

Araştırma

Süt Çocuğunun Geçici Hipogamaglobulinemisinde Lenfosit Alt Gruplarının Yaşla Birlikte Değişimi

İ. SAĞLAM*, H. ARTAÇ*, R. KARA*, S. PEKCAN*, İ. REİSLİ *

* Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, KONYA

Bu çalışmanın amacı, süt çocuğunun geçici hipogamaglobulinemisinde (SGH), periferik kan lenfosit alt gruplarının yaşa göre izlediği değişiklikleri incelemek ve sağlıklı Türk çocuklarının değerlerinden farklı olup olmadığını değerlendirmektir. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bölümünde Kasım 2001-Kasım 2006 tarihleri arasında SGH tanısıyla takipli 104 (6 ay-4 yaş) hasta çalışmaya alındı. Bu hastalar üç gruba ayrılarak (grup 1: 6-12 ay, grup 2: 12-24 ay, grup 3: 24-48 ay) periferik kan lenfosit alt grup oranları ve mutlak sayıları, sağlıklı Türk çocuklarının değerleri ile karşılaştırıldı. SGH'li çocukların lenfosit alt gruplarının sağlıklı çocuklara benzer şekilde yaşla birlikte değiştiği saptandı. CD4⁺ T-lenfosit ve natural killer hücrelerinin mutlak sayıları grup 1'de, CD19⁺ B lenfositleri

nin rölatif oranları ve mutlak sayıları grup 2'de, sağlıklı Türk çocuklarının değerlerine göre düşük bulundu ($p < 0.05$). Grup 3'ün ise CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ T-lenfositleri ile natural killer hücrelerinin mutlak sayıları, sağlıklı kontrollere göre yüksekti ($p < 0.05$). Her üç grubun CD8⁺ T-lenfositlerin rölatif oranlarının, sağlıklı Türk çocuklarına göre yüksek olduğu saptandı ($p < 0.05$). SGH'li hastaların periferik kan lenfosit alt gruplarının rölatif ve mutlak sayıları sağlıklı çocuklarla karşılaştırıldığında, anlamlı farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Bu farklılıkların antikor yapım bozukluğu ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Süt çocuğunun geçici hipogamaglobulinemisi, Periferik kan lenfosit alt grupları.

The Change of Lymphocytes Subsets with Age in Children with Transient Hypogammaglobulinemia

The aim of this study is to determine the changes of peripheral blood lymphocytes subtypes of patients with transient hypogammaglobulinemia of infancy (THI) according to age and compare them to healthy Turkish children. The medical records of 104 children (6 months- 4 years) with THI who are followed by Department of Pediatric Immunology and Allergy between October 2001 and October 2006 were evaluate:d retrospectively. The study group was divided into three

groups according to age as follows: group 1: 6-12 months, group 2: 12-24 months, group 3: 24-48 months. The lymphocytes subsets and absolute count of THI groups were compared with peripheral blood lymphocytes subtypes of the healthy Turkish children. The values of peripheral blood lymphocytes subtypes of children with THI were found to be changed according to age. While the absolute counts of CD4⁺ T cells and NK cells was significantly low in group 1, absolu-

Yazışma Adresi: Dr. İ. SAĞLAM

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, KONYA

te count and relative ratio of CD19⁺ B cells were reduced in group 2 compared with healthy Turkish children ($p < 0.05$). Absolute counts of T cell subsets and NK cells were high in group 3 compared with controls ($p < 0.05$). In all three groups the mean values of the ratios of CD8⁺ T cells were higher than the healthy controls ($p < 0.05$). The ratios and absolute values of

peripheral blood lymphocyte subtypes in THI were found to be different from the healthy controls. These differences may be related with the defective antibody production in THI.

Key Words: Peripheral blood lymphocytes, Transient hypogammaglobulinemia of infancy.

