtalyan çalışmasında antimikrobiyal

tedaviye eklenen INF- γ tedavisinin etkili olmadığı gösterilmiştir (16). KGH'li olgularda IFN- γ tedavisi ile ilgili birçok çalışma modern antifungal profilaksi tedavi öncesinde yağılmış oluğu için, IFN- γ tedavisinin etkinliği ile ilgili yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Farklı KGH grupları, farklı merkezler ve ülkelerin hastaneye yatış ve anti-mikrobiyal tedavi konusunda değişken tedavi protokolleri nedeniyle de etkinliği konusunda tartışmalar devam etmektedir.

2.5.7.3. Akut enfeksiyonların tedavisi

KGH'li olgularda hayati tehdit edici enfeksiyonlar her dönem görülebilmektedir. Özellikle mantar enfeksiyonları asemptomatik ya da hafif seyirli başlayabildiği için sedimentasyon hızı ve C-reaktif protein artışı gizli bir enfeksiyonun başlangıcı konusunda bilgi verebilir. Enfeksiyon etkenini saptamaya yönelik, grafi, ultrason, BT ve MR görüntüleri yapılmalı, spesifik etkene yönelik kültürler alınmalıdır. Pnömoni için ampirik olarak bakteri/nocordia için intravenöz TMP-SMX'e ek olarak flurokinolon ya da meropenem, mantarlar için vorikanazol başlanmalıdır. Stafilocok'a bağlı pnömoni sıklığı azalsa da karaciğer absesi ve lenfadenitin en önemli sebebidir. Genel olarak mantar enfeksiyonları daha yavaş seyirli başlarken, bakteriyel enfeksiyonlar akut olarak başlamaktadır. Buna rağmen saman benzeri otların inhalasyonu ile ortaya çıkan hipoksinin eşlik ettiği akut fulminan pnömonitis tablosu olarak da ortaya çıkabilmektedir. Direkt grafi normal olmamasına rağmen BT'de diffüz retikülonodüler infiltrasyonlar görülebilmektedir. Hem antifungal hem de steroid tedavisi başlanmalı, enfeksiyon tedavisi kontrol altına alınsa bile steroid tedavisine uzun dönem devam edilmelidir. Hayati tehdit edici fungal enfeksiyonlarda granülosit transfüzyonu verilmekle birlikte tekrarlayıcı transfüzyonlar alloimmunizasyona yol açarak hematopoetik kök hücre nakli başarı şansını azaltabilmektedir (2,5,6).

2.5.7.4. Enflamatuar ve otoimmün komplikasyonların tedavisi

KGH'li olgularda enflamatuar ve otoimmün komplikasyonların tedavisi, olguların bağışıklık sisteminde hata olması ve kullanılan ilaçların immunsupresif olmasından dolayı zor olmaktadır. Birçok olgu kortikosteroidlere iyi cevap verse de tedavi süresi uzayabilmektedir. Steroid dışında sülfasalozin ve azotiopurin tedavisi verilebilmekte infliximab gibi TNF- α inhibitörleri anti-enflamatuar olarak

kullanılmaktadır. Artrit ve lupus benzeri problemlerde metotreksat ve hidoksiklorokin tedavisi etkili bulunmuştur (6,110).

2.5.7.5. Küratif tedavi

2.5.7.5.1. Kök hücre nakli

Günümüzde KGH'da bilinen kesin tek tedavi seçeneği allojenik kök hücre naklidir. KGH'da hematopoetik kök hücre defektin kaynaklandığı ve %5-10 oranındaki donor hücresinin hakim olduğu kimerik yapının KGH'lı hastalarda enfeksiyonları kontrol edebileceği bildirilmiştir (111). 1973'te ilk hematopoetik kök hücre naklinden beri 99'ün üzerinde (kordon kanı dışında) transplant bildirilmiştir. Bu transplantların %50'si son 10 yıl içinde yapılmıştır. Miyeloablatif olmayan rejimlerin uygulanması ile transplant riski azalmış, aktif enfeksiyon döneminde bile transplant yapabilme olanağı oluşmuştur. Akraba dışı transplantasyonun uygulanmasından günümüze kadar 22'in üzerinde olguya başarı ile nakil yapılmıştır (6).

KGH'lı olgulara Avrupa'da Kuzey Amerika'ya göre daha fazla sıklıkla HKHN tedavisi tercih edilmektedir. Avrupa da 1985-2000 yılları arasında 27 olguya HKHN (25/27 HLA-uyumlu akraba, 2/27 uyumlu akraba dışı) uygulanmıştır. Olguların tümüne miyeloablatif tedavi verilmiş, 9 olguya reflakter aktif enfeksiyon döneminde transplant yapılmış, 3 olguda graft versus host hastalığı gelişmiş ve 1 olgu kaybedilmiştir (112). En geniş Amerika serisi Horwitz ve ark'ı (111) tarafından 10 olguya uyumlu akrabadan, miyeloablatif tedavi verilmeden T hücre deplesyonu yapılarak transplant uygulanmış, olguların 3'ü 8-14 ay içinde ölürken 6 olguda en az %33'lük engraftman sağlanmıştır. Geri kalan 5 alıcıda transplantasyondan 7-9 yıl sonra bile enfeksiyon ve diğer komplikasyonlar görülmeden izlendiği belirtilmiştir. Güngör ve ark'ı (113) yüksek riskli erişkinlere daha az toksik ve kısa süreli hazırlayıcı rejim uyguladığı 3 olguda tam kimerizm ve 12-27. aylarda normal nötrofil fonksiyonu göstermişlerdir.

KGH'lı olgularda allojenik kök hücre nakli giderek daha sık uygulanan ve başarı şansının giderek arttığı bir tedavi rejimi olmaktadır. 2000'li yıllar öncesi %85 olan sürvi, günümüzde akraba dışı donor uygulansa bile %90-95'lere ulaşmaktadır (6).

Hangi hastalara hematopoetik kök hücre yapalım? sorusu sorulduğunda; Kuhns ve ark'ı (4); düşük süperoksit yapımına sahip, artmış alkalin fosfataz, karaciğer absesi öyküsü olan portal hipertansiyona bağlı trombositopeni gelişen olgular erken transplantasyon için aday olgular olduğunu belirtmiştir. Transplant sonrası enflamatuvar

ve otoimmün komplikasyonların düzelebileceği gösterildiği için, belirgin enflamatuvar ya da otoimmün hastalığı olan olgular da transplantasyon açısından öncelikli olarak değerlendirilmelidir (6).

Allojenik kök hücre nakli, son yıllarda iyileştirilmiş hazırlayıcı rejim uygulaması, GVHD profilaksisi, yüksek çözünürlüklü doku grubu uyumu, transplant öncesi ve sonrası tedavilerin düzenlenmesi ile giderek gelişmiş, enfeksiyöz ve enflamasyona bağlı komplikasyonu gelişen KGH'lı olgular için uygun ve başarılı bir tedavi rejimi haline gelmiştir. Buna rağmen uygun dozda immün ablasyon, T hücre depleasyonu derecesi ve GVHD için profilaksi gibi sorular hala devam etmektedir (6).

Gen Tedavisi

KGH'lı olguların erken tanı alması uygun profilaksi tedavisinin zamanında başlanması ve sürdürülmesi ile ciddi enfeksiyon sıklıkları azalsa da olgular enfeksiyon ve diğer komplikasyonlar nedeniyle kaybedilmektedir (6). Kök hücre dışındaki tüm tedavi seçenekleri destekleyici nitelikte olup, küratif değildir ve hayat boyu devam etmesi gereklidir. KGH tek gen defektlerine bağlı meydana gelmesi, az miktarda normal fagositin konak savunması için yeterli olup enfeksiyonlara karşı koruyucu olabilmesi ve bunu sağlayabilecek geni düzeltilmiş myeloid kök hücre engraftmanı elde etmenin mümkün olması nedeniyle gen tedavisi için uygun bir hastalıktır. Normal gp91^{phox}, p47^{phox} ya da p67^{phox} geni sağlayan retroviral vektörler ile NADPH oksidaz aktivitesi eksik olan hücrelerin tekrardan yapılandırılması sağlanmıştır (114,115,116). Malech ve ark'ı (115) p47^{phox} defekti olan 5 hastada otolog CD34+ periferik kök hücrelere in vitro olarak retroviral vektörler ile p47^{phox} cDNAsı transfer etmiş ve bu geni düzeltilmiş kök hücreler hastaya verilmiştir. Gen transferi yapıp düzeltilmiş lökositler, periferik kandaki lökositlerin %0.004-%0.005'ini oluşturduğu saptanmış ki bu değer koruyucu aktivite için belirlenen sınırın altında olduğu görülmüştür. Ayrıca düzeltilmiş hücreler gen tedavisinin 6. ayından sonra tespit edilemez seviyede olduğu gözlenmiştir. Ott ve arkadaşları X'e bağlı KGH'lı 2 erişkin olguya başarılı bir şekilde busulfan ile myeloablatif tedavi sonrası kök hücre nakli ve retrovirüs bazlı gen tedavisi yapmışlar. Olguların biri 27. ayında düzeltilmiş gen hücrelerinin oksidaz aktivitesinin azaldığı bir dönemde enfeksiyon nedeniyle kaybedilmiş, ikinci olgu da devam eden gen işaretlenmesine rağmen oksidaz aktivitesinde azalma saptanmıştır. Tüm gelişmelere rağmen gen tedavisinin uzun dönem etkileri ve etkinliği ile hala önümüzde

cevaplanmamış sorular devam etmektedir. X'e bağlı KGH'lı olgularda yapılan çalışmalara göre myeloid hücrelerde normal oksidaz aktivitesinin %3-5'inin olması hafif klinikteki KGH'ya yol açması ve enfeksiyonlara karşı koruyucu olabileceğinin gösterilmesi nedeniyle dolaşımda nötrofillerinin %100'ünün düzeltilmesi immün defekti düzeltmek için gerekli olmayabilir. Özellikle inatçı ve tekrarlayan enfeksiyonlu olgularda bu geçici gen tedavisi ile düzeltilmiş hücreler klinik fayda sağlayabilir (72) (KGH tedavi için bkn Çizelge 2.7).

Çizelge 2.7. Kronik granülamatoz hastalık tedavisi (5).

Profilaksi tedavisi	
Anti-bakteriyel tedavi	TMP-SMX
Anti-fungal tedavi	Itraknazol
İmmunomodülatör tedavi	INF-γ
Enfeksiyonların tedavisi	
Ampirik tedavi	TMP-SMX, Fluorokinonlar, Antifungal tedavi
Karaciğer absesi	Cerrahi, INF-γ
Granülosit transfüzyonu	İrradiye beyaz küre
Kesin Tedavi	
Kök Hücre Nakli	HLA uyumlu akrabadan kordon kanı nakli (UCST), öncesinde miyeloablative tedavi
Gen tedavisi	Hala deneysel

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olgular

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Alerji ve İmmunoloji Polikliniğinde izlenen, çalışma prensipleri ve yöntemleri açıklanarak işbirliği önerimizi kabul eden merkezlerdeki (Ankara Çocuk Onkoloji Hastanesi Çocuk İmmunoloji BD, Behçet Uz Çocuk Hastanesi Çocuk İmmunoloji BD, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Alerji ve İmmunoloji BD, Çapa Tıp Fakültesi Çocuk Enfeksiyon ve İmmunoloji BD, Ege Üniversitesi Çocuk İmmunoloji BD, Erciyes Üniversitesi Çocuk Alerji ve İmmunoloji BD, Hacettepe Tıp Fakültesi Çocuk İmmunoloji BD, Marmara Üniversitesi Çocuk Alerji ve İmmunoloji BD, Necmettin Erbakan Üniversitesi Çocuk Alerji ve İmmunoloji BD, Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Çocuk Alerji ve İmmunoloji BD, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Alerji ve İmmunoloji BD, Tepecik Hastanesi Çocuk İmmunoloji ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İmmunoloji) INF- γ tedavisi alan ve almayan tüm olgular çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma öncesinde Etik Kurul Komite onayı alınarak hastalar sözlü ve yazılı olarak bilgilendirilerek aydınlanmış onam alındı.

Çalışmadan dışlanma kriterleri: Çalışma öncesinde aktif enfeksiyonu olan, son bir ay içinde hastaneye yatış gerektiren ve parenteral antibiyotik tedavisine ihtiyaç gösteren septisemi, bronkopnomoni, granülamatoz lezyonlar gibi komplikasyonları olan, sistemik steroid ya da benzeri immunsupresif tedavi kullanan ve hematopoetik kök hücre nakli uygulanmış olgular çalışma dışı bırakıldı.

Hasta grubunun yaş, tanı yaşı, cinsiyet, NADPH oksidaz alt grup tayini, akrabalık ve ailede primer immun yetmezlik (PİY) öyküsü, profilaktik olarak TMP-SMX, İtraknazol ve INF- γ kullanımı ve kullanma süresi gibi demografik verileri içeren anket formları doldurulması istendi. Anket formlarında ayrıca INF- γ öncesi ve sonrası hastaneye yatış gerektiren ve parenteral tedavi ihtiyacı olan ciddi enfeksiyon, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu, lenfadenit sıklığı ayrıca organ absesi, aspergilloz enfeksiyonu, granülamatoz reaksiyon ve diğer komplikasyonlar sorgulandı (Bkz. Ek-1 Anket formu).

Kontrol Grubu: Çalışma grubuna benzer yaş ve cinsiyette, immun yetmezliği, kan hastalığı ve romatizmal hastalık gibi kronik bir hastalığı olmayan, sağlıklı

çocuklardan rutin analizler, ya da elektif cerrahi öncesinde (fitık, sünnet, vb) aydınlanmış onam alınan hastalardan oluşmuştur.

Bu özelliklere uyan hasta ve kontrol grubu bireylerinden INF- γ alanlardan, son INF- γ dozunu almadan hemen önce ve INF- γ almayanlardan herhangi bir zaman diliminde BD vacutainer plastik lityum heparin içeren tüplere 5 cc venöz kan alındı. Merkezimizdeki hastalar aynı gün içerisinde, diğer merkezdeki kanlar ise saklama kapları içerisinde oda ısısında saklanarak, özel bir kargo şirketi ile taşınarak en geç 24 saat içinde çalışmaya alındı.

3.2. Laboratuvar Ölçümleri

Heparinli tüplere alınan kan örnekleri Dihidrodamin (DHR) 123 akım sitometri yöntemi ile Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik İmmunoloji ve Organ Nakli Laboratuvarında değerlendirildi.

3.2.1. Kimyasal maddeler ve kitler

1. Dihidrorodamin (DHR)-123 (Anaspec Inc., Fremont CA 94555, Cat: 85711, Lot: 87387): 10 mg vialdeki DHR123, 2 ml DMSO'da çözüldü (5 mg/ml) ve 50 μ l aliquatlar halinde -20°C'ye kaldırıldı.
2. Phorbol-12-myristate 13-acetate (PMA) (AppliChem, A0903,0005, Lot: L14725): 5 mg vialdeki PMA, 1 ml DMSO'da çözüldü (5 mg/ml) ve 100 μ l'lik aliquatlar halinde -20°C'ye kaldırıldı.
3. Eritrosit Lysing Solüsyonu (10X): 4.15 g NH_4Cl , 0.42 g NaHCO_3 , 1 ml 0.5 M EDTA 50 ml'lik distile suda çözüldü. Çalışma sırasında, distile su ile 10 kat dilüe edildi. Oda sıcaklığında saklandı.
4. Ca^{2+} - Mg^{2+} içermeyen PBS (Sigma P4417): 5 tablet PBS 1 l distile su ile çözüldü.
5. Hücre yıkama solüsyonu (BD Biosciences, Cat: 349524): Kullanıma hazırdır. Çalışma sırasında 1:10 oranında FBS ile birlikte kullanıldı ve oda sıcaklığında saklandı.
6. Interferon- γ (Imukin®, Boehringer Ingelheim): 2×10^6 U, 0.5 ml'lik ampulde (4×10^6 U/ml).

