

Olgu Sunumu

Çok Yönlü Bulguları Olan Wolfram Sendromlu Üç Olguda Hücresel ve Humoral İmmünite Sonuçları

N. KABAKUŞ*, A. GÖDEKMERDAN**, A. KURT***, A.N. KURT (ÇITAK)***

* Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nörolojisi Ünitesi,

** Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı,

*** Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, ELAZIĞ

Bu sunumun amacı, mitokondriyal bir hastalık olarak bilinen Wolfram sendromlu hastalarımızda, çok yönlü ve değişik bulguların (diabetes mellitus, diabetes insipidus, optik atrofi, sensörinöral işitme kabı, renal anomaliler, serebellar atrofi, hipofizer boy kısalığı ve depresyon) erken yaşta ortaya çıkmasında olası immünolojik bozuklukların patolojik tabloya etkisinin araştırılmasıydı. İki erkek (kardeşler), biri kız, üç Wolfram sendromlu hastada (sırasıyla 11, 8 ve 14 yaş), flow-sitometrik olarak lenfosit subtipleri ve turbidometrik yöntemle total IgG, IgM, IgA, C3, C4 ve CH 50 düzeyleri çalışıldı. Wolfram sendromlu hastalarımızda or-

taya çıkan çok yönlü ve değişik klinik bulguların, literatürde belirtilen ortalama yaşlardan daha erken ortaya çıktığı; immüniteye yönelik çalışmalarda lenfosit subtiplerinin ve total IgG, IgM, IgA, C3, C4 ve CH 50 sonuçlarının normal olduğu bulundu. Wolfram sendromuna ait değişik ve çok yönlü bulguların erken yaşta ortaya çıkışında, temel hücresel ve humoral immünite defektine ait katkının düşünülmemeyeceği; daha çok hastalığın doğal seyri ile çevresel ve irksal faktörlerin etkili olabileceği düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Wolfram sendromu, İmmünite, Çocuk.

The Results of Humoral and Cellular Immunity in Three Wolfram's Syndrome Cases with Multiple Signs

The aim of this case study was to investigate the effects of possible immunity impairments on pathological condition in case multiple and various signs (diabetes mellitus, diabetes insipidus, optic atrophy, sensorineural hearing loss, renal anomalies, cerebellar atrophy, hypophyseal shortness and depression) appear at an early age during our Wolfram's syndrome, which is known as a mitochondrial disease. Immunity

studies were carried out on three patients with Wolfram's syndrome, two of whom were brothers and one was a girl (11, 8 and 14 years old, respectively). Lymphocyte subtypes were analyzed by flow-cytometric method and total IgG, IgM, IgA, C3, C4 and CH 50 were analyzed by turbidometric method. It was found that the multiple and various signs in our patients with Wolfram's syndrome clinically developed earlier

Yazışma Adresi: Dr. N. KABAKUŞ

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nörolojisi Ünitesi, 23119, ELAZIĞ
e-posta: nkabakus@hotmail.com

than the mean ages indicated in the literature, and lymphocyte subtypes and total IgG, IgA, IgM C3, C4 and CH 50 were within the normal range. It can be thought that emergence of different and multiple signs of Wolfram's syndrome at an early age may be due to environmental and racial factors and that there seems

to be no negative immune contribution to this condition, since major immune parameters are found normal.

Key Words: Wolfram's syndrome, Immunity, Child.

Wolfram (Didmoad) sendromu (WS) ilk defa 1938 yılında, fizyolog Wolfram tarafından dört hastada tanımlanmış, otozomal resesif geçişli nörodejeneratif bir hastalıktır^[1]. Prevalansı 1/770.000-1/100.000 olarak bildirilmektedir^[2-5]. Sendromun en sık bulguları diabetes mellitus (DM), diabetes insipidus (DI), optik atrofi ve sağırliktır. Diyabet genellikle ilk bulgudur ve çocukluk, adölesan dönem veya erken erişkin yaşta ortaya çıkabilir^[6]. Tip 1 DM'yi de içeren multipl endokrin bozukluklarının bazılarında otoimmün bozukluğun gösterilmesi ve WS'nin de temel bir endokrinopati olması; bu sendromun etyolojisinde olası otoimmün bozukluğu düşündürülebilir^[6,7].

İmmün durumun değerlendirilmesinde, insanlardaki lenfoid sistemin göstergesi olarak kandaki lenfosit ve lenfosit alt gruplarının belirlenmesi önemli bilgi sağlar^[8,9]. Günümüzde pek çok immünolojik hastalığın tanı, izlem ve tedavisinde, immün fenotiplendirme etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Özellikle bu yöntem ile hücrel immünite sayısal olarak değerlendirilebilmektedir^[10-12].