Süt çocuğunun geçici hipogamaglobuline-misi (SGH), yaşamın ilk 3-6. ayında görülen fizyolojik hipogamaglobulinemi döneminin uzaması olarak tanımlanır^[1,2]. SGH'nin tam olarak sıklığı bilinmemektedir. Çeşitli merkezler tarafından yapılan çalışmalar, sıklığının binde 0.5 ile %2.1 arasında olduğunu düşündürmektedir^[3-6]. Bununla birlikte olgular kliniğe tekrarlayan infeksiyon nedeni ile başvurdukları için, bu oranlar gerçek sıklığı yansıtmamaktadır. Yorulmaz ve arkadaşları, beş yıllık bir sürede primer immünyetmezlik tanısı konulmuş 1054 hastada SGH oranını %37.9 olarak bulmuşlardır^[7]. Aynı sürede Konya'da 200 bin doğum olduğu göz önüne alındığında, semptomatik olup immünoloji polikliniğine başvuran SGH sıklığı, 1000 canlı doğumda 2 olarak tahmin edilebilir.

SGH ilk kez 1956 yılında tanımlanmış olmasına rağmen nedeni hala bilinmemektedir^[1]. B hücrelerinin matürasyonunda gecikme, yardımcı T-hücre (CD4⁺) matürasyon bozukluğu ve sitokinler arasındaki düzensizlikler gibi teoriler ileri sürülmüştür (3,4,6,8-11). Literatürde SGH'li hastalarda yapılan çalışmalarda T ve B lenfositlerin ve natural killer (NK) hücrelerinin rölatif oranlarının ve mutlak sayılarının normal olduğu bildirilmiştir (8,10,12,13). Bununla birlikte lenfosit alt gruplarının yaş ile değişimi değerlendirilmemiştir. Bu çalışmada, SGH'de periferik kan lenfosit alt gruplarının yaş ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada, Kasım 2001-Kasım 2006 tarihleri arasında SGH tanısıyla takipli 104 olgunun dosya kayıtları retrospektif olarak değerlendirildi.

Olgularda SGH için şu kriterler arandı^[13]:

1. Başvuruda yaşı dört yılın altında olan olgular;

2. İmmünglobulin (Ig)G ve/veya diğer majör Ig'nin (IgA,M) serum seviyesinin yaşa göre olması gereken değerlerin 2 SD'nin altında olması,

3. İzohemaglutinin titresinin normal olması (1/10 ve üzeri),

4. Hücrel immünitinin sağlam olması, klinik ve laboratuvar tetkikleri ile diğer immün yetmezlik sendromlarının olmaması.

Her olgu Ig'leri normale gelinceye kadar üç-altı aylık periyodlarla kontrole çağırıldı. Kontrollerde olgular klinik ve laboratuvar testleri ile incelendi. Böylece olguların SGH tanıları kesinleştirildi. Laboratuvar testlerinden; Ig'leri izohemaglutinin titreleri (anti-A, anti-B, N: $\geq 1/10$), total lenfosit sayıları (TLS), periferik kan lenfosit alt grupları (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16-56, HLADR ve HLA sınıf I) rölatif oran (%) ve mutlak sayıları ($\times 10^9/L$) her bir hasta için formlara kaydedildi.

Olguların verilerinin sağlıklı Türk çocuklarının verileri ile karşılaştırılması için, hastalar periferik kan lenfosit alt gruplarının çalışıldığı yaşa göre üç gruba ayrıldı: Grup 1; 6-12 ay, grup 2; 12-24 ay, grup 3; 24-48 ay. Sağlıklı Türk çocuklarında periferik kan lenfosit alt grup düzeyleri ve mutlak sayıları kontrol grubu olarak kullanıldı^[14].

Tam kan sayımı, EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örnekleri ile Beckman Coulter cihazında çalışıldı. Serum Ig düzeyleri ve IgG alt grupları nefelometrik yöntemle (Date Behring Marburg GmbH, Almanya) bakıldı ve değerler yaşa göre normal sınırlarla karşılaştırıldı^[15]. Periferik lenfosit alt grup analizi dört renkli akış sitometri (BD Facs Calibur, BD Calibur, BD Biosciences, San Jose, California, ABD) yöntemiyle yapıldı. CD45FITC, CD14PE, CD3FITC, CD4PE, CD8APC, CD19FITC, CD16-56 PE, HLADR-PE ve HLA Class 1-PE monoklonal antikorları kullanıldı.