3.2.2. Çalışma solüsyonlarının ve kimyasalların hazırlanması

1. DHR-123: 5 µl stoktan alınır PBS ile 500 µl'ye tamamlandı (50 µg/ml).
 2. PMA: 2 µl stoktan alınır PBS ile 1 ml'ye tamamlandı (10 µg/ml).
 3. Lysing solüsyonu: 10X Lysing solüsyonu, bidistile su ile 10 kat dilüe edildi.
 4. Interferon-γ: stoktan 1 µl alınıp PBS ile 1 ml'ye tamamlanır (4000 U/ml).
- Hazırlanan çalışma solüsyonundan, inkübe edilecek tam kan miktarına göre, gerekli dilüsyon yapılarak son konsantrasyon, 100 U/ml'ye ayarlandı.

3.2.3. Akım sitometrik analiz

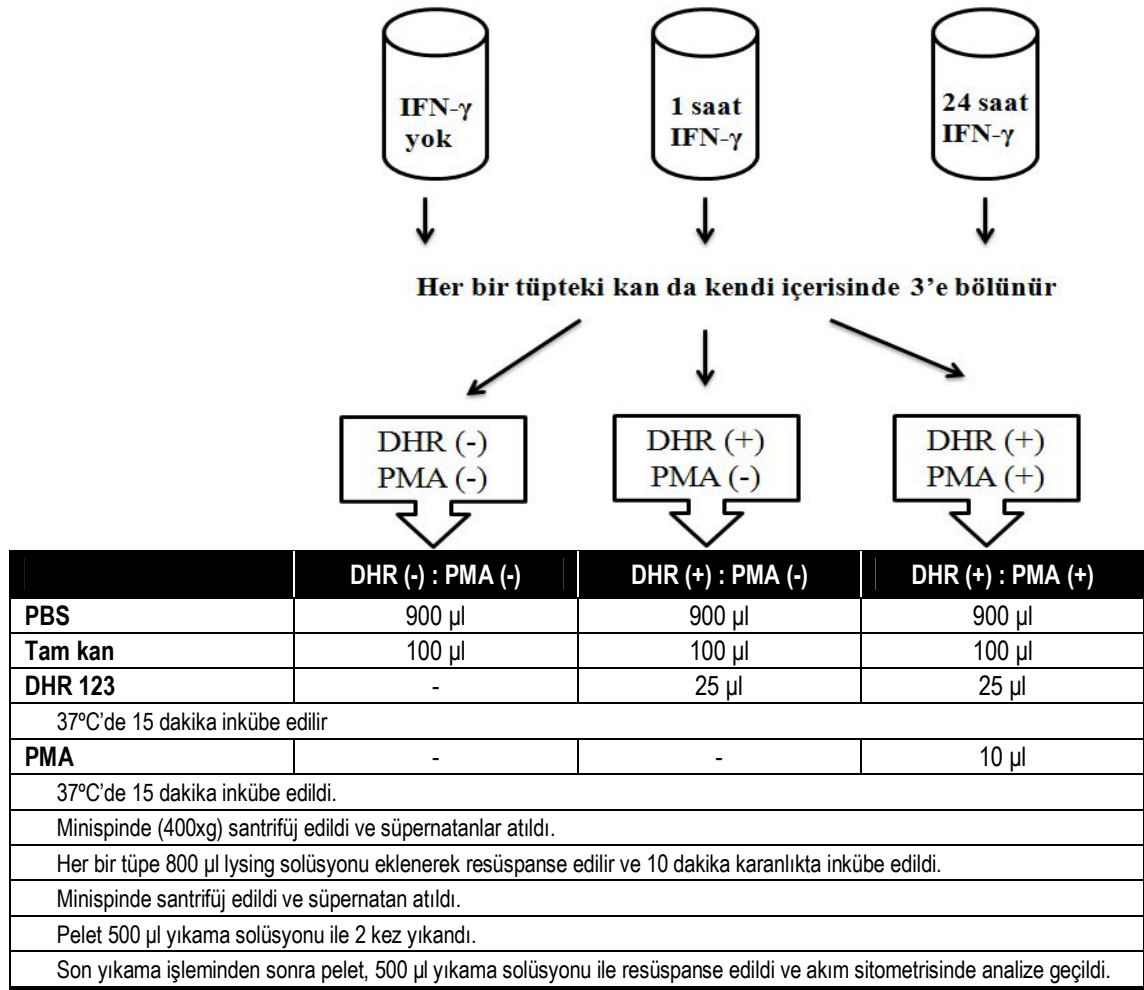
Hücrelerin akım sitometrik analizi FACSCantoII (BD Biosciences, CA, USA) ve FACSDiva yazılımı (BD Biosciences, CA, USA) kullanılarak yapıldı. 10.000 hücrenin sayıldığı analizde FL1 300 ve kompanzasyon sıfır olarak seçildi. Canlı nötrofiller etrafında 'gate' oluşturulan analizde, normal ve defektif hücre dağılımı histogramda görüntülendi. Histogram görüntülerinde x eksenini florasan yoğunluğu (intensite), y eksenini ise hücre sayısını gösterdi. 10^1 - 10^2 değeri defektif hücrelerce oluşturulan florasan yoğunluğu, 10^3 - 10^4 değeri ise normal hücrelerce oluşturulan florasan yoğunluğu göstermekteydi. Histogramda nötrofil ve monosit gruplarının sınırları belirlenerek her zirve için analiz detayları ayrı ayrı elde edildi.

3.2.3.1. Stimulasyon (uyarı) İndeksi (Si) hesaplanması

DHR-123 yöntemi ile akım sitometrik analiz sırasında, PMA ile uyarılan "stimule" örneklerden elde edilen florasan yoğunluğunun geometrik ortalamasının, uyarılmayan "unstimule" örneklerden elde edilen florasan yoğunluğun ortalamasına oranı ile stimulasyon indeksi bulundu. Stimulasyon indeksi; nötrofil ve monositler için ayrı olarak INF-γ öncesi, INF-γ sonrası 1. ve 24. saatlerinde hesaplandı.

$$\text{Stimulasyon İndeksi} = \frac{\text{Uyarılmış hücrelerin florasan yoğunluğunun geometrik ortalaması}}{\text{Uyarılmamış hücrelerin florasan yoğunluğunun geometrik ortalaması}}$$

Heparinli tüpte gelen kanlar 20 kez alt üst edilip her bir tüpteki tam kan 3'e bölündü.



Şekil 3.1. Deney prosedürü.

3.3. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler “SPSS for Windows (Version 18.0.0)” istatistik programı kullanılarak analiz edildi. İstatistiksel değerlendirmede, tanımlayıcı istatistikler kullanıldı. Nitel değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinde frekans ve yüzdeler, nicel değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinde ise Ortanca (minimum, maksimum) ve Ortalama $\pm$ Standart Sapma kullanılmıştır. Değişkenlerin istatistiksel çözümlemesinde hem parametrik hem de parametrik olmayan analiz yöntemler uygulanmıştır. Bağımlı sürekli değişkenler için fark testlerinden normal dağılım sağlandığında eşli t-testi, sağlanmadığında Wilcoxon testi, bağımlı kategorik değişkenler için Mc Nemar testi kullanılmıştır. İki gruba ait nicel değişkenlerin karşılaştırılması amacıyla Student's t testi veya Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Çok değişkenli istatistiksel çözümleme yöntemi olarak Lojistik Regresyon Analizi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Özellikler

Çalışma Ekim 2011-Haziran 2012 tarihleri arasında yapılmıştır. Öncelikle DHR testinin optimizasyonu için; kan örneklerinin çalışma zamanı ile ilgili optimizasyon yapılmıştır. Heparinli tüplere alınan periferik kan örnekleri 0, 1, 12 ve 24 saat oda ısısında bekletildiğinde, nötrofil fonksiyonlarında belirgin bir azalmanın olmadığı test edildi. Kullanılan kan miktarı, kimyasallar, inkübasyon süreleri ve akım sitometrik analizler için sağlıklı kontroller ile optimizasyon çalışmaları tamamlandı. Aydınlanmış onam ve Etik Kurul onayı alındıktan sonra kendi hasta grubumuz ve ailelerinden kan örnekleri çalışılarak testin etkinliği test edildi. İşbirliği önerimizi kabul eden merkezler ile birlikte toplam 57 hasta ve 21 kontrol olmak üzere 78 birey çalışmaya alınmıştır. Hasta grubunun yaş ortalaması 10.9 ± 7.4 (2-35) ve bu grubun 14'ü (%25) kız ve 34'ü (%75) erkek idi. Tanı yaşı ortalaması 4.9 ± 4.8 (minimum:0.1-maksimum:19) idi. Olgular NADPH oksidaz alt grup tayinine göre değerlendirildiğinde; 16 olguda (%28.1) gp91^{phox} alt tipi, 10 (%17.5) olguda p47^{phox}, 10 (%17.5) p22^{phox}, 6 olgu (%10.5) p67^{phox} alt tipine sahip iken, 15 olgu (%26.3) ise KGH alt tipi saptanamayanlardan oluşmaktaydı. Olguların 32'sinde (%56) akrabalık öyküsü (21 olguda 1.derece akrabalık, 11 olguda 2.derece ve üzeri akrabalık) vardı. 34 (%60) olguda ailede primer immun yetmezlik öyküsü ya da şüphesi ile ölen birey mevcuttu. Tedavi açısından bakıldığında olguların 54'ü (%95) TMP-SMX ve 51'i (%89.5) İtrakonazol tedavisi alırken olguların 34'ü (%60) INF- γ almakta idi. INF- γ alma süreleri ortanca değeri 26 ay (minimum:3- maksimum:173) idi (Çizelge 4.1). Kontrol grubu 21 hastadan oluşmakta, yaş ortalamaları 15 ± 9.3 (minimum:1.5- maksimum:35), 12'si(%57) erkek iken 9'u (%43) kız idi.

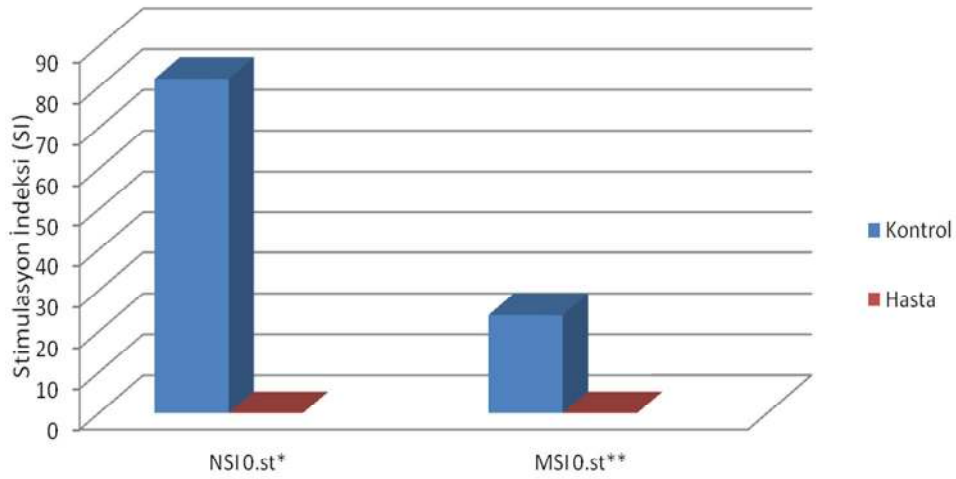
Çizelge 4.1. Hastaların demografik özellikleri.

Demografik özellikler	
NADPH oksidaz alt grup	(n= 57)
gp91phox	16/57 (%28.1)
p22phox	10/57 (%17.5)
p47phox	10/57 (%17.5)
p67phox	6/57 (%10.5)
Bilinmeyen	15/57 (%26.3)
Cinsiyet	14 Kız, 43 Erkek
X'e bağlı	16 erkek
Otozomal resesif ve bilinmeyen	Kız 14/41 (%34) Erkek 27/41 (%66)
Tanı yaşı (ortalama yıl)	4.8 (0.1-19)
Aktüel yaş (ortalama yıl)	10.9± 7.4 (2-35)
Akrabalık öyküsü (1 ve 2. derece)	33/57 (%56)
Ailede PİY* öyküsü	34/57 (%60)
TMP-SMX kullananlar	54/57 (%95)
Itraknazol kullananlar	51/57 (%92)
IFN-γ kullananlar	34/57 (%60)
IFN-γ başlanma yaşı (yıl)	Ortalama 7.6 ± 5.91; Ortanca 6.95 (0.4-23)
IFN-γ kullanma süresi (ortanca ay)	26 (3-173)

* Primer immün yetmezlik

4.2. Stimulasyon İndeksleri (Sİ)

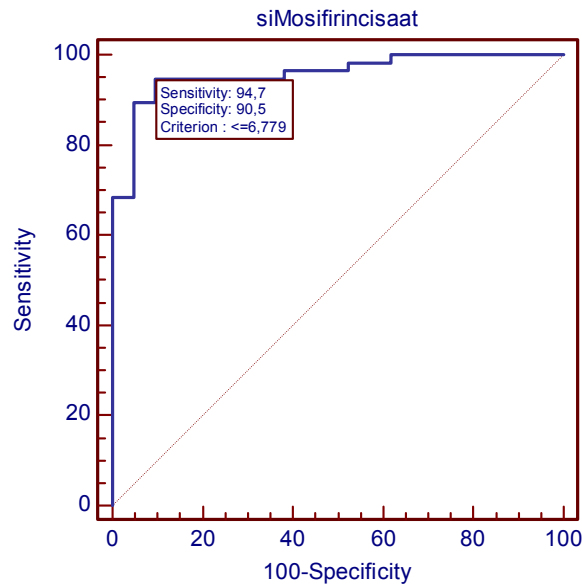
DHR-123 testi ile 57'si hasta ve 21'i kontrol olmak üzere toplam 78 olgunun nötrofil ve monositlerinin oksidatif patlama yapma kapasiteleri Sİ değerleri ölçülerek hesaplandı. Hasta grubu Sİ değerleri, kontrol grubuna göre belirgin şekilde daha düşük bulundu ($p<0.001$). Hastaların nötrofillerinin Sİ değeri ortalaması 1.95 ± 2.44 ve monositlerin Sİ ortalaması 2.68 ± 4 iken, kontrollerin nötrofil Sİ değeri ortalaması 89.5 ± 72.7 ve monositlerin Sİ değeri ortalaması 52.7 ± 57.3 olarak bulundu. Hastaların nötrofillerinin Sİ ortanca değeri 1.14 ve monositlerin 1.44 iken, kontrollerin nötrofillerinin Sİ ortanca değeri 89.2, monositlerin 26.95 olarak hesaplandı (Şekil 4.1).



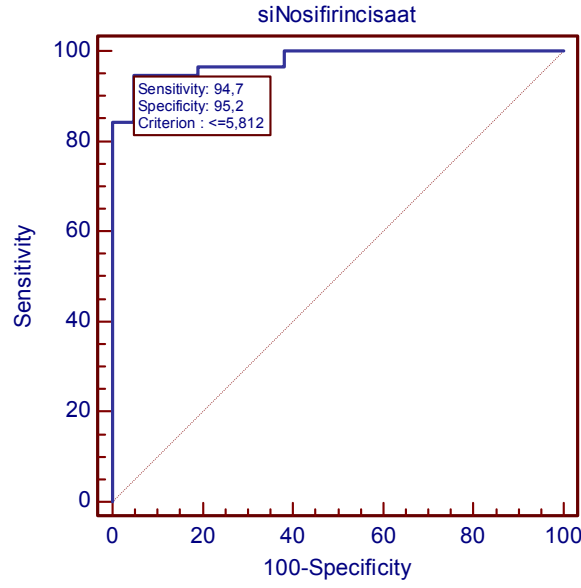
NSI 0.saatt*: Nötrofillerin ortalanca SI değerleri, MSI 0.saatt*: Monositlerin ortalanca SI değerleri

Şekil 4.1. Hasta ve kontrollerin nötrofil ve monositlerinin DHR-123 testi sonundaki Stimulasyon indeksleri (SI) ortalanca değerleri (INF- γ eklenmeden önce).