Bu çalışmada, değişik bulguların da eşlik ettiği (hidronefroz, nörojen mesane, boy kısalığı, anemi ve depresyon) WS tanısı konulmuş ikisi kardeş üç olguda lenfosit subtipleri ile immünglobulinler, C3, C4 ve CH 50 çalışıldı. Bu amaçla T-lenfosit (CD2⁺, CD3⁺), yardımcı T-lenfosit (CD4⁺), sitotoksik T-lenfosit (CD8⁺), B-lenfosit (CD19⁺) ve doğal öldürücü hücrelerin (CD16⁺CD56⁺) rölatif (%) ve absölü ($\times 10^9/L$) değerleri araştırıldı.

OLGU SUNUMU

Kötü metabolik kontrol nedeniyle kliniğimize yatırılan sekiz (olgu 1) ve 11 (olgu 2) yaşlarında iki erkek kardeş, iki yıldan beri WS tanısı ile izlenmekteydi. Hastaların anne ve babası birinci dereceden akraba idi. Her iki kar-

deşin WS'ye ek bulguları vardı (Tablo 1). Olgu 1'in HbA_{1c}'si %7.1, açlık kan şekeri 102 mg/dL iken; olgu 2'nin HbA_{1c}'si %12, açlık kan şekeri 346 mg/dL olarak bulundu. Her iki hastanın bazal ve uyarılmış büyüme hormonunun düşük olduğu belirlendi.

Üçüncü olgu 14 yaşında kız hasta idi ve altı yıldan beri WS tanısı ile izlenmekteydi. Son günlerde sık idrara çıkma yakınması vardı. Anne ve babası arasında birinci dereceden akrabalık mevcut olup; diğer üç kız, iki erkek kardeşi sağlıklı idi. Hastanın WS bulgularına ek olarak hipofizer kaynaklı boy kısalığı ile nörojenik mesanesi belirlendi (Tablo 1). Olgunun HbA_{1c}'si %8.4, açlık kan şekeri 128 mg/dL idi. Her üç hastanın da geniş taramalı metabolik testleri normaldi.

Hastaların Space marka kitleri kullanılarak (Alfa Wassermann Diagnostic, Milano-Italy) turbidometrik yöntemle (Shaperelli Biosystems Space Unit) çalışılan total IgG, IgM, IgA, C3, C4 ve CH 50 sonuçlarının normal olduğu bulundu. Ayrıca, hastalarda ELISA yöntemi ile bakılan antinökleer antikor, antipariyetal hücre antikor ve anti-ds-DNA negatif sonuç verdi.

Hastaların ve kontrol grubu sağlıklı beş çocuğun (ikisi kız, üçü erkek) lenfosit subtiplerini araştırmak için total T-lenfosit (CD3⁺), yardımcı T-lenfosit (CD4⁺), sitotoksik T-lenfosit (CD8⁺), B-lenfosit (CD19⁺) ve doğal öldürücü hücrelerin (CD16⁺ CD56⁺) rölatif (%) ve absölü ($\times 10^9/L$) değerleri hesaplandı. Bireylerden yaklaşık 2 mL (EDTA'lı) kan örneği alınarak, en geç iki saat içerisinde çalışıldı. Floresanla (FITC veya PE) işaretli monoklonal antikorlar (Coulter Immunotech, France) kullanılarak Coulter EPICS XL-MCL (Beckman Coulter, USA) cihazında analiz yapıldı^[4]. EDTA'lı tüp içerisindeki periferik kan örneğinden, tam kan lizis

Tablo 1. Hastaların özellikleri.

Vaka	Yaş/DM/DI/OA/sağrlık tam yaşları (yıl)	Cinsiyet	Akrabalık	Renal anomali	Beyin MRG	Diğer bulgular
1	11/5/8/10/8	Erkek	+	Bilateral Hidronefroz	Serebellar atrofi Nörohipofizde Sinyal kaybı	Depresyon Anemi (megaloblastik) Boy kısalığı
2	8/6/7/6/7	Erkek	+	Bilateral Hidronefroz	Serebellar atrofi	-
3	14/8/12/11/9	Kız	+	Nörojen mesane	-	Boy kısalığı

DM: Diabetes mellitus, DI: Diabetes insipidus, OA: Optik atrofi, MRG: Manyetik rezonans görüntüleme.