SGH'li olguların TLS, CD3⁺ T-hücre, CD4⁺ T-hücre, CD8⁺ T-hücre, CD19⁺ B-hücre ve CD16⁺56⁺ NK hücre oranları ve mutlak sayıları sağlıklı Türk çocuklarının normal değerleri ile karşılaştırıldı. Yaşa bağımlı olarak toplam lenfosit sayıları ile periferik kan lenfositlerinin oran ve mutlak sayı değişimleri irdelendi ve sağlıklı Türk çocuklarının değerleri ile karşılaştırıldı.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi "SPSS for Windows, Version 10.0, SPSS Inc, U.S.A" paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki karşılaştırılmada Fisher ki-kare ve independent sample t-testleri kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

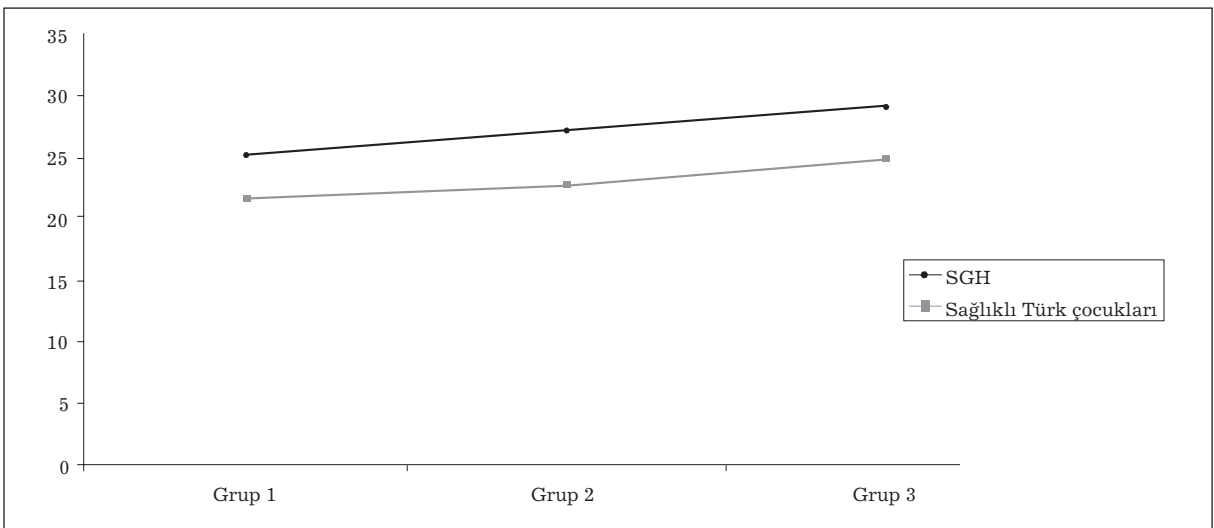
Bu çalışma SGH'li toplam 104 olguda gerçekleştirildi. Grup 1 yaşları 6-12 ay arasında değişen 30 olgudan oluştu ve median yaş 10 ay idi. Olguların 19 (%63.3)'u erkek, 11 (%36.6)'i kızdı. Grup 2 yaşları 12-24 ay arasında değişen 30 olgudan oluştu. Bu grupta median yaş 18 ay idi ve olguların 21 (%70)'i erkek, 9 (%30)'u kızdı. Grup 3'teki olguların yaşları 24-48 ay arasında değişmekte olup, median yaş 36 ay 33 (%75)'ü erkek, 11 (%25)'i kız idi. Her üç gruptaki olgular ile kontrol grubu olguları arasında cinsiyet yönünden bir fark saptanmadı.