Hasta ve kontrollerin tespiti ve DHR-123 testinde stimulasyon indeksi testinin hastalığı belirlemedeki gücü için Roc analiz yapıldı. Monosit için stimulasyon indeksi için testin sensitivitesi 94.7, spesifitesi 90.5, cut-off değeri 6.78 olarak belirlendi (Şekil 4.2). Nötrofil için stimulasyon indeksi için testin sensitivitesi 94.2, spesifitesi 95.2, cut off değeri 5.81 olarak saptandı (Şekil 4.3).



Şekil 4.2. Monositler için DHR-123 testi stimulasyon indeksi Roc analizi.



Şekil 4.3. Nötrofiller için DHR-123 testi stimulasyon indeksi Roc analizi.

Hastaların nötrofillerin in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ eklendikten sonra 1.ve 24.saatlerindeki stimulasyon indeksleri ortanca değerleri Wilcoxon eşli sıra testi ile 0.-1. saat, 0.-24. saat ve 1.-24. saat şeklinde ikişerli olarak karşılaştırıldı. 0.-1. saatler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok iken, 0.-24.saatler ve 1.-24.saatler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (sırasıyla p değerleri; $p= 0.562$, $p= 0.012$, $p= 0.009$, Çizelge 4.2, 4.3 ve 4.4).

Benzer şekilde monositlerin in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ verildikten sonra 1.ve 24.saatlerindeki stimulasyon indeksleri ortanca değerleri Wilcoxon eşli sıra testi ile 0.-1. saat, 0.-24. saat ve 1.-24. saat şeklinde ikişerli olarak karşılaştırıldı. 0.-1.saatler arasında fark belirgin fakat istatistiksel olarak anlamlı değil iken, 0.-24.saat ve 1.-24.saatler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu (sırasıyla p değerleri; $p= 0.054$, $p= 0.461$, $p= 0.250$, Çizelge 4.2, 4.3 ve 4.4).

Çizelge 4.2. 0. ve 1. saatte hastaların nötrofil ve monositlerinin stimulasyon indeksleri.

Stimulasyon indeksi (Sİ)	Sayı	Ortanca (min-max)	p
Sİ (N)*0.saat (INF-)	7	1.24 (0.58-21.73)	0.562
Sİ (N)* 1.saat (INF+)	7	1.14 (0.44-14)	
Sİ (MO)**0.saat (INF-)	7	1.45 (0.8-37)	0.054
Sİ (MO)** 1.saat (INF+)	7	1.31 (0.7-11)	

*N: nötrofil, **MO: monosit

Çizelge 4.3. 0. ve 24. saatte hastaların nötrofil ve monositlerinin stimulasyon indeksleri.

Stimulasyon indeksi (Sİ)	Sayı	Ortanca (min-max)	p
Sİ (N)* 0.saat (INF-)	7	1.24 (0.58-21.73)	0.012
Sİ (N)* 24.saat (INF+)	7	1.52 (0.6-28)	
Sİ (MO)**0.saat (INF-)	7	1.45 (0.8-37)	0.431
Sİ (MO)** 24.saat (INF+)	4	1.56 (0.8-27)	

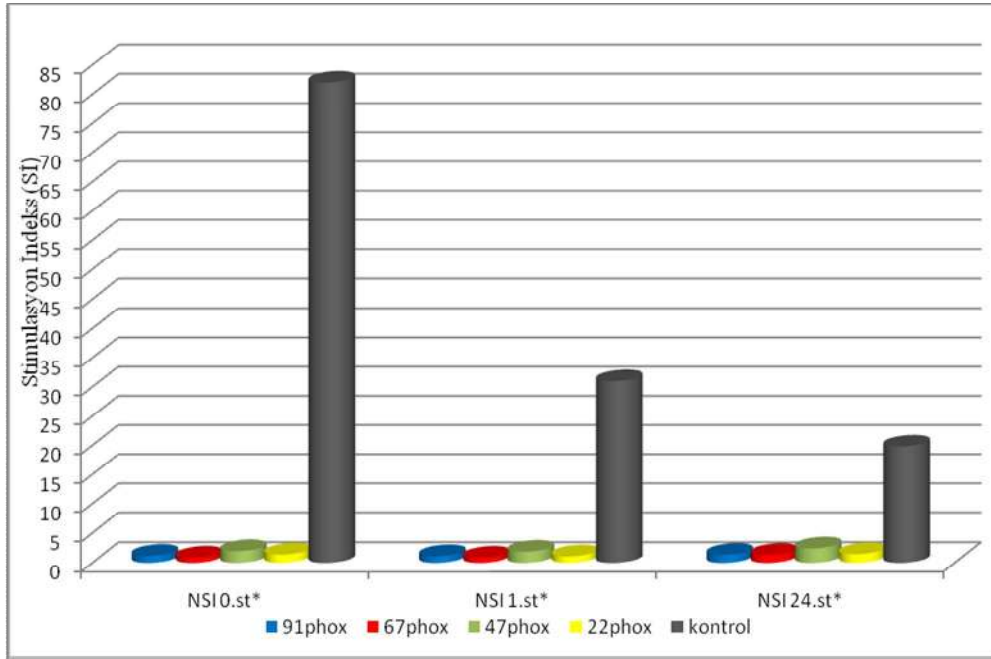
*N: nötrofil, **MO: monosit

Çizelge 4.4. 1. ve 24. saatte hastaların nötrofil ve monositlerinin stimulasyon indeksleri.

Stimulasyon indeksi (Sİ)	Sayı	Ortanca (min-max)	p
Sİ (N)* 1.saat (INF+)	7	1.14 (0.44-14)	0.009
Sİ (N)* 24.saat (INF+)	7	1.52 (0.6-28)	
Sİ (MO)**1.saat (INF+)	7	1.31 (0.7-11)	0.250
Sİ (MO)**24.saat (INF+)	4	1.56 (0.8-27)	

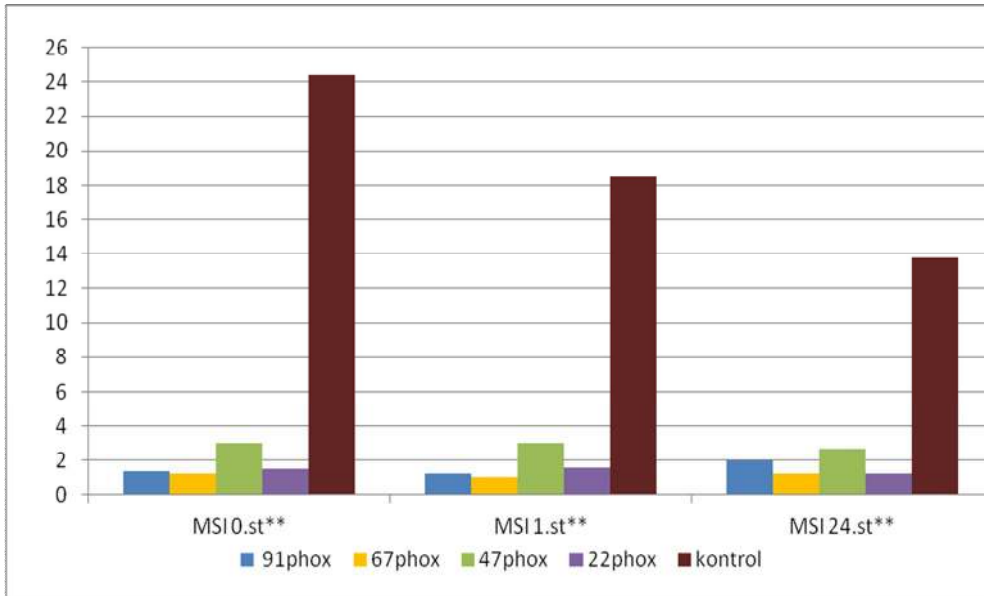
*N: nötrofil, **MO: monosit

Kontrollerin nötrofillerin in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ verildikten sonra 1.ve 24.saatlerindeki stimulasyon indeksleri ortanca değerleri Wilcoxon eşli sıra testi ile 0.-1. saat, 0.-24. saat ve 1.-24. saat şeklinde ikiyeşerli olarak karşılaştırıldı. 0.-1.saat, 0.-24.saat ve 1.-24.saatler arasında (sırasıyla p değerleri p=0.244, p=0.145, p=0.0586) istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Monositlerin 0., 1. ve 24. saatlerinde stimulasyon indeksleri ortanca değerleri 0.-1.saat, 0.-24.saat ve 1.-24.saatlerde ikiyeşerli olarak Wilcoxon eşli sıra testi karşılaştırıldı. 0.-1.saat, 0.-24.saat ve 1.-24.saat arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmadı (sırasıyla p değerleri p=0.82, p=0.711, p=0.528). Hasta ve kontrollerin nötrofil ve monositlerin interferon gamma öncesi 0. saat ve sonrasında 1.ve 24.saatlerindeki stimulasyon indeksleri ortanca değerleri Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Sırasıyla nötrofillerin 0.-1, 0.24, 1-24 ve monositlerin 0.-1, 0-24, 1-24 saatlerinde p değeri <0.001 olarak istatistiksel olarak anlamlı saptandı (Şekil 4.4 ve 4.5).



*N: nötrofil

Şekil 4.4. Hasta ve kontrollerin nötrofillerin 0., 1. ve 24. saat stimulasyon indeksleri ortanca değeri.



**MO: monosit

Şekil 4.5. Hasta ve kontrollerin monositlerin 0, 1 ve 24. saat stimulasyon indeksleri ortanca değeri.

4.3. INF- γ Alan ve Almayanlarda Enfeksiyon Sıklıklarının Karşılaştırılması

INF- γ alan ve almayanlarda enfeksiyon sıklığı median değerleri Wilcoxon eşli sıra testi ile değerlendirildi. INF- γ alanlarda, almayanlara göre enfeksiyöz komplikasyonların sayısı belirgin olarak daha az saptandı. Ciddi enfeksiyon sıklığı için $p<0.000$, pnömoni sıklığı için $p=0.000$, yumuşak doku enfeksiyonu sıklığı için $p=0.001$ ve lenfadenit sıklığı için $p=0.002$ istatistiksel olarak anlamlı saptandı (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. İnterferon gamma alan ve almayan hastaların enfeksiyon sıklıkları ortalama değerleri.

Enfeksiyon sıklığı / yıl *	INF- γ almayan	INF- γ alan	p
Ciddi enfeksiyon	1.9 (0-6)	0.71 (0-3)	0.000
Pnömoni	1.46 (0-5)	0.71 (0-5)	0.000
Yumuşak doku enfeksiyonu	0.76 (0-4)	0.12 (0-2)	0.001
Lenfadenit	0.86 (0-4)	0.38 (0-4)	0.002

*Ortalama (min-max)

4.4. INF- γ Alan ve Almayanlarda Aspergillus, Organ Absesi, Granülamatoz Reaksiyon ve Diğer Komplikasyonların Karşılaştırılması

INF- γ alan ve almayanlar komplikasyonlar açısından çapraz tablolarla McNemar testi ile karşılaştırıldı. INF- γ alanlarda, almayanlara göre, Aspergillozis enfeksiyonu, organ absesi, granülamatoz reaksiyon sıklığının daha az olduğu saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırayla p değerleri; $p=0.031$, $p=0.008$, $p=0.008$, Çizelge 4.6). Diğer komplikasyonlar açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.375$, Çizelge 4.6).

INF- γ alan ve almayanların organ absesi lokalizasyonu açısından değerlendirildiğinde akciğer, karaciğer, beyin en sık görülen organlar iken, granülamatoz reaksiyon yerleri açısından ise genitoüriner, gastrointestinal sistem ve akciğer en sık tutulan organlar şeklinde saptanmıştır (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.6. INF- γ alan ve almayanların aspergillus enfeksiyonu, organ absesi, granülamatoz reaksiyon ve diğer komplikasyonlar açısından değerlendirilmesi.

Komplikasyonlar *	INF- γ almayan	INF- γ alan	p
Aspergillus enfeksiyonu	30	18	0.031
Organ absesi	36	12	0.008
Granülamatoz reaksiyon	28	12	0.008
Diğer komplikasyonlar	21	12	0.375

*Hastaların yüzdesi

Çizelge 4.7. INF- γ alan ve almayanların organ absesi ve granülamatoz reaksiyon sıklıkları ve lokalizasyonları.

Organ absesi yeri *	INF- γ almayan	INF- γ alan
Akciğer	10	4
Karaciğer	4	1
Vertebra	2	-
Beyin	3	-
Göz	1	-
Granülamatoz reaksiyon yeri *		
Genitoüriner sistem	2	5
Gastrointestinal sistem	6	1
Akciğer	5	3
Cilt	1	1

* Hastaların sayısı

4.5. KGH Alt Tiplerine Göre Nötrofil ve Monositlerin 0, 1 ve 24. Saatindeki Stimulasyon İndeksleri Karşılaştırılması

Hastaların KGH alt tiplerine tiplerine göre nötrofillerin ve monositlerin in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ verildikten sonra 1.ve 24.saatlerindeki stimulasyon indeksleri ortanca değerleri Wilcoxon eşli sıra testi ile 0.-1. saat, 0.-24. saat ve 1.-24. saat şeklinde ikişerli olarak karşılaştırıldı.

Alt tipi bilinmeyenlerde nötrofillerin 0.-1.saat, 0.-24.saat, 1.-24.saat p değerleri arasında karşılaştırıldığında özellikle 1.-24 saatler arasında bir miktar fark olsa da istatistiksel olarak fark saptanmadı (sırasıyla p değeri; p=0.256, p=0.211 ve p = 0.078). Benzer şekilde monositlerin 0.-1. saat, 0.-24. saat, 1.-24.saat p değerleri arasında

istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p değerleri; $p=0.158$, $p=0.865$, $p=0.394$, Çizelge 4.8).

Gp91^{phox} alt grubunun nötrofillerin 0.-1.saat arasında fark yok iken ($p=0.326$), 0.-24. saat arasında fark belirgin olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.071$). 1-24 saatler arasında ise p değerleri 0.02 şeklinde istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Benzer şekilde monositlerin 0-1 saat p değeri, $p=0.255$, 0-24 saat $p=0.064$ olup anlamlı bir fark yok iken, 1.-24.saatler arasında fark belirgin olsa da istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı (p değeri= 0.054) (Çizelge 4.8).

P47^{phox} alt grubunun nötrofillerin 0.-1.saat, 0.-24.saat ve 1.-24.saatler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken (sırasıyla p değerleri; $p=0.646$, $p=0.878$, $p=0.487$), monositlerin 0.-1.saat, 0.-24.saat ve 1.-24.saatleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p değerleri; $p:0.995$, $p:0.779$, $p:0.959$, Çizelge 4.8).

P22^{phox} alt grubunun nötrofillerin 0.-1.saat, 0.-24.saat ve 1.-24.saatleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmaz iken (sırasıyla p değerleri; $p=0.799$, $p=0.721$, $p=0.508$) monositlerin 0.-1.saatleri arasında bir miktar fark olsa da, 0.-24.saat ve 1.-24.saatleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p değerleri; $p=0.059$, $p=0.169$, $p=0.386$, Çizelge 4.8).

P67^{phox} alt grubunun nötrofillerin 0.-1.saat p değeri $p=0.345$ istatistiksel olarak anlamlı değilken, 0-24.saat p değeri: 0.046 ve 1-24.saat p değeri $p=0.046$ istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Monositlerin 0.-1.saat, 0.-24.saat ve 1.-24.saatleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p değerleri; $p=0.345$, $p=0.61$, $p=0.249$, Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. KGH alt tiplerine göre nötrofil ve monositlerin INF- γ öncesi 0.saat ve sonrası 1. ve 24.saatindeki stimülasyon indeksleri.