yöntemiyle eritrositler uzaklaştırıldı. Sonrasında her tüp için uygun gate içerisinde 5000 hücre sayıldı ve analizleri yapıldı. Her bir monoklonal antikora reaksiyon veren lenfositler, floresan özelliklerine göre ayrılıp, sayıları yüzde olarak rapor edildi. Sonuçlar Tablo 2’de verildi. Grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Buna göre hasta ve kontrol gruplarının beyaz küre ile lenfosit subtiplerinin rölatif ve absölu değerleri arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

WS; santral sinir sistemini, periferik sinirleri ve nöroendokrin dokuları etkileyen iyi tanımlanmış nörodejeneratif bir hastalıktır. Mitokondriyal bir hastalık olduğu, otozomal resesif geçiş gösterdiği ve sorumlu genin 4p16.1’in kısa kolunda lokalize olduğu belirlenmiştir^[13,14]. Bu genin ayrıca, heterozigot taşıyanlarda psikiyatrik hastalıklara artan yatkınlık oluşturabileceği bildirilmektedir^[15].

Mitokondriyal hastalıklar birçok sistemi etkileyen bozukluklardır. Çok yönlü patolojiler temel enerji yoksunluğundan kaynaklanır. Ancak bu hastalıklarda immünitinin de bozulabileceğini gösteren çalışmalar vardır^[16]. Mitokondriyal DNA mutasyonları ile birlikte görülen diyabet, genellikle insülin direncinden çok, insülin salgılamasında yetersizlikten (enerji yoksunluğuna ikincil) kaynaklanır. Diyabete neden olan mitokondriyal kusurlar çoğunlukla mental reterdasyon, migren, sağrlık ve konvülsiyon gibi nörovasküler bozukluklarla birlikte seyreder. Bu tür mitokondriyal hastalıklardan en iyi bilinenlerden olan MELAS (mitokondriyal ensefalopati, laktik asidoz ve stroke-benze-

ri epizotlar) sendromu, ensefalopati atakları yanında kısa boy ve diyabetik komponentlerle de birliktelik gösterebilir^[6,16,17].

WS’de çok yönlü sorunların otoimmün bozuklukla ilişkili olabileceği düşünülebilir. Çünkü bazı multipl endokrin bozuklukların otoimmün bozukluklardan kaynaklandığı bilinmektedir^[6,17]. WS’yi oluşturan klinikopatolojik durumların bir veya birkaçını içinde barındıran diğer klinikopatolojik durumların da (DM, DI, optik atrofi) otoimmün kaynaklı olabileceği kanıtlanmıştır. Otoimmünite bozukluklarından sorumlu temel hücreler lenfositler olduğundan, lenfosit hücre profili, bu tür taramalarda anlamlı bilgiler verebilir. Tip 1 DM’li 39 hasta çocuk grubunda yapılan bir çalışmada, lenfosit subtipleri ile T ve B-lenfosit değerlerinin normal olduğu bulunmuştur^[18].

Biz de bu amaçla, endokrin komponentleri ile birlikte aslında mitokondriyal bir hastalık olan WS’li üç hastamızda dağınık bulguların immünolojik disfonksiyonla ilişkisini araştırdık. İkisi kardeş üç WS’li hastada elde ettiğimiz bu verilerle, WS’ye ait değişik ve çok yönlü bulguların erken yaşta ortaya çıkışında, hastalığın doğal seyri yanında, çevresel ve ırksal faktörlerin de katkıda bulunabileceği, bu süreçte temel immün parametrelerin normal olması dolayısıyla immün olumsuz bir katkının bulunmadığı söylenebilir. Ancak bu konuda daha büyük WS’li hasta grubunda, immünolojik çalışmalara gereksinim duyulduğu açıktır.

Tablo 2. Wolfram sendromlu ve kontrol grubundaki hastaların sayı, yaş ortalaması ve BK, TLS ile lenfosit subgruplarının median değerleri.