SGH'li olgularda total lenfosit sayısı, CD3⁺ T-lenfosit, CD4⁺ T-lenfosit ve CD19⁺ B-lenfosit-

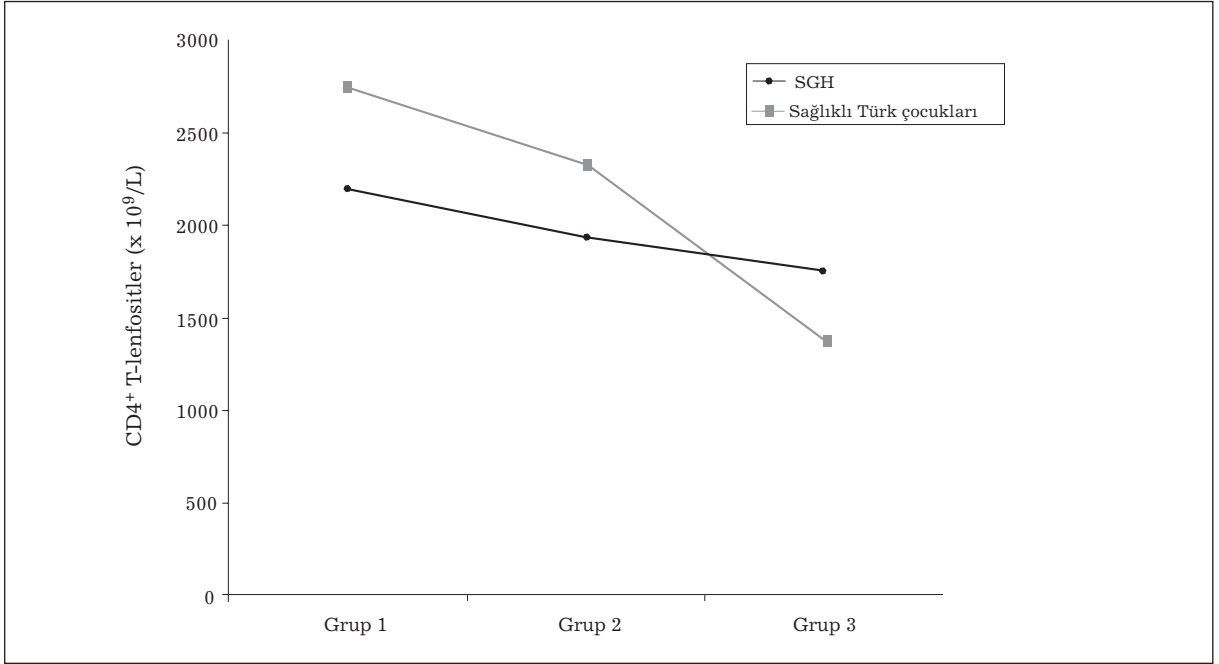
lerinin rölatif oranlarının, sağlıklı çocuklara benzer şekilde yaşla birlikte azaldığı saptandı. CD8⁺ T-lenfositlerinin rölatif oranları ise her üç yaş grubunda da sağlıklı kontrollerden yüksek seyretmekteydi (Şekil 1). NK hücrelerinin rölatif oranları ise iki yaşına kadar azalma göstermekte, daha sonra yaşla birlikte artmaktaydı.

SGH'li olgular ile sağlıklı Türk çocuklarının CD3⁺ T-lenfositlerinin, CD4⁺ T-lenfositlerinin ve NK hücrelerinin rölatif oranları yaş gruplarına göre karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. CD8⁺ T-lenfositlerinin rölatif oranları her üç yaş grubunda sağlıklı kontrollerden yüksek bulundu ($p < 0.05$). CD19⁺ B lenfosit rölatif oranı ise yalnızca grup 2'de sağlıklı kontrollerden düşüktü ($p < 0.05$).