	GP91 ^{phox}		47 ^{phox}		22 ^{phox}		67 ^{phox}		Mutasyonu bilinmeyen	
	Ortanca (min-max)	p	Ortanca (min-max)	p	Ortanca (min-max)	p	Ortanca (min-max)	p	Ortanca (min-max)	p
SIN 0.st*	1.17 (0.9- 1.7)	0.32	2 (0.6- 8.6)	0.64	1.4 (1- 5.7)	0.79	0.89 (0.6- 1.4)	0.34	1.15 (0.7-21)	0.25
SIN 1.st	1.13 (1.1-73)		1.9 (0.8-4)		1.1 (0.8-12)		0.88 (0.4- 1.5)		1.21 (0.7-14)	
SIN 0.st	1.17 (0.9- 1.7)	0.02	2 (0.6- 8.6)	0.87	1.4 (1- 5.7)	0.72	0.89 (0.6- 1.4)	0.04	1.15 (0.7-21)	0.21
SIN 24.st	1.36 (1- 2.3)		2.4 (0.6-4.2)		1.48 (1- 6.5)		1.35 (1- 4.1)		1.3 (1-28)	
SIN 1.st	1.13 (1- 1.73)	0.07	1.9 (0.8-4)	0.48	1.1 (0.8-12)	0.50	0.88 (0.4- 1.5)	0.04	1.21 (0.7-14)	0.07
SIN 24.st	1.36 (1- 2.3)		2.4 (0.6-4.2)		1.48 (1- 6.5)		1.35 (1- 4.1)		1.3 (1-28)	
SIM 0.st#	1.35 (1.1- 5.4)	0.25	3 (0.9- 5.2)	0.99	1.5 (0.8-27)	0.06	1.24 (0.9- 1.6)	0.34	1.26 (0.9-37)	0.15
SIM 1.st	1.25 (1-4)		3 (0.7-5.89)		1.59 (0.9- 6.5)		1 (0.9-1.3)		1.2 (0.9-11)	
SIM 0.st	1.35 (1.1- 5.4)	0.06	3 (0.9- 5.2)	0.79	1.5 (0.8-27)	0.17	1.24 (0.9- 1.6)	0.6	1.26 (0.9-37)	0.86
SIM 24.st	2 (1-4)		2.7 (1.3- 7.9)		1.22 (1-21)		1.23 (0.9-2)		1.38 (0.9-27)	
SIM 1.st	1.25 (1-4)	0.055	3 (0.7-5.89)	0.959	1.59 (0.9- 6.5)	0.38	1 (0.9- 1.3)	0.24	1.2 (0.9-11)	0.39
SIM 24.st	2 (1-4)		2.7 (1.3-7.9)		1.22 (1-21)		1.23 (0.9-2)		1.38 (0.9-27)	

SIN 0.st *: Nötrofillerin stimülasyon indeksi 0.saat

SIM 0.st #: Monositlerin stimülasyon indeksi 0.saat

4.6. KGH Alt Tipine Göre INF- γ Alan Ve Almayanlarda Enfeksiyon Sıklıkları Karşılaştırma

Hastaların mutasyon tiplerine göre yıllık ciddi enfeksiyon sayısı, pnömoni sıklığı, yumuşak doku enfeksiyonu sıklığı ve lenfadenit sıklığı gibi enfeksiyöz değişkenlerin ortanca değerleri Wilcoxon eşli sıra testi ile karşılaştırıldı.

Gp91^{phox} alt tipinde INF- γ alan grupta belirgin bir şekilde ciddi enfeksiyon, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu daha az görünmekte iken (sırasıyla p değerleri;

p=0.004, p=0.008, p=0.02) lenfadenit sıklığı açısından anlamlı bir fark yoktu (p=0.096, Çizelge 4.9).

P47^{phox} alt tipinde INF- γ tedavisinin ciddi enfeksiyon, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu, lenfadenit sıklığı açısından anlamlı bir etkisinin olmadığı saptandı (sırasıyla p değerleri; p=0.12, p=0.180, p=0.317, p=0.180, Çizelge 4.9).

Yine benzer şekilde p67^{phox} alt tipinde INF- γ tedavisinin ciddi enfeksiyon, yumuşak doku enfeksiyonu, lenfadenit sıklığı açısından anlamlı bir etkisinin olmadığı saptandı (sırasıyla p değerleri; p=0.109, p=0.102, p=0.157, Çizelge 4.9). Pnömoni açısından fark belirgin ise de istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.083, Çizelge 4.9).

P22^{phox} alt tipinde ciddi enfeksiyon sıklığı INF- γ alan grupta daha az iken (p=0.039), pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla p değerleri; p=0.102, p=0.180, Çizelge 4.9). Lenfadenit sıklığında belirgin farklılık olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.083, Çizelge 4.9).

Son olarak alt tipi belli olmayan grupta INF- γ alan grupta ciddi enfeksiyon sıklığına daha az rastlanırken (p=0.026), pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu ve lenfadenit açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı (sırasıyla p değerleri; p=0.102, p=0.317 ve p=0.206, Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. INF- γ alan ve almayanların KGH alt tipine göre enfeksiyon sıklıkları.

İnfeksiyon sıklığı / yıl *	Gp91 ^{phox}		P47 ^{phox}		P22 ^{phox}		P67 ^{phox}		Bilinmeyen	
	IIFN(-)	IIFN(+)	IIFN(-)	IIFN(+)	IIFN(-)	IIFN(+)	IIFN(-)	IIFN(+)	IIFN(-)	IIFN(+)
Ciddi enfeksiyon	2 (0-5)	0.79 (0-3)	0.9 (0-3)	0.6 (0-3)	1.78 (2-4)	0.8 (0-3)	2.6 (2-4)	1.25 (0-2)	1.78 (0-5)	0.6 (0-1)
	P=0.004		P=0.102		P=0.039		P=0.109		P=0.026	
Pnömoni	1.47 (0-5)	0.79 (0-5)	0.71 (0-3)	00	0.85 (0-3)	0.44 (0-2)	2.2 (1-3)	1.5 (0-2)	1.5 (0-4)	0.38 (0-1)
	P=0.008		P=0.180		P=0.102		P=0.083		P=0.102	
Yumuşak doku enfeksiyonu	0.67 (0-4)	0.14 (0-1)	0.5 (0-4)	00	0.4 (0-2)	00	1.16 (1-2)	0.33 (0-1)	1 (0-4)	0.13 (0-1)
	P=0.02		P=0.317		P=0.180		P=0.102		P=0.317	
Lenfadenit	0.67 (0-3)	0.21 (0-2)	0.33 (0-1)	0.57 (0-3)	0.44 (0-1)	00	2 (1-4)	1.75 (0-4)	1 (0-4)	0.25 (0-1)
	P=0.096		P=0.180		P=0.083		P=0.157		P=0.206	

*Ortalama (min-max), #INF(-): İnterferon gamma almayan, ##INF(+): İnterferon gamma alan

4.7. Logistik Regresyon Modelleri

INF- γ alan ve almayan hastaların toplam enfeksiyon sıklıkları KGH alt tiplerine göre Wilcoxon eşli sıra testi ile değerlendirilerek logistik regresyon modelleri yapılmıştır. 91^{phox} alt tipi olanlarda INF- γ almanın enfeksiyon sıklığını belirgin şekilde azalttığı saptanmıştır (p:0.002). P47^{phox} ve p67^{phox} alt tiplerinde ise INF- γ almanın enfeksiyon sıklığını anlamlı bir şekilde azaltmadığı saptanırken (sırasıyla; p:0.109 ve p:0.068), p22^{phox} alt tipi ve alt tipi bilinmeyenlerde INF- γ sonrası enfeksiyon sıklığındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla; p=0.042 ve p:0.018).

KGH alt tipleri kendi aralarında logistik regresyon modelleri ile kıyaslandığında INF- γ tedavisi başlama kararında en etkisi tekli değişken olan 91 phox alt tipi (p=0.019) saptanmıştır (sırasıyla; 91^{phox} için odds ratio (OD): 6.125, 47 phox için OD:2.6, 22^{phox} için OD:1.14, 67^{phox} için OD: 1.7, Çizelge 4.10). 91 phox alt tipi ile birlikte çoklu değişkenler olan aile öyküsü (p:0.34), tanı yaşı (p:0.217), nötrofil ve monosit sıfırncı saat stimülasyon indeksleri karşılaştırıldığında (sırasıyla; p:0.426, p:0.091) istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

Çizelge 4.10. KGH alt tipine göre INF- γ tedavisi başlanması kararının logistik regresyon modeli.

	Wald	Sign	Exp(B)	95%CI Lower	%95 CI Upper
gp91 phox	3.9	0.048	6.125	1.017	36.89
p47 phox	1.29	0.256	2.667	0.492	14.461
p22 phox	0.027	0.87	1.143	0.230	5.67
p67 phox	0.308	0.579	1.750	0.242	12.642

4.8. KGH Alt Tipi ve INF- γ Alıp Almama İlişkisi

INF- γ alan olguların %41.7'sini 91^{phox} alt tipinden oluşmakta ve 91^{phox} alt tipi olanların %87.5'i INF- γ almaktaydı. INF- γ alan olguların %8.8'sini 47^{phox} alt tipinden oluşmakta ve 47^{phox} alt tipi olanların %30'u INF- γ almaktaydı. INF- γ alan olguların %14.7'si 22^{phox} alt tipinden oluşmakta ve 22^{phox} alt tipi olanların %50'si INF- γ almaktaydı. INF- γ alan olguların %11.8'i 67^{phox} alt tipinden oluşmakta ve 67^{phox} alt tipi olanların %66.7'si INF- γ almaktaydı. INF- γ alan olguların %23.5'i alt tipi bilinmeyen gruptan oluşurken, alt tipi bilinmeyenlerin %53.3'ü INF- γ almaktaydı.

4.9. Genotiplendirme ve Sİ Değerleri Arasındaki İlişki

Toplam 57 olgunun sadece 14 tanesinde genotiplendirmenin tam olarak yapılabildiği saptanmıştır. Gp91phox alt tipindeki olgulardan birisinde nonsense diğesinde missense mutasyonu saptanmıştır. Nonsense mutasyonu olanda INF- γ Sİ diğesinde yükselmeye yol açmış iken missense mutasyonu olanda Sİ'nde bir değışiklik yapmamıştır. P67^{phox} alt tipi olan 6 olgudan sadece 1'inde genotiplendirme yapılabilmiş ve missense mutasyonu saptamıştır. Bu alt tipte, INF- γ 'nın nötrofillerin Sİ diğesinde yükselmeye yol açtığı saptanmıştır. P47^{phox} mutasyonun sahip 10 olgudan 4 olguda genotiplenme yapılabilmiş ve tüm olgularda delesyon ile çerçeve kayması mutasyonu saptanmıştır. Bu olgulardan 2 tanesinde INF- γ sonrası Sİ diğesinde yükselme görülürken 2 tanesinde bir farklılığa yol açmadığı saptanmıştır. P22^{phox} alt tipindeki 10 olgunun 7'sinde tam olarak genotiplenme yapılabilmiş, 4 missense, 2 delesyon ve 1 nonsense mutasyonu saptanmıştır. 4 missense mutasyonu olan olgunun 2'sinde INF- γ sonrası Sİ diğelerinde yükselme görülürken nonsense mutasyonu olan 1 olguda Sİ diğesinde yükselme gözlenmiştir. Missense ve delesyon mutasyonu olan bireylerde INF- γ 'nın bir etkisi gözlenmemiştir. Genotiplendirme yapılabilmiş olgu sayısının az olmasından dolayı NADPH oksidaz enzim kompleksi alt tiplerinde oluşabilecek mutasyonların protein ekspresyonuna etkisi ve rezidüel reaktif oksijen ara ürünleri yapımını gösteren Sİ diğesine etkisi anlamak mümkün olmamıştır.

5. TARTIŞMA

Kronik Granülomatoz Hastalık, oksidatif patlama ve süperoksit yapımından sorumlu NADPH oksidaz enzim sistemindeki defekte bağlı olarak gelişir. Hayati tehdit edici, katalaz pozitif bakteri ve mantar enfeksiyonları, granülom oluşumu ile karakterize heterojen primer immun yetmezlik hastalığıdır (117). NADPH oksidaz enzim sistemini oluşturan 4 yapısal gen defektine bağlı meydana gelir (gp91^{phox}, p22^{phox}, p47^{phox} ve p67^{phox}). Olguların %65'i gp91^{phox} defektine bağlı olarak X'e bağlı olarak meydana gelirken geri kalanı otozomal resesif kalıtımla oluşur. Enfeksiyonların büyük çoğunluğu, *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia mercenscens*, *Nocardia türleri* ve *Aspergillus* türleri gibi 5 farklı mikroorganizmaya bağlı oluşur. Tanı, süperoksit yapımının gösterilmesine bağlı olarak konulmakta, günümüzde DHR-123 rutin olarak kullanılmaktadır. Tedavi, anti-bakteriyel ve anti-fungal profilaksi, immunmodulator tedavi (INF- γ) gibi profilaksi tedavileri ile hematopoetik kök hücre nakli ve gen tedavisi gibi küratif tedaviden oluşmaktadır (2, 6).

INF- γ ; CD4+, CD8+ ve NK hücreleri tarafından salgılanan, enfeksiyonlara karşı cevapta doğal ve edinsel bağışıklık sistemte rol alan önemli bir sitokindir. Esas görevi makrofaj aktivasyonu olmakla birlikte, immun sistemde birçok biyolojik aktivitesi de vardır. KGH'li olgularda INF- γ tedavisinin etkinliği ile ilgili erken dönem çalışmalarda, in-vivo ya da in-vitro INF- γ 'nın fagosit süperoksit yapımını arttırdığı, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus* öldürme testinde ve NBT testi yanıtında düzelmeye yol açtığı ve enfeksiyon sıklığını azalttığı gösterilmiştir (8,10). Devam eden çok merkezli çalışmalarda, INF- γ tedavisinin iyi tolere edildiği, enfeksiyonların sıklığını ve ciddiyetini azalttığına gösterilmesi üzerine rutin tedavi protokolleri içine alınmıştır (9,13). KGH'li olguların bazı tiplerinde monositlerde solunum patlamasını parsiyel olarak düzeltebildiği, yine bazı formlarında nötrofillerinde CYBB geninde RNA transkriptlerinde splicing paternlerinde değişiklik yaparak süperoksit yapımında artışa (DHR-123 ile) yol açtığı gösterilmesine rağmen genel olarak altta yatan NADPH oksidaz defektini tam olarak düzeltmediği kanısı yaygındır (118,119). KGH'li olgularda rutin olarak anti-mikrobiyal tedaviye INF- γ 'nın eklenmesi tartışması hala devam etmektedir.

Ülkemizde KGH ile ilgili çok fazla veri bulunmamaktadır. Sadece Köker ve ark'ın (17) Hacettepe Çocuk İmmunoloji bölümünde takipli 26 olgunun demografik,

genetik ve klinik bilgilerini içeren tek merkezli bir çalışma mevcuttur. Yine aynı ekibin yapmış olduğu başka bir çalışmada 2 KGH'li Türk ailesindeki mutasyonlar incelenmiştir (120).

