

**T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ
KESİN RAPORU**

**SÜT ÇOCUĞUNUN GEÇİCİ HIPOGAMAGLOBULİNEMİSİ,
PARSİYEL IGA EKSİKLİĞİ VE SELEKTİF IGM EKSİKLİĞİ
TANISI ALAN HASTALARDA B HÜCRE ALT GRUPLARI**

Proje Yürütücüsünün İsmi: Doç. Dr. Figen Doğu

Proje Numarası: 09B3330020

Başlama Tarihi: Ocak 2010

Bitiş Tarihi: Nisan 2011

Rapor Tarihi: Mayıs 2011

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Ankara - " 2011 "

RAPOR FORMATI

Bilgisayarda 12 punto büyüklüğünde karakterler ile, tercihan "Times New Roman" stili kullanılarak yazılacak ve aşağıdaki kesimlerden (alt kesimler de dahildir) oluşacaktır.

I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri

II. Amaç ve Kapsam

III. Materyal ve Yöntem

IV. Analiz ve Bulgular

V. Sonuç ve Öneriler

VI. Kaynaklar

VII. Ekler

- a) Mali Bilanço ve Açıklamaları
- b) Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar (BAP Demirbaş numaraları dahil)
- c) Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar (varsa Kesim III'de yer almayan analiz ayrıntıları)
- d) Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar)
- e) Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler

NOT :Verilen kesin rapor 2 nüsha olarak ciltsiz şekilde verilecek, kesin rapor Komisyon onayından sonra ciltlenerek bir kopyasının yer aldığı CD veya disket ile verilecektir.

I. Projenin Türkçe ve İngilizce adları ve özetleri

SÜT ÇOCUĞUNUN GEÇİCİ HIPOGAMAGLOBULİNEMİSİ, PARSİYEL IGA EKSİKLİĞİ VE SELEKTİF IGM EKSİKLİĞİ TANISI ALAN HASTALARDA B HÜCRE ALT GRUPLARI

Süt çocuğunun geçici hipogamaglobulinemisi (SÇGH), selektif IgA eksikliği gibi bazı primer antikör eksikliklerinin patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır ve bu durum tanıda bazı zorluklara yol açmaktadır. Bu hastalıkların, B hücre reseptör sinyal iletiminde veya B hücre gelişiminde bozukluklara bağlı geliştikleri öne sürülmektedir.

Çalışmamızda, SÇGH, parsiyel IgA eksikliği, selektif IgM eksikliği tanısı alan hastalarda B hücre alt gruplarının akım sitometri yöntemiyle incelenmesi amaçlanmıştır.

Ocak 2010-Nisan 2011 arasında Ankara Üniversitesi, Çocuk İmmunoloji-Allerji Polikliniği'mize sık enfeksiyon nedeniyle başvurup hipogamaglobulinemi tanısı alan 41 SÇGH, 16 parsiyel IgA eksikliği, 16 selektif IgM eksikliği olan hasta ve 29 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. IgG düşüklüğü ile birlikte IgA ve/veya IgM düşüklüğü bulunan ancak spesifik antikör yanıtı normal olan hastalar SÇGH olarak tanımlandı. 4 yaşın üstünde IgA düzeyi 2SD'un altında olan hastalar parsiyel IgA eksikliği, IgM düzeyi 2SD'un altında olan hastalar ise selektif IgM Eksikliği tanısı aldı. Asemptomatik hipogamaglobulinemi ve diğer primer ve sekonder immün yetmezlik hastalıkları dışlandı. Hastaların total nötrofil ve lenfosit sayıları normal sınırlar içindeydi. B lenfosit sayıları ve izohemaglutininin titresi tüm hastalarda normaldi. Hiçbir hastaya intravenöz immünglobulin verilmedi. B hücre alt grupları incelemesi Euroclass sınıflamasına göre yapıldı.