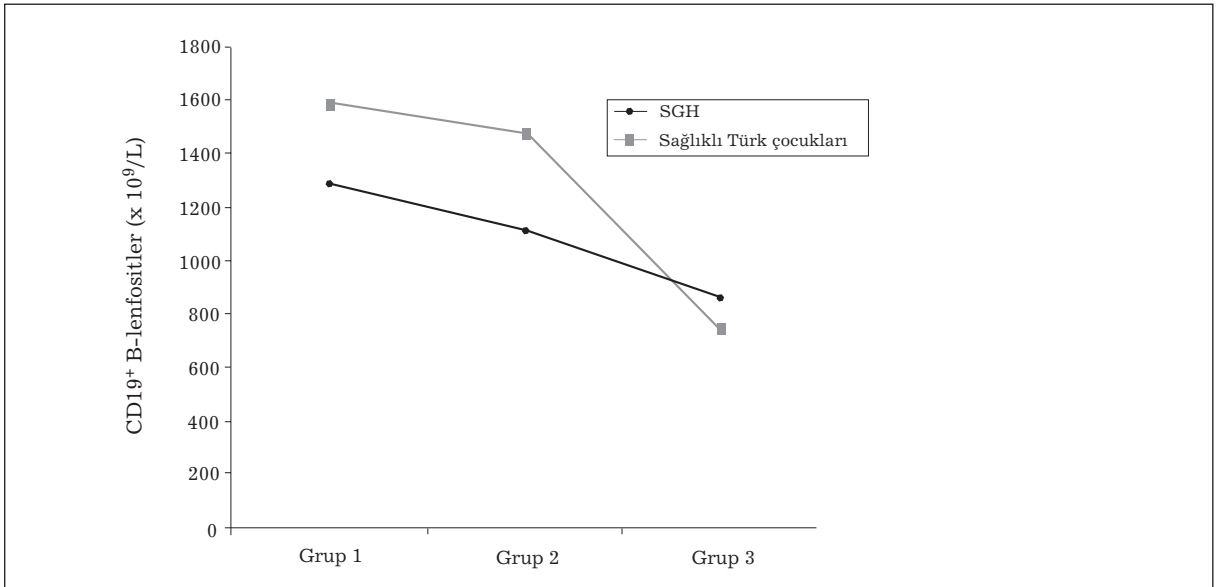
SGH'li olguların mutlak lenfosit sayıları sağlıklı Türk çocukları ile karşılaştırıldığında, grup 3'ün CD3⁺ T-lenfositlerinin mutlak sayısı sağlıklı Türk çocuklarına göre yüksek iken ($p < 0.05$), diğer yaş gruplarında benzerdi. CD4⁺ T-lenfosit mutlak sayısının grup 1'de anlamlı derecede düşük, grup 3'te ise anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p < 0.05$) (Şekil 2). CD8⁺ T-lenfositlerin periferik kandaki mutlak sayıları yalnızca grup 3'te sağlıklı Türk çocuklarından yüksek iken ($p < 0.05$), diğer yaş gruplarında anlamlı bir fark yoktu. Grup 2'nin CD19⁺ B lenfositlerinin mutlak sayısı, sağlıklı Türk çocuklarına göre anlamlı şekilde düşük iken ($p < 0.05$), diğer yaş gruplarında anlamlı fark yoktu (Şekil 3). NK hücrelerinin mutlak sayısı ise



Şekil 1. SGH ve sağlıklı kontrollerde gruplara göre CD8⁺ T-lenfositlerin rölatif oranları.



Şekil 2. SGH ve sağlıklı kontrollerde gruplara göre CD4⁺ T-lenfositlerin mutlak sayıları.



Şekil 3. SGH ve sağlıklı kontrollerde gruplara göre CD19⁺ T-lenfositlerin mutlak sayıları.

grup 1 ve 2'de sağlıklı Türk çocuklarına göre anlamlı derecede düşük iken ($p < 0.01$), grup 3'te anlamlı yüksekti ($p < 0.05$).

TARTIŞMA

Bu çalışma, SGH'li hastaların periferik kan lenfosit alt gruplarının rölatif ve mutlak sayılarının değerleri normal sınırlar içerisinde olmasına rağmen, sağlıklı çocuklarla karşılaştı-

rıldığında yaşla ilişkili olarak bazı farklılıklar olduğunu göstermiştir. Periferik kan lenfositlerinin (PKL) rölatif oranlarının yaşla birlikte değiştiği, özellikle de iki yaşında artarak periferik kanda egemen hücre grubu haline geldiği ve sonrasında giderek azalma göstermekle beraber altı yaşına kadar hakim hücre grubu olarak devam ettiği bildirilmiştir. Altı yaş sonra-

sında ise PKL rölâtif oranı daha belirgin azalma göstermekte ve erişkin tip hücre dağılımının giderek yerleştiği bilinmektedir^[16,17]. Total lenfosit sayısının yaşla birlikte azalarak sağlıklı Türk çocukları ile aynı değişimi göstermesi, SGH'li olguların sağlıklı çocuklar ile benzer bir immün sistem gelişiminin göstergesi, öte yandan lenfosit alt gruplarının rölâtif oran ve mutlak sayıları arasında farklılıklar saptanması ise antikor yapımındaki farklılığın göstergesi şeklinde değerlendirilebilir.