Çalışmamız, ülkemizde KGH tanısıyla takip edilen hastaların sayısı, genetik ve demografik özellikleri ve klinik bilgilerini içeren çok merkezli ilk çalışma örneğidir. Bu amaçla bizimle çalışmayı kabul eden merkezlerden (toplam 14 merkez) aydınlanmış onam alınmış 43'ü erkek (%75), 14'ü kız (%25) olmak üzere tüm KGH'li olgular çalışılmaya alınmış ve toplam 57 olgu çalışılmıştır. KGH alt tipine bakacak olursak gp91^{phox} (16/57, %28.1) en sık görülen alt tip iken, bunu alt tipi bilinmeyen (15/57, %26.3), gp47^{phox} (10/57, %17.5), gp22^{phox} (17/57,%17.5) ve p67^{phox} (6/57, %10.5) izlemekte idi. Çalışmamızda alt tipi bilinmeyen olguların sayısının çokluğu nedeniyle X'e bağlı ve otozomal resesif alt grupların yüzde değerleri literatürle tam uyumlu olmamakla birlikte cinsiyet sıklığı açısından benzerlik gösterdiği görüldü (60,124). Akriba evliliğinin otozomal resesif kalıtımla geçişli hastalıklara yatkınlığı arttırmaktadır. Akriba evliliğinin sık görüldüğü toplumlardaki KGH'li olgular, literatürün aksine otozomal resesif kalıtmı KGH alt gruplarından oluşmaktadır (121,122,123). Literatüre bakacak olursak çok merkezli Avrupa çalışmasında ise olguların %82'si erkek, %18'i kız hastadan oluştuğu saptanmıştır. Olguların, %67'si X'e bağlı gp91^{phox} alt tipinden iken, otozomal resesif olguların %49'u 47^{phox}, %26'sı p22^{phox} ve %8'i p67^{phox} mutasyonundan oluştuğu görülmüştür (124). Kuzey Amerika çalışmasında da toplam 368 KGH'li olgunun %70'i X'e bağlı ve %22'si otozomal resesif ve %8'i mutasyonu bilinmeyenlerden oluştuğu gözlenmiştir (60). Bize yakın coğrafyadan akriba evliliğinin sık görüldüğü İran'da ise, 93 olguyu içeren bir çalışmada ise X'e bağlı olanlar KGH'li olguların %12.9'unu (12/93) oluşturur iken, otozomal resesif tipin olguların %81.7'sini (81/93) oluşturduğu gözlenmiştir (125). Tanı yaşlarına bakacak olursak çalışmamızda X'e bağlı olanlarda (gp91^{phox}) tanı yaşı ortalaması 5±4.2 ve otozomal resesif ve alt tipi bilinmeyenlerin ise 4.1±2.7 idi. Literatürde ise Avrupa çalışmasında X'e bağlı olanlarda tanı yaşı ortalaması 4.9 iken, otozomal resesif olanlarda 8.8 olarak saptanmış (124). Bizim çalışmamızla Avrupa çalışmasında tanı yaşları ortalaması X'e bağlı olanlarda benzerlik gösterirken, otozomal resesif olanlarda literatüre göre daha erken olarak saptandı. İran çalışmasında ise X'e bağlı KGH'lerde tanı yaşı ortalaması 5.9 iken, otozomal resesif olanlarda 13.6 olarak saptanmış (125). Çalışmamızdaki alt tipi belli olmayan hasta sayımızın fazla olması ve

akraba evliliğin bizde yüksek olması ve kardeşlerde KGH tanısıyla takipli hasta sayısının yüksek olması buna neden olmuş olabilir. Kardeşinde KGH tanısı nedeniyle ya prenatal ya da erken çocuklukta tanının konulması, otozomal resesif tipteki hastaların erken tanı almasına sebep olmuş olabilir. [(Çalışmamızda akraba evliliği sıklığı %56 olarak saptanmış (Türkiye genelinde %22, (126)]. 14 farklı ülkeyi kapsayan Avrupa çalışmasında, Kuzey Afrika, Türk ve Arap kökenli olguların özellikle otozomal resesif tiplerinde %67-71 oranında akraba evliliği olduğu belirtilmiştir (124).

Çalışmamızda olguların %60'ında (34/57) ailesinde PİY tanısı almış ya da PİY şüphesi ile erken yaşta ölen çocuk öyküsü olduğu saptanmıştır. Bu olguların %30'u (17/57) kardeş ya da yakın akrabaları KGH tanısıyla takip edilen ya da ölen olgulardan oluşmakta idi. İran çalışmasında ise olguların %77'sinde ebeveynler arasında akrabalık öyküsü saptanmıştır.

Olgularımızın büyük bir çoğunluğu anti-mikrobiyal profilaksi (TMP-SMX 54/57, %95, İtrakanozol 51/57, %92) almakta iken, Avrupa verilerinde ise olguların %71'i antibiyotik profilaksisi aldığı ve %53'ünün anti-fungal tedavi verildiği gözlenmiştir (124). INF- γ alan olgularımız 34/57 (%60) sıklıkta iken Avrupa verilerinde ise %33'ünün INF- γ tedavisi aldığı gözlenmiştir. İran çalışmasında ise olguların %94.6'sının anti-mikrobiyal tedavi aldığı (TMP-SMX tek başına ya da kombine), %48.4'ünün TMP-SMX ile birlikte itrakanozol tedavi aldığı ve %54.4'ünün INF- γ ile birlikte antimikrobiyal tedavi aldığı belirtilmiştir (125). Anti-fungal tedavi konusunda Avrupa ve İran verileri benzerlik göstermekle birlikte, İran'da Avrupa'ya göre, INF- γ ve anti-mikrobiyal tedavinin daha yoğun sıklıkla verildiği görülmüştür.

KGH'li hastalar ile ilgili farklı merkezlerdeki INF- γ kullanımı ile ilgili deneyimlere bakıldığında genellikle ya tanı anında anti-mikrobiyal tedavinin yanında başlanmakta ya da klinik izlemde enfeksiyon ve diğer komplikasyon sıklığında artma ve şiddetlenme durumuna göre INF- γ 'nın tedaviye eklendiği görülmektedir. Japonya'da (14) olguların %60'ı (14/23), İspanya'da (127) %58'i (7/13), İtalya'da (16) %38'i (21/60), İsrail'de (15) %18'i (7/38), İngiltere ve İrlanda'da (128) %35'inin INF- γ tedavisi aldığı belirtilmiştir. 1991 yılındaki Avrupa ve Amerika datalarını içeren KGH çalışmaları da görüldüğü üzere, Amerika ekibi INF- γ tedavisinin daha etkili olduğunu düşündüğü için (Amerika kayıtlarına göre, INF- γ tedavisi sonrası, Avrupa'ya göre enfeksiyon sıklığının daha az olduğu görülmüştür) INF- γ tedavisi daha fazla kullanılmakta ve rutin tedaviye eklemektedir (9,129). Avrupa'da ise INF- γ tedavisinin

rutin olarak anti-mikrobiyal tedavinin yanında başlanıp başlanmaması hala tartışmalı bir konudur. Çok pahalı bir tedavi seçeneği olması, ilaç kompliyansında sorunlar yaşanması, miyalji, ateş, irritabilite gibi yan etkilerinin olması, mevcut anti-mikrobiyal tedavinin oldukça etkili olduğunun düşünülmesine nedeniyle Avrupa’da daha az sıklıkla kullanılmasına neden olabilir. Bizim çalışmamızda demografik veri anketlerinden gördüğümüz üzere INF- γ tedavisi rutin anti-mikrobiyal tedavinin yanında başlanmakta, hastanın klinik bulguları (enfeksiyöz ve enflamatuvar komplikasyonlarına bağlı) göz önünde bulunarak tedaviye devam edilmekte ya da kesilebilmektedir. Ayrıca INF- γ tedavisi alan olgularımızın %6’sında (2/34) ciddi ilaç erüpsiyonu nedeniyle tedavinin kesildiği görülmüştür.

Ülkemizde İmmunoloji dalında faaliyet gösteren merkezlerin kısıtlı sayıda olması, köken itibarı ile hastaların büyük çoğunluğu doğu bölgelerinden gelmiş olmasına rağmen, doğuda çok az sayıda merkezin olması nedeniyle, hasta tanı ve takibinde sorunlar yaşanmaktadır. Çalışma sırasında saptadığımız üzere hastaların büyük çoğunluğu takip edildiği merkezin dışında yaşamakta ve düzenli poliklinik kontrolü ve takibinde sıkıntılar yaşayabilmektedir. Bu sebepten dolayı merkezlerimizde, anti-mikrobiyal ve immunmodölatör tedavi Avrupa ve İran’a göre daha yoğun bir şekilde veriliyor olabilir kanısındayız.

Bizim çalışmamızın temel amacı, KGH’de fagositik hücrelerin oksidatif patlama yapma kapasitelerinin DHR-123 testi ile ölçülmesi, bu aktiviteye interferon gamma’nın etkisinin in-vitro olarak irdelenmesi ve klinik, laboratuvar tüm verilerin birbiriyle ilişkisini şeklinde idi. Bu amaçla, DHR 123 testi ile Sİ hesaplandı. Çalışmamızda nötrofiller için Sİ değerleri ortanca değeri 1.24 (0.6-21.7 arasında değişmekte) olarak hesaplandı ve bu değer literatürü destekler şeklinde idi. KGH tanısında ve X’e bağlı taşıyıcıların belirlenmesinde kullanılan DHR-123 testinde elde edilen Sİ değerleri açısından hasta ve sağlıklı bireyler arasında 100 kat’a kadar farklılık bulunabilmektedir. Normal sağlıklı bireylerde Sİ değeri 60-150 arasında değişebilmekte, hastalarda ise 1-10 arasında olmakla beraber bazı tiplerde 52’ye kadar çıkabildiği gösterilmiştir (20,95,97). Çalışmamızda hasta ve kontroller arasında Sİ açısından belirgin farklılık göze çarpmakta idi (Bkz. Şekil 4.1). Hasta ve kontrollerin tespiti ve DHR-123 ile Sİ testinin hastalığı belirlemedeki gücü için Roc analiz yapıldığında monosilerin için Sİ testinin sensitivitesi 94.7, spesifitesi 90.5, cut-off değeri 6.78 olarak belirlendi (Bkn. Şekil 4.2). Nötrofillerin Sİ için testin sensitivitesi 94.2, spesifitesi 95.2, cut off değeri

5.81 olarak saptandı (Bkn. Şekil 4.3). Örneklerin farklı merkezlerden farklı zamanlarda gelmiş olması ve hepsinin aynı anda çalışılmaması nedeniyle biyolojik örneklerde farklılıklara yol açmış olabilir. Biz her ne kadar kontrol hasta grubu ile de çalışmış olsak da testin tekrarlanması ve kuşku durumlarda diğer yöntemlerle (Chemiluminescence, bakteri öldürme vb.) doğrulanmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

Hastaların nötrofillerin in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ eklendikten sonra 1.ve 24. saatlerindeki Sİ'leri karşılaştırıldığında, 0.-24.saat ve 1.-24.saatler arasında belirgin fark bulundu (Bkn. Çizelge 4.3 ve 4.4). Bu fark 1.-24.saat arasında daha belirgindi. Bu sonuç bize INF- γ 'nın nötrofiller üzerindeki etkisinin zamanla daha da belirginleşebileceğini göstermekte idi. Benzer şekilde monositler üzerindeki etkisine baktığımızda ise INF- γ eklemenin monositlerin oksidatif patlaması üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığını gördük (Bkn Çizelge 4.3 ve 4.4).

Hastaların genotiplerine göre nötrofillerin ve monositlerin in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ verildikten sonra 1.ve 24.saatlerindeki Sİ'leri karşılaştırıldığında özellikle 91^{phox} alt tipinde nötrofillerde 0.-24.saatler arasında anlamlı fark mevcuttu. Diğer alt tiplerden p67^{phox}'un nötrofillerinde ise 0.-24.saat ve 1.-24.saatler arasında anlamlı fark saptandı (Bkn. Çizelge 4.8). p67 phox alt tipinde r-INF- γ tedavisin etkili olduğu istatistiksel olarak gösterilmiş olsa da hasta sayısının az olmasından dolayı (n=6) bu alt tipindeki etki ile ilgili daha fazla hasta üzerinde çalışılmasını önermekteyiz. Bu sonuçlar bize KGH'li olguların özellikle belli alt gruplarında (gp91^{phox}) r-INF- γ tedavisinin etkili olabileceğini (süperoksit yapımını arttırabileceği) düşündürmekte ve literatürü desteklemektedir. Eski çalışma örneklerindeki Ezekowitz ve ark'ı (8) özellikle X'e bağlı (gp91^{phox}) alt tipinde INF- γ tedavisinin süperoksit yapımını belli oranda arttırdığı gösterilmiştir. Bu konudaki son çalışmalarda X'e bağlı (gp91^{phox}) alt tipinde, özellikle CYBB geninde splicing site mutasyonu olanlarda INF- γ tedavisinin CYBB genindeki bozukluğu düzeltebileceği öne sürülmüştür (120). Demografik verilerimizde de gördüğümüz üzere, gp91^{phox} alt tipinde INF- γ tedavisi alanlarda enfeksiyöz komplikasyonların daha az olduğunu saptamıştık (bkz. Çizelge 4.9). Mevcut laboratuvar ve demografik verilerin ışığında özellikle belli alt gruptaki (gp91^{phox}) KGH'li olgulara INF- γ tedavisinin verileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz toplam 57 olgunun sadece 14 tanesinde genotiplendirmenin tam olarak yapılabildiği gözlenmiştir. NADPH oksidaz enzim

sistemi alt gruplarında nonsense, missense, delesyon şeklinde mutasyon tipleri saptanmıştır. Genotiplendirme yapılan hasta sayısı az olduğu için INF- γ 'nın hangi gruptaki mutasyonda nasıl etki yaptığının gösterilmesi mümkün olmamıştır. Ayrıca NADPH oksidaz enzim kompleksi alt tiplerinde oluşabilecek mutasyonlarının, protein ekspresyonuna etkisi ve rezidüel reaktif oksijen ara ürünleri yapımını gösteren SI değerine etkisi anlamak mümkün olmamıştır. Bu konuda daha fazla sayıda ve ayrıntılı genotiplendirmenin yapılabildiği olgular üzerinde çalışma yapılmasının üzerinde durulması gereken bir konu olduğunu düşünmekteyiz.

INF- γ tedavisi alan ve almayanlar, enfeksiyon sıklıkları açısından değerlendirdiğimizde, INF- γ alanlarda, almayanlara göre ciddi enfeksiyon, pnomoni, yumuşak doku enfeksiyonu ve lenfadenit sıklığı gibi enfeksiyöz komplikasyonların sayısının belirgin olarak daha az olduğunu gördük (Bkz. Çizelge 4.5). Bu sonuçlar literatürü destekler şeklinde idi. KGH'li olgularda INF- γ tedavisinin etkinliği ile ilgili çok merkezli ilk çalışmada, INF- γ tedavisi etkili bulunmuş, ciddi enfeksiyon sıklığını azalttığı, ciddi bir yan etkisinin olmadığı ve alt tip gözetmeksizin, antimikrobiyal tedavinin yanında KGH'li olgularda kullanabileceği belirtilmiştir (9). Benzer çalışmanın Avrupa ayağında ise INF- γ tedavisinin Amerika'daki kadar etkili olmadığı, antimikrobiyal tedavinin daha etkili olduğu vurgulanmıştır (129). Bu konuda son yapılan Marciano ve ark'nın (13) yapmış olduğu KGH'li 76 olguda IFN- γ tedavisinin etkinliğini ile ilgili çalışmada; INF- γ tedavisinin KGH'li olgularda güvenli olduğu, enfeksiyon sıklığı ve ciddiyetini azalttığı ve belirgin bir yan etkisi olmadığı için KGH'li olgularda kullanabileceğini belirtmiştir.

INF- γ tedavisi alan ve almayanlar, Aspergillus, organ absesi, granülamatoz reaksiyon ve diğer komplikasyonların açısından karşılaştırdığımızda, INF- γ alanlarda, almayanlara göre, Aspergillozis enfeksiyonu, organ absesi, granülamatoz reaksiyon sıklığının daha az olduğu saptadık (Bkz.Çizelge 4.5). Diğer komplikasyonlar açısından değerlendirildiğinde, INF- γ alan ve almayanlar karşılaştırıldığında literatürü destekler şeklinde aralarında belirgin bir farklılığın olmadığını görmedik. Literatürde ise Marciano ve ark'nın (13) yaptıkları çalışmada, IFN- γ alan ve almayanlarda granülamatoz komplikasyonlar açısından farklılığın olmadığını göstermiştir. INF- γ alan ve almayanların organ absesi lokalizasyonu açısından değerlendirildiğinde akciğer, karaciğer, beyin en sık görülen organlar iken, granülamatoz reaksiyon yerleri açısından

ise genitoüriner, gastrointestinal sistem ve akciğer en sık tutulan organlar şeklinde görüldü (Bkz, Çizelge 4.7).