SÇGH grubundaki hastaların yaşı 14 ay-13 yaş (Median:26 ay) arasında değişiyordu. Absolü B hücre sayıları, 'nonswitched' ve 'switched' hafıza B hücrelerinde sağlıklı kontrollere göre anlamlı fark bulunmadı. Deneyimsiz (naive) B hücreler 3 yaş ve 6 yaş altı SÇGH tanılı hastalarda aynı yaş grubundaki sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek, aktive B hücreler ise aynı yaş gruplarından anlamlı olarak daha düşük bulundu.

İzotip dönüşümü gerçekleşmiş (*class-switched* (IgM- CD27+ IgD-) hafıza B

hücreleri sadece selektif IgM eksikliği olan hastalarda daha düşük bulundu. Parsiyel IgA eksikliği olgularında ise B hücre alt grupları arasında sağlıklı kontrollere göre anlamlı fark bulunmadı.

'*Nonswitched*' hafıza hücreleri dışında tüm B hücre alt gruplarının sağlıklı kontrol grubunda yaşın artması ile birlikte giderek azaldığı görüldü.

Daha önceki çalışmalarda izotip değişimi gerçekleşmemiş hafıza hücrelerinin Sık değişken immün yetmezlik (SDİY), SÇGH ve selektif IgA eksikliği tanısı alan hastalarda daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda, hafıza B hücrelerinin düşüklüğü sadece selektif IgM eksikliği olan hastalarda saptanmıştır. Ek olarak deneyimsiz B hücrelerin SÇGH tanısı alan hasta grubunda belirgin olarak yüksek olduğu, aktive B hücrelerin ise anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur. Büyük yaşlardaki hipogamaglobulinemili (sınıflandırılmayan hipogamaglobulinemi) hastalarda ise deneyimsiz B hücre yüksekliği ve aktive B hücre düşüklüğü saptanmamıştır. Bu nedenle SÇGH patogeneğinde B hücrelerin olgunlaşmasında ve hafıza hücrelere dönüşümünde bir sorun olduğu, parsiyel IgA eksikliğinde ise mekanizmanın diğer primer humoral immün yetmezliklerden farklı olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Süt çocuğunun geçici hipogamaglobulinemisi, IgA eksikliği, IgM eksikliği, Hafıza B hücreleri

B Cell Subsets in patients with transient hypogammaglobulinemia of infancy, partial IgA deficiency and selective IgM deficiency

The pathogenesis of some primary humoral immunodeficiencies such as transient hypogammaglobulinemia of infancy (THI), IgA deficiency remains unknown and causes diagnostic difficulties. They may result from multiple mechanisms including defects in B cell receptor signaling and B cell development.

In the present study, we aimed to analyse B cell subsets in patients with transient hypogammaglobulinemia of infancy (THI), partial IgA deficiency and selective IgM deficiency by flow cytometry.

Between January 2010 and April 2011, we analyzed 41 patients with transient hypogammaglobulinemia of infancy, 18 with partial IgA deficiency, 16 with selective IgM deficiency and 29 healthy control from all age groups admitted to Ankara University Department of Pediatric Immunology-Allergy. The patients who have low IgG levels with or without low IgA and IgM levels were defined as THI. Asymptomatic hypogammaglobulinemia and the other primary and secondary immunodeficiencies were excluded. Absolute neutrophil and lymphocyte counts were in normal range in all patients. B lymphocyte counts, isohemagglutinin titer of the patients were normal and none of them was received intravenous immunoglobulin. B cell subsets were examined according to Euroclass classification.

In transient hypogammaglobulinemia group, age at diagnosis were ranged between 14 month- 13 year (Med: 26 months). Absolute B cell counts, nonswitched and switched memory cells did not differ from the healthy controls. Naive B cells were found to be significantly higher and activated B cells were found to be lower in below 3 and below 6 years of age in THI group when compared to healthy age-matched controls.

Class-switched (IgM- CD27+ IgD-) memory B cells were found to be reduced in patients with the diagnosis of selective IgM deficiency, this difference was significant. In partial IgA deficiency, there was no significant difference in the B cell subsets. It was found that B cell counts as well as the other B cell subsets except nonswitched were reducing with the age.