Literatürde SGH'li olgularda CD3⁺ T-lenfositlerin rölâtif oranlarının ve mutlak sayılarının normal olduğu bildirilmiştir^[8,10,12,13]. Kılıç ve arkadaşları immünofenotiplendirme yaptıkları 26 SGH'li hastada, Doğu ve arkadaşları 20 hastada CD3⁺ T-lenfositlerin rölâtif oranlarını ve mutlak sayılarını normal bulmuşlardır^[12,13]. Biz, SGH'li çocukların sağlıklı çocuklar ile benzer şekilde CD3⁺ T-lenfosit oranına ve bu oranın yaşla değişimine sahip olduğunu gördük. Bununla birlikte, iki yaş üzerindeki hasta grubunda CD3⁺ T-lenfositlerin periferik kandaki mutlak sayılarının ortalama değeri sağlıklı Türk çocuklarına göre yüksekti.

SGH'li olgularda CD4⁺ T-lenfositlerin rölâtif ve mutlak sayılarının normal olduğu rapor edilmiştir^[8,13,18]. Kılıç ve arkadaşları CD4⁺ T-lenfositlerin rölâtif ve mutlak sayılarını normal bulduklarını; iki hastada ise CD4/CD8 oranının ters döndüğünü bildirmişlerdir^[12]. Siegel ve arkadaşları ise 17 SGH tanılı hastada CD4⁺ T-lenfositlerin rölâtif oranının kontrol grubuna göre düşük olduğunu raporlamışlardır^[8]. Biz çalışmamızda SGH'li hastalarımız ile sağlıklı Türk çocuklarının CD4⁺ T-lenfositlerinin rölâtif oranları arasında anlamlı fark olmadığını saptadık. Ancak grup 1'de CD4⁺ T-lenfositlerin mutlak sayıları, sağlıklı Türk çocuklarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü. Aksine grup 3'te CD4⁺ T-lenfositlerinin mutlak sayıları sağlıklı Türk çocuklarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. CD4⁺ T-lenfositlerinin mutlak sayılarındaki bu farklılıklar, grup 1'de sağlıklı Türk çocuklarının değerlerine henüz ulaşamadığının göstergesi olabilir.

Literatürde SGH'li olgularda yapılan çalışmalarda, CD19⁺ B lenfositlerin ve CD8⁺ T-lenfositlerin rölâtif oranlarının ve mutlak sayıla-

rının normal olduğu bildirilmiştir (8,10,12,13). Hasta grubumuzda CD8⁺ T-lenfositlerin rölâtif oranlarının sağlıklı çocuklarda olduğu gibi, yaşla birlikte artma gösterdiğini bulduk. Ancak SGH'li olgularımızın CD8⁺ T-lenfositlerinin rölâtif oranları, sağlıklı Türk çocuklarına göre her üç yaş grubunda da anlamlı derecede yüksekti. Öte yandan grup 2'de SGH'li çocukların CD19⁺ B lenfosit oranı ve mutlak sayılarının düşük olduğu saptandı. Bu bulgular, SGH'li hastalarda sitotoksik T-lenfositlerinin, özellikle CD4⁺ T-lenfosit ve CD19⁺ B lenfosit değişikliklerinin ve antikor üretimindeki basıklayıcı fonksiyonunun göstergesi olabilir.

Genel olarak sağlıklı çocuklarda NK hücrelerinin rölâtif oranlarının doğumdan iki yaşına kadar azalma, daha sonra yaşla birlikte artma gösterdiği bildirilmiştir^[19,20]. Sağlıklı Türk çocukları ile karşılaştırıldığında, grup 1'de NK hücrelerinin mutlak sayıları anlamlı derecede düşük iken, grup 3'te ise tersine anlamlı yüksekti. NK hücrelerindeki bu değişim, normal immün sistem gelişiminden hafif bir sapma olarak değerlendirilebilir.