INF- γ alan ve almayanlar, alt tiplerine göre yıllık ciddi enfeksiyon sayısı, pnömoni sıklığı, yumuşak doku enfeksiyonu sıklığı ve lenfadenit sıklığı gibi enfeksiyöz değişkenler açısından karşılaştırıldığında, Gp91^{phox} alt tipinde, INF- γ alan grupta ciddi enfeksiyon, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonunun daha az görüldüğü saptanırken, lenfadenit sıklığı açısından belirgin bir farklılığının olmadığı saptandı (Bkz Çizelge 4.9). P47^{phox} ve p67^{phox} alt tiplerinde INF- γ tedavisinin, ciddi enfeksiyon, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu, lenfadenit sıklığı açısından belirgin bir etkisinin olmadığını görüldü (Bkz. Çizelge 4.9). P22^{phox} alt tipinde ise, ciddi enfeksiyon sıklığı INF- γ alan grupta daha az saptanırken, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu ve lenfadenit açısından istatistiksel olarak belirgin bir farkın olmadığı saptandı (Bkz. Çizelge 4.9).

KGH alt grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde, Sİ'lerindeki değişimler ve enfeksiyöz komplikasyonlar göz önüne alındığında, INF- γ tedavisinin en etkili olduğu alt grubun gp91^{phox} olduğunu gördük. Yine benzer şekilde INF- γ tedavisinin en sık kullanıldığı alt grubun da gp91^{phox} olduğunu saptadık (INF- γ alan olguların %41.7'sini 91^{phox}, %17.7'si p22^{phox}, %11.8'i 67^{phox} ve %8.8'i p47^{phox}, tan oluşmakta idi). Bu bulgular literatürü destekler şeklinde idi (119,120).

Çalışmamız prospektif bir çalışma örneği olmadığı için hasta verileri dış merkezlerden alınarak yapılmış ve ülke genelindeki immunoloji merkezlerinden INF- γ alan ve almayan, genotiplendirmesi yapılmış ya da yapılmamış tüm olguların oksidatif patlama yapma kapasiteleri DHR-123 testi ile çalışılmış ve in-vitro INF- γ ilavesinin bu fonksiyonlara etkisi irdelenmiştir. Genotiplendirme yapılmış hasta sayısının azlığı dolayısıyla hangi mutasyona sahip olanlarda INF- γ tedavisinin etkili olduğu tam olarak belirlenememiştir. Bu konuda daha fazla sayıda hastayı içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. Bizim çalışmamızda literatürü destekler şekilde özellikle belli alt tiplerinde (gp91^{phox} alt tipine) r-INF- γ 'nın in-vitro olarak nötrofiller üzerinde stimülasyon indekslerini arttırarak, süperoksit yapımını arttırabildiği gösterdik. Yine çalışmamızda demografik bilgilere baktığımızda INF- γ alan olgularda enfeksiyöz ve granülatöz reaksiyonların daha az oranda olduğunu gördük. Ayrıca en fazla INF- γ tedavisi verilen alt grubun gp91^{phox} mutasyonu olduğunu saptadık. Buradan yola çıkarak tezimizin başında düşündüğümüz, oldukça pahalı bir tedavi seçeneği olan INF-

γ 'nın etkili olacağı grup konusunda bir bilgi sahibi olduk. Önerimiz, tanı anında tüm KGH'li olgulara DHR testi ile INF- γ 'nın in-vitro etkisinin ölçülmesi, bu verinin hastanın genotipik verileri ile ilişkisi konusunda daha geniş serilerde önebakış (prospektif) araştırma ve klinik gözlem bilgilerinin artırılmasının, pahalı bir tedavi seçeneği olan INF- γ tedavisine başlanırken hastaya özgü karar verilmesi konusunda klinisyenlere yararlı olacağı kanısındayız.

6. SONUÇLAR

1. Ekim 2011-Haziran 2012 tarihleri arasında işbirliği önerimizi kabul eden merkezler ile birlikte toplam 57 hasta ve 21 kontrol olmak üzere 78 birey çalışmaya alınmıştır. Hasta grubunun 14'ü (%25) kız ve 34'ü (%75) erkek iken kontrol grubunun 12'si (%57) kız ve 8'i (%43) erkekten oluşmakta idi.
2. KGH'li hastalar NADPH oksidaz alt grup tayinine göre değerlendirildiğinde; 16 olgu (%28.1) gp91^{phox}, 10 olgu (%17.5) p47^{phox}, 10 olgu (%17.5) p22^{phox}, 6 olgu (%10.5) p67^{phox} alt grubundan oluşurken 15 olgu (%26.3) ise alt grup tayini belli olmayanlardan oluşuyordu.
3. Olguların 32'sinde (%56) akrabalık öyküsü (21 olguda 1. derece akrabalık, 11 olguda 2.derece ve üzeri akrabalık) vardı. 34 olguda (%60) ailede primer immun yetmezlik öyküsü ya da şüphesi ile ölen birey mevcuttu.
4. Tedavi açısından bakıldığında olguların 54'ü (%95) TMP-SMX ve 51'i (%89.5) İtrakonazol tedavisi alırken olguların 34'ü (%60) INF- γ tedavisi almakta idi. INF- γ alma süreleri ortanca değeri 26 ay (minimum: 3- maksimum:173) olarak saptandı.
5. Hasta ve kontrollerin tanısında DHR-123 testi ile stimulyon indeksi hesaplanmasının hastalığı belirlemedeki gücü için Roc analiz yapıldı. Monosit için stimulyon indeksi testinin sensitivitesi 94.7, spesifitesi 90.5, cut-off değeri 6.78 olarak belirlendi. Nötrofil için stimulyon indeksi testinin sensitivitesi 94.2, spesifitesi 95.2, cut off değeri 5.81 olarak saptandı.
6. Olguların fagositik hücrelerinin oksidatif patlama yapma kapasiteleri akım sitometride DHR-123 testi ile ölçüldü. İn-vitro INF- γ 'nın bu fonksiyon üzerine etkisi 1. ve 24.saatlerde stimulyon indeksi hesaplanarak değerlendirildi.
7. Hastaların nötrofillerin in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ verildikten sonra 1.ve 24.saatlerdeki stimulyon indeksleri ortanca değerleri 0.-1. saat, 0.-24. saat ve 1.-24. saat şeklinde ikiye ayrılarak karşılaştırıldığında; 0.-1. saatler arasında fark yok iken 0.- 24.saatler ve 1.-24.saatler arasında anlamlı fark olduğu saptandı. Bu farkın zamanla birlikte INF- γ 'nın nötrofiller üzerindeki etkisinin daha da arttığı görüldü.
8. Monositlerde ise in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ verildikten sonra 1. ve 24. saatlerdeki stimulyon indeksleri ortanca değerleri 0.-1. saat, 0.-24. saat ve 1.-24.

saat şeklinde ikişerli olarak karşılaştırıldığında; 0.-1, 0.-24.saat ve 1.-24.saatler arasında bir farklılığın olmadığı görüldü.

9. Kontrollerin nötrofillerin ve monositlerinin in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ verildikten sonra 1.ve 24. saatlerindeki stimülasyon indeksleri ortanca değerleri 0.-1. saat, 0.-24. saat ve 1.-24. saat şeklinde ikişerli olarak karşılaştırıldığında hem nötrofil hemde monositlerde anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü.
10. Toplam 57 olgunun sadece 14 tanesinde genotiplendirmenin tam olarak yapılabildiği saptanmıştır. Genotiplendirme yapılmış hasta sayısının azlığı dolayısıyla hangi mutasyona sahip olanlarda INF- γ tedavisinin etkili olduğu tam olarak belirlenememiştir.
11. INF- γ alan ve almayanlarda enfeksiyon sıklığı median değerleri değerlendirildiğinde; INF- γ alanlarda, almayanlara göre ciddi enfeksiyon, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu ve lenfadenit gibi enfeksiyöz komplikasyonların sayısının belirgin şekilde daha az görüldüğü saptandı.
12. INF- γ alan ve almayanlar komplikasyonlar açısından karşılaştırıldığında, INF- γ alanlarda, almayanlara göre, Aspergillozis enfeksiyonu, organ absesi, granülomatoz reaksiyon sıklığının daha az olduğu saptandı.
13. INF- γ alan ve almayanların organ absesi lokalizasyonu açısından değerlendirildiğinde akciğer, karaciğer, beyin en sık görülen organlar iken, granülomatoz reaksiyon yerleri açısından ise genitoüriner, gastrointestinal sistem ve akciğer en sık tutulan organlar şeklinde saptandı.
14. Hastaların KGH alt tiplerine göre nötrofillerin ve monositlerin in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ verildikten sonra 1.ve 24.saatlerindeki stimülasyon indeksleri ortanca değerleri karşılaştırıldığında; Gp91^{phox} alt grubunda ve P67^{phox} alt grubunun nötrofillerin 1.-24.saatlerinde Sİ'lerinde belirgin olarak yükselme saptandı. p67 phox alt tipinde r-INF- γ tedavisin etkili olduğu istatistiksel olarak gösterilmiş olsa da hasta sayısının az olmasından dolayı (n=6) bu alt tipindeki etki ile ilgili daha fazla hasta üzerinde çalışılmasını önerilmekteyiz.
15. Hastaların KGH alt tiplerine göre yıllık ciddi enfeksiyon sayısı, pnömoni sıklığı, yumuşak doku enfeksiyonu sıklığı ve lenfadenit sıklığı gibi enfeksiyöz

değişkenlerin ortanca değerleri karşılaştırıldığında; Gp91^{phox} mutasyonu olanlarında INF- γ alan grupta enfeksiyöz komplikasyonların daha az oranda görüldüğü saptandı.

16. P47^{phox} ve p67^{phox} alt tiplerinde INF- γ tedavisinin ciddi enfeksiyon, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu, lenfadenit sıklığı gibi enfeksiyöz komplikasyonlar açısından anlamlı bir etkisinin olmadığı görüldü.
17. P22^{phox} mutasyonu olanlarda ciddi enfeksiyon sıklığı INF- γ alan grupta daha az iken, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu ve lenfadenit açısından anlamlı bir etkisinin olmadığı saptandı.
18. KGH alt grupları kendi aralarında logistik regresyon modelleri ile kıyaslandığında INF- γ tedavisi başlama kararında en etkisi tekli değişkenin 91^{phox} mutasyon olduğu görüldü.

7. ÖZET

KRONİK GRANÜLOMATOZ HASTALIKTA İNTERFERON GAMMA TEDAVİSİNİN FAGOSİTER HÜCRELER ÜZERİNE ETKİSİ

Kronik Granulamatöz Hastalık (KGH), fagositik hücrelerin solunum patlaması ve süperoksit yapımı için gerekli olan NADPH oksidaz sistemindeki defektlere bağlı olarak gelişen bazı bakteri ve mantarlarla tekrarlayan ve hayati tehdit eden enfeksiyonlara, artmış enflamatuvar cevaba bağlı granülom oluşumu ile karakterize heterojen, kalıtsal primer bir immün yetmezlik hastalığıdır.

IFN- γ ; doğal ve kazanılmış bağışıklık cevapta rol oynayan oldukça önemli bir sitokindir. KGH tedavisinde doksanlı yıllardan beri kullanılmasına ve etkinliği ile ilgili birçok çalışmaya rağmen tedavideki yeri ve etkinliği hala tartışılmaktadır. KGH'lı hastalar ile ilgili farklı merkezlerdeki INF- γ kullanımı ile ilgili deneyimlere bakıldığında genellikle ya tanı anında anti-mikrobiyal tedavinin yanında başlanmakta ya da klinik izlemde enfeksiyon ve diğer komplikasyon sıklığında artma ve şiddetlenme durumuna göre IFN- γ tedaviye eklendiği görülmektedir.

Çalışmamızda, 14 farklı merkezden toplam 57 hasta ve 21 kontrol olmak üzere 78 olgunun fagositik hücrelerin oksidatif patlama yapma kapasitelerinin DHR -123 testi ile ölçülerek stimulasyon indeksleri (Sİ) hesaplanarak bu aktiviteye interferon gamma'nın etkisinin in-vitro olarak değerlendirildi. Ayrıca merkezlerdeki hastalara ait enfeksiyöz ve diğer komplikasyonlar ve interferon gamma kullanımının bunlar üzerindeki etkisini içeren anket formları incelendi. Elde edilen demografik ve klinik verilerin, laboratuvar verileriyle ilişkisini incelendi.

Hastaların nötrofillerin in-vitro INF- γ sonrası Sİ'lerinde özellikle 1. saatten sonra artışa geçtiği ve 24.saatte de devam ettiği görülmesine rağmen monositlerde ise in-vitro INF- γ sonrası Sİ'lerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlendi.

Hastaların KGH alt tiplerine göre nötrofillerin ve monositlerin in-vitro INF- γ öncesi 0. saat ve INF- γ verildikten sonra 1.ve 24. saatlerindeki stimulasyon indeksleri ortanca değerleri karşılaştırıldığında; Gp91^{phox} alt grubunda ve P67^{phox} alt grubunun nötrofillerin 1.-24. saatlerinde Sİ'lerinde yükselmenin olduğu görüldü.

Demografik veriler incelendiğinde; INF- γ alanlarda, almayanlara göre ciddi enfeksiyon, pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonu ve lenfadenit gibi enfeksiyöz komplikasyonların sayısının belirgin şekilde daha az olduğu görüldü.

INF- γ alan ve almayanlar komplikasyonlar açısından karşılaştırıldığında; INF- γ alanlarda, almayanlara göre, Aspergillozis enfeksiyonu, organ absesi, granülomatoz reaksiyon sıklığının daha az olduğu saptandı.

Hastaların KGH alt tiplerine göre yıllık ciddi enfeksiyon sayısı, pnömoni sıklığı, yumuşak doku enfeksiyonu sıklığı ve lenfadenit sıklığı gibi enfeksiyöz değişkenlerin ortanca değerleri karşılaştırıldığında; Gp91^{phox} alt tipinde INF- γ alan grupta belirgin olarak enfeksiyöz komplikasyonların daha az oranda görüldüğü saptandı.

KGH alt grupları kendi aralarında logistik regresyon modelleri ile kıyaslandığında INF- γ tedavisi başlama kararında en etkisi tekli değişkenin 91^{phox} mutasyon olduğu görüldü.

Sonuç olarak çalışmamız, ülkemizde KGH ile yapılmış demografik ve laboratuvar dataları içeren çok merkezli ilk çalışma örneğidir. KGH tedavisinde INF- γ tedavisinin yeri ve etkinliği ile ilgili tartışmanın devam edeceği düşünülmekle birlikte çalışmamız literatürü destekler şekilde belli alt gruplarında (gp91^{phox}) süperoksit yapımını artırabileceğini göstermiştir. Demografik verilere bakıldığında da özellikle bu alt grupta enfeksiyöz ve granülomatoz reaksiyonları azaltabildiği görülmüştür.

Önerimiz, tanı anında tüm KGH'li olgulara DHR testi ile INF- γ 'nın in-vitro etkisinin ölçülmesi, bu verinin hastanın genotipik verileri ile ilişkisi konusunda daha geniş serilerde önebakış araştırma ve klinik gözlem bilgilerinin artırılmasının oldukça pahalı bir tedavi seçeneği olan INF- γ tedavisine başlanırken hastaya özgü karar verilmesi konusunda klinisyenlere yararlı olacağı kanısındayız.