Olgular	Yaş (yıl)	BK (x10 ⁹ /L)	TLS (%)	TLS (x10 ⁹ /L)	CD2 ⁺ (%)	CD2 ⁺ (x10 ⁹ /L)	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ (x10 ⁹ /L)	CD4 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (x10 ⁹ /L)	CD8 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (x10 ⁹ /L)	CD19 ⁺ (%)	CD19 ⁺ (x10 ⁹ /L)	CDI6 ⁺ 56 ⁺ (%)	CDI6 ⁺ 56 ⁺ (x10 ⁹ /L)
1	11	7.50	45.27	3.395	74.6	2.533	67.08	2.277	35.47	1.204	34.93	1.186	19.91	0.676	30.03	1.019
2	8	6.85	33.35	2.284	72.88	1.664	67.81	1.548	40.38	0.922	30.11	0.687	20.66	0.472	16.20	0.370
3	14	7.23	40.12	2.900	82.71	2.398	72.45	2.101	43.21	1.253	25.63	0.743	16.48	0.478	27.45	0.796
Gruplar Sayı (ort ± SS)																
WS	3	11.0 ± 1.73	40.12	2.90	74.60	2.39	67.81	2.10	40.38	1.20	30.11	0.74	19.91	0.47	27.45	0.79
Kontrol	5	10.6 ± 0.50	33.63	2.21	80.69	1.78	73.36	1.58	39.04	0.84	34.08	0.75	12.15	0.29	30.03	0.64

Ort: Aritmetik ortalaması, SS: Standart sapma, BK: Beyaz küre, TLS: Total lenfosit sayısı, WS: Wolfram sendromu.

KAYNAKLAR

1. Wolfram D, Wagener HP. Diabetes mellitus and simple optic atrophy among siblings: report of four cases. *Mayo Clin* 1938;13:715-8.
2. Barrett TG, Bunday SE, Macleod AF. Neurodegeneration and diabetes: UK nationwide study of Wolfram (Didmoad) syndrome. *Lancet* 1995;346:1458-63.
3. Kinsley BT, Swift M, Dumont RH, Swift RG. Morbidity and mortality in the Wolfram syndrome. *Diabetes Care* 1995;18:1566-70.
4. Fraser FC, Gunn T. Diabetes mellitus, diabetes insipidus and optic atrophy. An autosomal recessive syndrome? *J Med Genet* 1977;14:190-3.
5. Gunn T, Bortolussi R, Little JM ve ark. Juvenile diabetes mellitus, optic atrophy, sensory nerve deafness and diabetes insipidus-a syndrome. *J Pediatrics* 1976;89:565-70.
6. Sperling MA. Diabetes mellitus in children. In: Behrman ER, Kliegman MR, Jenson HB (ed). 2nd ed. Philadelphia: Saunders, 2000:1767-91.
7. Saka HN. Diabetes mellitus. Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S (editörler). *Pediatric Endocrinoloji*. 1. Baskı. *Pediatric Endocrinoloji ve Oksoloji Derneği*, 2003:415-56.
8. Hoshino T, Yamada A, Honda J ve ark. Tissue-specific distribution and age-dependent increase of human CD11b+ T-cells. *J Immunol* 1993;153:2237-46.
9. Imboden JB. T-lymphocytes & natural killer cells. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG (eds). *Medical Immunology*. 9th ed. California: Appleton & Lange, 1997:130-45.
10. Bleesing J, Fleisher TA. Immunophenotyping. *Semin Hematol* 2001;38:100-10.
11. De Vries E, Noordzij JG, Kuijpers TW, van Dongen JJM. Flow-cytometric immunophenotyping in the diagnosis and follow-up of immunodeficient children. *Eur J Pediatr* 2001;160:583-91.
12. Globerson A, Effors RB. Ageing of lymphocytes and lymphocytes in the aged. *Immunol Today* 2000;21:515-20.
13. Polymeropoulos MH, Seift M. Linkage of the gene for Wolfram syndrome to markers on the short arm of chromosome 4. *Nat Genet* 1994;8:95-7.
14. Jackson MJ, Bindoff LA, Weber K ve ark. Biochemical and molecular studies of mitochondrial function in diabetes insipidus, diabetes mellitus, optic atrophy and deafness. *Diabetes Care* 1994;7:728-33.
15. Swift RG, Polymeropoulos MH, Torres R, Swift M. Predisposition of Wolfram syndrome heterozygotes to psychiatric illness. *Mol Psychiat* 1998;3:86-91.
16. Yiping G, Chunjie W, Chaim MR, Amos C. Role of MHC class I in immune surveillance of mitochondrial DNA integrity 1. *J Immunol* 2003;170:3603-7.
17. Van den Akker ELT, Bruining J. Genetic syndromes and diabetes. In: Pickup JC, Williams G (eds). *Textbook of Diabetes*. 3rd ed. Blackwell Publishing, 2003:30.1-30.18.
18. Kadziela K, Kowalska H, Rymkiewicz-Kluczynska B ve ark. Changes in lymphocyte subsets in children with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2003;16:185-91.