Sonuç olarak, SGH'li olguların tüm yaş gruplarında saptadığımız CD8⁺ T-lenfosit yüksekliği, bu hücrelerin CD4⁺ T-lenfositleri ve B lenfositlerindeki değişiklikler ve antikor üretimindeki yetersizlik ile ilişkili olabilir. Bu bulguların SGH'li olgulardaki hipogamaglobulineminin etyopatogeneze katkıda bulunabileceği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Ochs HD, Stiehm ER, Winkelstein JA. Transient hypogammaglobulinemia of infancy. In: Ochs HD, Stiehm ER, Winkelstein JA (eds). Immunologic Disorders in Infant and Children. 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders Company. 2004;pp 391-3.
2. Primary immunodeficiency diseases. Report of an IUIS Scientific Committee. International Union of Immunological Societies. Clin Exp Immunol 1999;118(Suppl 1):1-28.
3. Tiller TL, Buckley RH. Transient hypogammaglobulinemia of infancy: Review of the literature, clinical and immunologic features of 11 new cases, and long-term follow-up. J Pediatr 1978;92:347.
4. Dressler F, Peter HH, Muller W ve ark. Transient hypogammaglobulinemia of infancy: Five new cases, review of the literature and redefinition. Acta Paediatr Scand 1989;78:767.

5. Walker AM, Kemp AS, Hill DJ ve ark. Features of hypogammaglobulinemia in infants screened for immunological abnormalities. *Arch Dis Child* 1994;70:183.
6. Dalal I, Reid B, Nisbet-Brown E ve ark. The outcome of patients with hypogammaglobulinemia in infancy and early childhood. *J Pediatr* 1998;133:144-6.
7. Yorulmaz A, Artaç H, Keleş S, Reisli İ. Primer İmmün Yetmezlikli Hastalarımızın Değerlendirilmesi. Ulusal İmmünoloji Kongresi. 21-24 Kasım 2007, Antalya.
8. Siegel RL, Issekutz T, Schwaber J ve ark. Deficiency of T helper cells in transient hypogammaglobulinemia of infancy. *N Engl J Med* 1981;305:1307.
9. Rieger CHL, Nelson LA, Peri BA ve ark. Transient hypogammaglobulinemia of infancy. *J Pediatr* 1977;91:601.
10. Kowalczyk D, Mytar B, Zembala M. Cytokine production in transient hypogammaglobulinemia and isolated IgA deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:556.
11. Moschese V, Carsetti R, Graziani S ve ark. For the Italian Primary Immunodeficiency Network. Memory B-cell subsets as a predictive marker of outcome in hypogammaglobulinemia during infancy. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:474-6
12. Kılıç SS, Tezcan I, Sanal Y ve ark. Transient hypogammaglobulinemia of infancy: Clinical and immunological features of 40 new cases. *Pediatr Int* 2000;42:647-50.
13. Doğu F, İkinciöğulları A, Babacan E. Transient hypogammaglobulinemia of infancy and early childhood: Outcome of 30 cases. *Turk J Pediatr* 2004;46:120-4.
14. İkinciöğulları A, Kendirli T, Doğu F ve ark. Peripheral blood lymphocyte subsets in healthy Turkish children. *Turk J Pediatr* 2004;46:125-30.
15. Tezcan I, Berkel AI, Ersoy F, Sanal O. Sağlıklı Türk çocukları ve erişkinlerde turbidimetrik yöntemle bakılan serum immunoglobulin düzeyleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 1996;39:649-56.
16. Comans-Bitter WM, Groot R, Beemd R ve ark. Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. *J Pediatr* 1997;130:388-93.
17. Kabelitz D, Glatzel A, Wesh D. Antigen recognition by human T lymphocytes. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;122:2-7.
18. Dorsey MJ, Orange JS. Impaired specific antibody response and increased B-cell population in transient hypogammaglobulinemia of infancy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006;97:590-5.
19. Lee BW, Yap HK, Chew FT ve ark. Age and sex related changes in lymphocyte subpopulations of healthy Asian subjects: From birth to adulthood. *Cytometry* 1996;26:8-15.
20. Ferreira C, Barthlott T, Garcia S ve ark. Differential survival of naive CD4 and CD8 T cells. *J Immunol* 2000;165:3689-94.