Anahtar kelimeler: Kronik granülatöz hastalık, interferon gamma, DHR-123 stimülasyon indeksi, enfeksiyöz komplikasyonlar.

8. ABSTRACT

THE EFFECT OF INF- γ ON PHAGOCYTIC CELLS IN CHRONIC GRANULAMATOUS DISEASE

Chronic granulomatous disease (CGD) is an inherited disorder that is caused by defects in the reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase, the enzyme complex responsible for the generation of superoxide. CGD is characterized by recurrent life-threatening infections caused by catalase-positive bacteria and fungi and exuberant granuloma formation.

Interferon gamma (INF- γ) a cytokine with diverse roles in the innate and adaptive responses. Evidence that recombinant INF- γ can enhance phagocytic oxidative metabolism led to its evaluation for use in the treatment of CGD. Despite several decades of work on INF- γ and demonstrated clinical benefits in majority of patients with CGD, it is not known yet whether to use as a prophylaxis in CGD or not.

If we compare the published and current studies on the use of INF- γ in patients with CGD, it is routinely administered prophylactically with the anti-microbial therapy or adjusted to it in the case of the severe and recurrent infections.

Fifty-seven patients with CGD and twenty-one controls were enrolled to our study to assess the effects of INF- γ on phagocytic cells in CGD in a multi-center study. The effect of INF- γ on phagocyte respiratory-burst activity was determined by measuring superoxide generation using DHR-123 with calculating stimulation index (SI).

A detailed individual questionnaire to be complied on enrolment includes patient's personal data, family history, state of diagnosis, medications, clinical manifestations up to enrolment before and after INF- γ therapy. Correlation between clinical, genetic and laboratory data of CGH patients were examined.

Although the effect of INF- γ on neutrophils in CGD patients by measuring SI was easily seen after one hour later and was still existing up to 24 hours, it was not occurred on monocytes. When we compare the effect of the INF- γ in the CGD subgroup's phagocytic cells by using SI, at the starting point, one hour and 24 hour later, we have seen that effect is significantly at an hour and 24.hour in the subgroups 91^{phox} and 67^{phox}.

The patients receiving INF- γ therapy tend to have lesser infectious complications like severe infections, pneumonia, soft tissue infections and lymphadenitis. Aspergillus infection, tissue abscesses and granulomatous complications were also lesser in this group.

The infectious complications were also lesser in 91^{phox} with receiving INF- γ therapy. In the logistic regression models, it is mentioned that to be a 91^{phox} group was the only univariate parameter to start INF- γ therapy.

In the summary, our study is the first clinical trial that investigate the clinical, demographic and genetic data of the CGD patients in a multi-center study in our country. Although the effect of INF- γ therapy in CGD will be discussed in later clinical trials, we showed that in some majority of CGD patients especially 91 phox subgroup, has clinical benefit and improvement in phagocyte function.

In this respects, clinicians should be analyze the in-vitro INF- γ effect of CGD patients before starting such an expensive therapy and should start or continue it in the case of infectious or other complications.

Key words: Chronic granulomatous disease, Interferon gamma, DHR-123, Stimulation index, infectious complications.

9. KAYNAKLAR

1. Forehand JR, Nauseef WM, Cunnette JT, Johnston RB Jr. Inherited disorders of phagocytic killing. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Vale D, editors. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 7th ed. New York, McGraw-Hill 1995; 3395-4026.
2. Holland SM. Chronic Granulomatous Disease. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2010; 38: 3-10.
3. Rosenzweig SD, Holland SM. Phagocyte immunodeficiencies and their infections. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 620-6.
4. Kuhns DB, Alvord WG, Heller T, Feld JJ, Pike KM, Marciano BE, et al. Residual NADPH Oxidase and Survival in chronic Granulomatous Disease. *N Engl J Med* 2010; 363: 2600-10.
5. Song E, Jaishankar GB, Saleh H, Jithpratuck W, Sahni R, Krishnaswamy G. Chronic granulomatous diseases: a review of the infectious and inflammatory complications. *Clin Mol Allergy* 2011; 9: 1-14.
6. Kang EM, Marciano BE, De Ravin S. Chronic granulomatous disease: Overview and hematopoietic stem cell transplantation. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 1319-26.
7. Saha B, Prasanna SJ, Chandrasekar B, Nandi D. Gene modulation and immunoregulatory roles of Interferon- γ . *Cytokine* 2010; 50: 1-14.
8. Ezekowitz RA, Orkin SH, Newburger PE. Recombinant Interferon Gamma Augments Phagocyte Superoxide Production and X-Chronic Granulomatous Disease Gene Expression in X-linked Variant Chronic Granulomatous Disease. *J Clin Invest* 1987; 80: 1009-16.
9. The International Chronic Granulomatous Disease Cooperative Study Group. A controlled trial of interferon gamma to prevent infections in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 509-16.
10. Woodman RC, Erickson RW, Rae J, Cunnette JT. Prolonged recombinant interferon-gamma therapy in chronic granulomatous disease: evidence against enhanced neutrophil oxidase activity. *Blood* 1992; 79: 1558-62.
11. Weening RS, Leitz GJ, Seger RA. Recombinant human interferon-gamma in patients with chronic granulomatous disease-European follow-up. *Eur J Pediatr* 1995; 154: 295-8.
12. Jackson SH, Miller GF, Segal BH, Mardiney M, Domachowske JB, Gallin JL, Holland SM. IFN- γ Is Effective in Reducing Infections in the Mouse Model of Chronic Granulomatous Disease. *J Interferon Cytokine Res* 2001; 21: 567-73.
13. Marciano BE, Wesley R. Long-Term Interferon- γ Therapy for Patients with Chronic Granulomatous Disease. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 692-9.
14. Kabayashi S, Murayama S, Takanashi S, Takanashi K, Miyatsuka S, Fujita T et al. Clinical features and prognoses of 23 patients with chronic granulomatous disease followed for 21 years by a single hospital in Japan. *Eur J Pediatr* 2008; 167: 1389-94.

15. Wolach B, Gavrielli R, de Boer M, Gottesman G, Ben-Ari J, Rottem M, et al. Chronic granulomatous disease in Israel: Clinical, functional and molecular studies of 38 patients. *Clin Immunol* 2008; 129: 103-14.
16. Martire B, Rondelli R, Soresina A, Pignata C, Broccoletti T, Finocchi A, et al. Clinical features, long-term follow-up and outcomes of a large cohort of patients with Chronic Granulomatous Disease: An Italian multicenter study. *Clin Immunol* 2008; 126: 155-64.
17. Özgür TT, Asal TG, Tezcan İ, Köker MY, Metin A, Yel L, et al. Clinical features of chronic granulomatous disease: a series of 26 patients from a single center. *Turk J Pediatr* 2010; 52: 576-81.
18. Rothe G, Emmendörffer A, Oser A, Roesler J, Valet G. Flow cytometric measurement of the respiratory burst activity of phagocytes using dihydrodamine 123. *J Immunol Methods* 1991; 138: 133-5.
19. Rothe G, Valet G. Flow cytometric assays of oxidative burst activity in phagocytes. *Methods Enzymol* 1994; 233: 539-48.
20. Jirapongsananuruk O, Malech HL, Kuhns DB, Niemela JE, Brown MR, Anderson-Cohen M et al. Diagnostic paradigm for evaluation of male patients with chronic granulomatous disease, based on the dihydrorhodamine 123 assay. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 374.
21. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Properties and Overview of Immune Responses. In: Abbas AK, editor. *Cellular and Molecular Immunology* (7th Ed.) Philadelphia: Elsevier Saunders 2012; 1-2.
22. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Doğal immun cevap. Roitt IM (Ed). *Roitt's Temel İmmunoloji* (11.baskı), Atlas Kitapçılık, Ankara 2008; 1-2.
23. Rezai N, Banilla FA, Sullivan KE, de Vries E, Orange SA. An Introduction to Primary Immunodeficiency Diseases. In: Rezai ER, editor. *Primary Immunodeficiency Diseases Definition Diagnosis and Treatment*. Berlin: Springer-Verlag 2008; 1.
24. Notarangelo LD. Primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 182-94.
25. Bonilla FA, Geha RS. Primary Immunodeficiency Diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 116: 423-5.
26. Cooper MD, Lanier LL, Conley ME, Puck JM. Immunodeficiencies. *Am Fam Physician* 2003; 68: 2001-8.
27. Geha RS, Notarangelo L, Casanova JL, Chapel H, Fischer A, Hammerstorm L et al. Primary Immunodeficiency diseases: an upto date the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Commitee. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 776-94.
28. Yang KD, Quie PG, Hill H. Phagocytic system. In: Ochs HD, Smith CIE, Puck JM, editors. *Primary Immunodeficiency Diseases. A molecular and genetic approach*, (2th Ed). New York: Oxford University Press 2007; 103-4.
29. Boyle JM, Buckley RH. Population prevelance of diagnosed primary immunodeficiency diseases in tje United States. *J Clin Immunol* 2007; 27: 497-502.

30. Champi C. Primary Immunodeficiency Disorders in children: prompt diagnose can lead life saving treatment. *J Pediatr Health Care* 2002; 16: 6-21.
31. International Union of Immunological Societies Expert Committee on Primary Immunodeficiencies, Notarangelo LD, Fischer A, Geha RS, Casanova JL, Chapel H, Conley ME, et al. Primary immunodeficiencies. 2009 update. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 1161-78.
32. Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 24-32.
33. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Innate immunity. In: Abbas AK (Ed). *Cellular and Molecular Immunology* (6th Ed.) Philadelphia: Saunders Elsevier 2007; 19-46.
34. Ünal A. Doğal Bağışıklık Mekanizmaları. Temel İmmunoloji Sempozyumu 4. Tepecik Enfeksiyon Günleri 6-9 Ekim 2011 Çeşme.
35. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Doğal immun cevap. Roitt IM (Ed). *Roitt's Temel İmmunoloji* (11. baskı), Atlas Kitapçılık, Ankara 2008; 1-20.
36. Kuhns D. Assessment of neutrophil function. In: Kuhns D (Ed). *Clinical Immunology. Principles and Practice* (3th Ed). Philadelphia: Mosby Elsevier; 2008; 1461-2.
37. Yang KD, Quie PG, Hill H. Phagocytic system. Ochs HD, Smith CIE, Puck JM. (Ed). *Primary Immunodeficiency Diseases. A molecular and genetic approach*, (2th Ed). New York: Oxford University Press 2007; 103-4.
38. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *Lancet* 2001; 357: 1777-89.
39. Segal BH, Leto TL, Gallin JI, Malech HL, Holland SM. Genetic, biochemical, and clinical features of chronic granulomatous disease. *Medicine (Baltimore)* 2000; 79: 170-200.
40. de Oliveira-Junior EB, Bustamante J, Newburger PE, Condino-Neto A. The human NADPH oxidase: primary and secondary defects impairing the respiratory burst function and the microbicidal ability of phagocytes. *Scand J Immunol* 2011; 73: 420-7.
41. Köker MY. Kronik Granulamatöz Hastalık ve Alt Gruplarının tanısında DHR123 Testi ve Anti-NADPH Oksidaz Komponent Antikorla Akım Sitometrik Analizin Yeri. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmunoloji Programı Doktora Tezi. Ankara 2006: 17.
42. Stasia MJ, Li XJ. Genetics and immunopathology of chronic granulomatous disease. *Semin Immunopathol* 2008; 30: 209-35.
43. Robinson JM. Phagocyte leukocytes and reactive oxygen species. *Histochem Cell Biol* 2009; 131: 465-9.
44. Assari T. Chronic Granulomatous Disease; fundamental stages in our understanding of CGD. *Medical Immunology* 2006; 5: 4.
45. Mayer-Scholl A, Averhoff P, Zychlinsky A. How do neutrophils and pathogens interact? *Curr Opin Microbiol* 2004; 7: 62-6.
46. Janeway CA, Craig J, Davidson M, Downwy W, Gitlin D, Sullivan JC. Hypergammaglobulinemia associated with severe, recurrent and chronic non-specific infection. *Am J Dis Child* 1954; 88: 288-392.

47. Berendes H, Bridges RA, Good RA. A fatal granulomatous disease of childhood: the clinical study of a new syndrome. *Minn Med* 1959; 40: 309.
48. Bridges RA, Berendes H, Good RA. A fatal granulomatous disease of childhood. *Am J Dis Child* 1959; 97: 387-408.
49. Quie PG, White JG, Holmes B, Good RA. In vitro bactericidal capacity of human polymorphonuclear leukocytes diminished activity in chronic granulomatous disease of childhood. *J Clin Invest* 1967; 46: 668-79.
50. Holmes B, Quie PG, Windhorst DB, Good RA. Fatal granulomatous disease of childhood. An inborn abnormality of phagocytic function. *Lancet* 1966; 1: 1225-8.
51. Baehner RL, Nathan DG. Leukocyte oxidase: defective activity in chronic granulomatous disease. *Science* 1967; 155: 835-6.
52. Baehner RL, Nathan DG. Quantitative nitroblue tetrazolium test in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 1968; 278: 971-6.
53. Curnutte JT, Whitten DM, Babior BM. Defective superoxide production by granulocytes from patients with chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 1974; 290: 593-7.
54. Hohn DC, Lehrer RI. NADPH oxidase deficiency in X-linked chronic granulomatous disease. *J Clin Invest* 1975; 55: 707-13.
55. Segal AW. Absence of both cytochrome b-245 subunits from neutrophils in x-linked chronic granulomatous disease. *Nature* 1987; 326: 88-91.
56. Baehner RL. Chronic granulomatous disease of childhood: clinical, pathological, biochemical, molecular and genetic aspects of the disease. *Pediatr Pathol* 1990; 10: 143-53.
57. Ariga T, Furuta H, Cho K, Sakiyama Y. Genetic analysis of 13 families with X-linked chronic granulomatous disease reveals a low proportion of sporadic patients and a high proportion of sporadic carriers. *Pediatr Res* 1998; 44: 85-92.
58. Rae J, Newburger PE, Dinanuer MC, Noack D, Hopkins PJ, Kuruto R et al. X-Linked chronic granulomatous disease: mutations in the CYBB gene encoding the gp91-phox component of respiratory burst oxidase. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1320-31.
59. Roos D, de Boer M, Kuribayashi F, Meischl C, Weening RS, Segal AW et al. Mutations in the X-linked and autosomal recessive forms of chronic granulomatous disease. *Blood* 1996; 87: 1663-81.
60. Winkelstein JA, Marino MC, Johnston RB Jr, Boyle J, Curnutte J, Gallin JI et al. Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. *Medicine* 2000 (Baltimore); 79: 155-69.
61. Roos D, de Boer M, Kuribayashi F, Meischl C, Weening RS, Segal AW et al. Mutations in the X-linked and autosomal recessive forms of chronic granulomatous disease. *Blood* 1996; 87: 1663-81.
62. Williams DA, Tao W, Yang F, Kim C, Gu Y, Mansfield P, et al. Dominant negative mutation of the hematopoietic-specific Rho GTPase, Rac2 is associated with a human phagocyte immunodeficiency. *Blood* 2000; 96: 1646-54.
63. Wintergest U, Rosenzweig SD, Abinon M, Malech HL, Holland SM, Rezai N. Phagocyte Defects. In: Rezai (Ed). *Primary Immunodeficiency Diseases Definition Diagnosis and Treatment*. Berlin: Springer-Verlag 2008; 143-52.

64. Malech HL, Hickstein DD. Genetics, biology and clinical management of myeloid cell primary immune deficiencies: chronic granulomatous disease and leukocyte adhesion deficiency. *Curr Opin Hematol* 2007; 14: 29–36.
65. Movahedi M, Aghamohammadi A, Rezaei N, Shahnava N, Jandaghi AB, Farhoudi A et al. Chronic granulomatous disease: a clinical survey of 41 patients from Iranian primary immunodeficiency registry. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 134: 253-9.
66. Dorman SE, Guide SV, Conville PS, DeCarlo PS, Malech HL, Gallin JI et al. *Nocardia* infection in chronic granulomatous disease. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 390.
67. Segal BH, DeCarlo ES, Kwon- Chung KJ, Malech HL, Gallin JI, Holland SM et al. *Aspergillus nidulans* infection in chronic granulomatous disease. *Medicine (Baltimore)* 1998; 77: 345.
68. Lau YL, Chan GC, Ha SY, Hui YF, Yuen KY. The role of phagocytic respiratory burst in host defence against *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 226.
69. Lee PP, Chan KW, Jiang L, Chen T, Li C, Lee TL, et al. Susceptibility to mycobacterial infections in children with X-linked chronic granulomatous disease: a review of 17 patients living in a region endemic for tuberculosis. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: 224.
70. Bustamente J, Aksu G, Vogt G, de Beaucoudrey L, Genel F, Chapgier A, et al. BCG-osis and tuberculosis in a child with chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 32.
71. Santos PE, Piontelli E, Shea YR, Galluzzo ML, Holland SM, Zelazko ME, et al. *Penicillium piceum* infection: diagnosis and successful treatment in chronic granulomatous disease. *Med Mycol* 2006; 44: 749.
72. Roos D, Kuijpers TW, Curnette JT. Chronic Granulomatous Disease. Ochs HD, Smith CIE, Puck JM.(Ed). *Primary Immunodeficiency Diseases. A molecular and genetic approach*, (2th Ed). New York: New York: Oxford University Press 2007; 527.
73. De Ravin SS, Naumann N, Cowen EW, Friend J, Hilligoss D, Marquessen M, et al. Chronic granulomatous disease as a risk factor for autoimmune disease. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 12: 1097-103.
74. Lekstrom-Himes JA, Kuhns DB, Alvord WG, Gallin JI. Inhibition of human neutrophil IL-8 production by hydrogen peroxide and dysregulation in chronic granulomatous disease. *J Immunol* 2005; 174: 411-7.
75. Fadok VA, Bratton DL, Guthrie L, Henson PM. Differential effects of apoptotic versus lysed cells on macrophage production of cytokines. Role of proteases. *J Immunol* 2001;166: 6847-54.
76. Marciano BE, Rosenzweig SD, Kleiner DE, Anderson VL, Darnell DN, Anaya O'Brien S, et al. Gastrointestinal involvement in chronic granulomatous disease. *Pediatrics* 2004; 114: 462-8.
77. Walther MM, Malech H, Berman A, Choyke P, Venzon DJ, Linehan WM, et al. The urological manifestations of chronic granulomatous disease. *J Urol* 1992; 147: 1314–8.

78. Cale CM, Morton L, Goldblatt D. Cutaneous and other lupus-like symptoms in carriers of X-linked chronic granulomatous disease: incidence and autoimmune serology. *Clin Exp Immunol* 2007; 148: 79–84.
79. Manzi S, Urbach AH, McCune AB, Altman HA, Kaplan SS, Medsger TA, et al. Systemic lupus erythematosus in a boy with chronic granulomatous disease: case report and review of the literature. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 101–5.
80. Hussain N, Feld JJ, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Garcia-Ealate R, Ahlawat S, et al. Hepatic abnormalities in patients with chronic granulomatous disease. *Hepatology* 2007; 45: 675.
81. Feld JJ, Hussain N, Wright EC, Kleiner PE, Hoofnagle JH, Ahlat S, et al. Hepatic involvement and portal hypertension predict mortality in chronic granulomatous disease. *Gastroenterology* 2008; 134: 1917.
82. Goldblatt D, Butcher J, Thrasher AJ, Russell-Eggitt I. Chorioretinal lesions in patients and carriers of chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 1999; 134: 780–3.
83. Walker DH, Okiye G. Chronic granulomatous disease involving the central nervous system. *Pediatr Pathol* 1983; 1: 159–67.
84. Riggs JE, Quaglieri FC, Schochet SS Jr, Dove DJ, et al. Pigmented, lipid-laden histiocytes in the central nervous system in chronic granulomatous disease of childhood. *J Child Neurol* 1989; 4: 61–3.
85. Buescher ES, Galin JL. Stature and weight in chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 1984; 104: 911.
86. Jung K, Elsner J, Emmendörffer A, Bittrich A, Lochmann-Matthes ML, Roesler J, et al. Severe infectious complications in a girl suffering from atopic dermatitis were found to be due to chronic granulomatous disease. *Acta Derm Venereol* 1993; 147: 1314–8.
87. Ahmed I. Clinicopathologic challenge. Childhood granulomatous periorificial dermatitis with extra-facial lesions. *Int J Dermatol* 2007; 46: 143–5.
88. Luis-Montaya P, Saez-de Ocariz MM, Vega-Memije ME. Chronic granulomatous disease: two members of a single family with different dermatologic manifestations. *Skinmed* 2005; 4: 320–2.
89. Marsh WL, Oyen R, Nichols ME, Allen FH Jr. Chronic granulomatous disease and the Kell blood groups. *Br J Haematol* 1975; 29: 247–62.
90. Sieber OF Jr, Fulginiti VA. *Pseudomonas cepacia* pneumonia in a child with chronic granulomatous disease and selective IgA deficiency. *Acta Paediatr Scand* 1976; 65: 519–20.
91. Gerba WM, Miller DR, Pahwa S, Cunningham-Rundlas C, Gupta S, et al. Chronic granulomatous disease and selective IgA deficiency. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1982; 4: 155–60.
92. Shamsian BS, Mansouri D, Pourpak Z, Rezaei N, Chavoshzadeh Z, Jadali F, et al. Autosomal recessive chronic granulomatous disease, IgA deficiency and refractory autoimmune thrombocytopenia responding to Anti-CD20 monoclonal antibody. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2008; 7: 181–4.
93. Brandrup F, Koch C, Petri M, Schiødt M, Johansen KS. Discoid lupus erythematosus-like lesions and stomatitis in female carriers of X-linked chronic granulomatous disease. *Br J Dermatol* 1981; 104: 495–505.

94. Kragballe K, Borregaard N, Brandrup F, Koch C, Staehrjohansen K. Relation of monocyte and neutrophil oxidative metabolism to skin and oral lesions in carriers of chronic granulomatous disease. *Clin Exp Immunol* 1981; 43: 390–8.
95. Vowells SJ, Fleisher TA, Sekhsaria S, Alling DW, Maguire TE, Malech HL. Genotype-dependent variability in flow cytometric evaluation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase function in patients with chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 1996; 128: 104-7.
96. Vowells SJ, Sekhsaria S, Malech HL, Shalit M, Fleisher TA. Flow cytometric analysis of the granulocyte respiratory burst: a comparison study of fluorescent probes. *J Immunol Methods* 1995; 178: 89–97.
97. Emmendorffer A, Nakamura M, Rothe G, Spiekerman K, Lohmann- Matthes ML, Roesler J. Evaluation of the flow cytometric methods for diagnosis of chronic granulomatous disease variants under routine laboratory conditions. *Cytometry* 1994; 18: 147-55.
98. Henderson LM, Chappell JB. Dihydrorhadamine 123: a fluorescent probe for superoxide generation? *Eur J Biochem* 1993; 217: 973-80.
99. Mauch L, Lun A, O’Gorman MR, Harris JS, Schulze I, Zychlinsky A, et al. Chronic granulomatous disease (CGD) and complete myeloperoxidase deficiency both yield strongly reduced dihydrorhodamine 123 test signals but can be easily discerned in routine testing for CGD. *Clin Chem* 2007; 53: 890.
100. Ferguson PJ, Lokuta MA, El-Shanti HI, Muhle L, Bing X, Huttenlocher A, et al. Neutrophil dysfunction in a family with a SAPHO syndrome-like phenotype. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 3264.
101. Roos D, van Zwieten R, Wijnen JT, Gomez-Gallega, de Boer M, Stevens D, et al. Molecular basis and enzymatic properties of glucose 6-phosphate dehydrogenase volendam, leading to chronic nonspherocytic anemia, granulocyte dysfunction, and increased susceptibility to infections. *Blood* 1999; 94: 2955.
102. Gallin JI, Alling DW, Malech HL, Wesley R, Koziol D, Marciano et al. Itraconazole to prevent fungal infections in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 2003; 348: 2416-22.
103. Margolis DM, Melnick DA, Alling DW, Gallin JI. Trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in the management of chronic granulomatous disease. *J Infect Dis* 1990; 162: 723–6.
104. Seger RA. Chronic granulomatous disease: recent advances in pathophysiology and treatment. *Neth J Med* 2010; 68: 334-40.
105. Segal BH, Barnhart LA, Anderson VL, Walsh TJ, Malech HL, Holland SM. Posaconazole as salvage therapy in patients with chronic granulomatous disease and invasive filamentous fungal infection. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1684–8.
106. Saha B, Jyothi Prasanna S, Chandrasekar B, Nandi D. Gene modulation and immunoregulatory roles of interferon gamma. *Cytokine* 2010; 50: 1-14.
107. Miller CHT, Maher SG, Young HA. Clinical use of Interferon- γ . *Cytokine Therapies: Ann NY Acad Sci* 2009; 1182: 69-79.
108. Bolinger AM, Taeubel MA. Recombinant interferon gamma for treatment of chronic granulomatous disease and other disorders. *Clin Pharm* 1992; 11: 834-50.

109. Errante PR, Frazao JB, Condino-Neto A. The Use of Interferon-Gamma Therapy in Chronic Granulomatous Disease. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* 2008; 3: 225-30.
110. Gungor T, Halter J, Klink A, Junge S, Stumpe KD, Seger R, Schanz U. Successful low toxicity hematopoietic stem cell transplantation for high-risk adult chronic granulomatous disease patients. *Transplantation* 2005; 79: 1596–606.
111. Horwitz ME, Barrett AJ, Brown MR, Carter CS, Childs R, Gallin JI, et al. Treatment of chronic granulomatous disease with nonmyeloablative conditioning and a T cell-depleted hematopoietic allograft. *N Engl J Med* 2001; 344: 881–8.
112. Seger RA, Gungor T, Belohradsky BH, Blanche S, Bordigoni P, Di-Barholomeo P, et al. Treatment of chronic granulomatous disease with myeloablative conditioning and an unmodified hemopoietic allograft: survey of European experience 1985-2000. *Blood* 2002; 100: 4344-50.
113. Gungor T, Halter J, Klink A, Junge S, Stumpe KD, Seger R, Schanz U. Successful low toxicity hematopoietic stem cell transplantation for high-risk adult chronic granulomatous disease patients. *Transplantation* 2005; 79: 1596–606.
114. Dinanuer MC, Li LL, Bjorgvinsdottir H, Ding C, Pech N. Long-term correction of phagocyte NADPH oxidase activity by retroviral-mediated gene transfer in murine X-linked chronic granulomatous disease. *Blood* 1999; 94: 914–22.
115. Malech HL, Maples PB, Whiting-Theobald N, Linton GF, Sekhsaria S, Vowells SJ, et al. Prolonged production of NADPH oxidase-corrected granulocytes after gene therapy of chronic granulomatous disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 12133–8.
116. Weil WM, Linton GF, Whiting-Theobald N, Vowells SJ, Rafferty SP, Li F, et al. Genetic correction of p67phox deficient chronic granulomatous disease using peripheral blood progenitor cells as a target for retrovirus mediated gene transfer. *Blood* 1997; 89: 1754–61.
117. Rosenzweig SD, Holland SM. Phagocyte immunodeficiencies and their infections. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 620-6.
118. Ahlin A, Larfars G, Elinder G, Palmblad J, Gyllenhammar H. Gamma interferon treatment of patients with chronic granulomatous disease is associated with augmented production of nitric oxide by polymorphonuclear neutrophils. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6: 420-4.
119. Condio-Neto A, Newburger PE. Interferon-gamma improves splicing efficiency of CYBB gene transcripts in an interferon-responsive variant of chronic granulomatous disease due to a splice site consensus region mutation. *Blood* 2000; 95: 3548-54.
120. Köker MY, Sanal Ö, de Boer M, Tezcan İ, Metin A, Ersoy F, et al. Mutations of chronic granulomatous disease in Turkish families. *Eur J Clin Invest* 2007; 37: 589-95.
121. Bittles A. Consanguinity and its relevance to clinical genetics. *Clin Genet* 2001; 60: 89-98.
122. El Kares R, Barbouche MR, Elloumi-Zghal H, Bejaoui M, Chemli J, Mellouli F, et al. Genetic and mutational heterogeneity of autosomal recessive chronic granulomatous disease in Tunisia. *J Hum Genet* 2006; 51: 887-95.

123. Bakri FG, Martel C, Khuri-Bulos N, Mahafzah A, El Khateeb MS, Al Wahadneh AM, et al. First report of clinical, functional and molecular investigation of chronic granulomatous disease in nine Jordanian families. *J Clin Immunol* 2009; 29: 215-30.
124. van den Berg J M, van Koppen E, Ahlin A, Belohradsky BH, Bernatowska E, Corbeel L, et al. Chronic Granulomatous Disease: The European Experience. *PLoS One* 2009; 4(4): e5234.
125. Fattahi F, Badalzadeh M, Sedighipour L, Movahedi M, Fazlollahi MR, Mansouri SD, et al. Inheritance Pattern and Clinical Aspects of 93 Irain Patients with Chronic Granulomatous Disease. *J Clin Immunol* 2011; 31: 702-801.
126. Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması TNSA 2003, Analiz ve Rapor, Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, Ankara 2004. (www.hips.hacettepe.edu.tr/tnsa_2003/analizrapor.htm-15k)
127. Palacin PS, Margareto C, Llobet P, Asensio O, Hernandez M, Caragol I, et al. Chronic granulomatous disease in pediatric patients: 25 years of experience. *Allergol et Immunopathol* 2007; 35: 83-9.
128. Jones LB, McGrogan P, Flood TJ, Gennery AR, Morton L, Thrasher A, et al. Special Article: Chronic granulomatous disease in the United Kingdom and Ireland: a comprehensive national patient-based registry. *Clin Exp Immunol* 2008; 152: 211-8.
129. Mouy R, Seger R, Bourquin JP, Veber F, Blanche S, Griscelli C, et al. Interferon gamma for chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 1991; 325: 1516-7.

10. EKLER

Ek 1. Anket Formu.

Kronik Granülamatoz Hastalıkta İnterferon Gamma Tedavisinin Fagositer Hücreler Üzerine Etkisi

Adı Soyadı:.....

Cinsiyet:.....

Doğum Tarihi:.....

Merkez Adı:.....

Tanı Yaşı:.....

Akrabalık öyküsü:.....

Ailede PİY Öyküsü:.....

Ek Hastalık:.....

NADPH Oksidaz eksikliği alt grubu.....

DNA analiz:.....

Mevcut Aldığı Tedaviler alıyor almıyor

TMP/SMX ☐ ☐

Itrakanazol ☐ ☐

IFN-Gamma ☐ ☐

Dozu:

IFN-gamma başlangıç tarihi:.....

IFN-Gamma tedavisi kesildiyse, kesilme tarihi:.....

Not: Lütfen aşağıdaki bölümü IFN-gamma tedavisi alan ve almayanlarda tedavi öncesi ve sonrası olarak doldurunuz

	IFN-Gamma öncesi	IFN-Gamma sonrası	IFN-Gamma tedavisi kesilme sonrası ya da tedavi hiç almayanlar
Kortizon kullanımı ve diğer immün supresif tedaviler			
Ciddi enfeksiyon sıklığı/yıl (Hastaneye yatış ya da parenteral antibiyotik gereksinimi)			
Pnömoni sıklığı/yıl			
Yumuşak doku enfeksiyonu sıklığı/yıl			
Lenfadenit sıklığı/yıl			
Organ absesi sıklığı/yıl ve lokalizasyonu			
Granülamatoz reaksiyonlar/yıl ve lokalizasyonu			
Diğer komplikasyon			