In previous studies, it has been reported that reduction of class-switched memory B cells was related to CVID, THI and selective IgA deficiency. Our findings supported these reports only in patients with selective IgM deficiency. Furthermore, we showed that naive B cells were higher in the patients with transient hypogammaglobulinemia. It was suggested us that a maturation defect may play a role in the pathogenesis of transient hypogammaglobulinemia. In partial IgA deficiency patients, the mechanism was thought different from the other primer humoral immunodeficiency diseases.

Key Words: Transient hypogammaglobulinemia of infancy, IgA deficiency, IgM

deficiency, memory B cell

II. AMAÇ ve KAPSAM

Hipogamaglobulinemi bir veya daha fazla immünglobulin düzeyinin yaşa göre 2 standart sapmanın altında olması olarak tanımlanır. Konjenital, kazanılmış veya fizyolojik olabilir. Fizyolojik hipogamaglobulinemi, 3-6 ay arasındaki çocuklarda görülür. Hipogamaglobulinemi durumunun 6 aydan sonra devam etmesi ise süt çocuğunun geçici hipogamaglobulinemisi (SÇGH) olarak tanımlanır (1,2). Tanı kriterleri; 1) En az iki örnekte en az bir immünglobulin düzeyinin yaşa göre 2SD'dan düşük olması, 2) Aşıya karşı spesifik antikor yanıtının ve izohemaglutinin yanıtının normal olması, 3) Hücrel immün yanıtın normal olması, 4) Diğer immün yetmezlik hastalıklarının klinik ve laboratuvar özelliklerinin olmaması olarak belirlenmiştir. Patogenezi çok net anlaşılacak şekilde birlikte, immünglobulin üretiminin olgunlaşmasında gecikme olduğu düşünülmektedir (2,3). SÇGH, erken çocukluk çağından sonra düzelmeye eğilimi gösterir. SÇGH'nin, bazı hastalarda süt çocukluğu dönemi dışında da devam ettiği gözlenmektedir. Bu nedenle terminolojinin değiştirilerek bu tablonun erken çocukluk çağı hipogamaglobulinemisi olarak adlandırılması önerilmektedir (4). Bu hastalarda hipogamaglobulinemi durumu daha ileri yaşta düzeleceği gibi kalıcı da seyredebilir. Bu nedenle geçici hipogamaglobulinemi (GH) tanısı ancak hastanın takibinde hipogamaglobulineminin düzelmesi ile konulabilir.

IgA eksikliği en sık görülen primer immün yetmezlik hastalığıdır. Selektif IgA eksikliği, 4 yaşın üstündeki çocukta IgA düzeyinin 7 mg/dl'nin altında olması iken, parsiyel IgA eksikliği, hastalarda IgA düzeyinin yaşa göre 2SD'un altında olması olarak tanımlanır. Parsiyel IgA eksikliğinin yaşın artması ile birlikte düzelebileceği gösterilmiştir (1,5).

IgM eksikliği ise, IgM düzeyinin yaşa göre 2SD'un altında olması ile tanımlanan bir primer antikor eksikliğidir. Literatürde az sayıda selektif IgM eksikliği vakası yayınlanmış olması nedeniyle selektif IgM eksikliğinin prognozu hakkında yeterince bilgi yoktur.

Son yıllarda beklenen yaşta hipogamaglobulinemileri düzelmeyen ve diğer primer immün yetmezlik tanı kriterlerini karşılamayan hastaların ‘sınıflandırılmayan hipogamaglobulinemi’ olarak tanımlandığı bazı çalışmalar da bildirilmiştir (5). Ancak beklenen zamanda hipogamaglobulinemisi düzelmeyen hastaların klinikleri genellikle daha hafif bir şekilde seyretmektedir (2-4). Literatürde bazı hastalarda hipogamaglobulineminin daha uzun sürmesinin nedeni ile ilgili az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalarda daha önce sadece antikor eksikliği ile giden bir primer immün yetmezlik olan sık görülen değişken immün yetmezlikli (SDİY) hasta grubunda çalışılan B hücre alt grupları SÇGH’si olan hastalarda ölçülmüş ve bu grup primer immün yetmezliklerde, SDİY ile aynı şekilde ‘switched memory’ B hücre alt grubunun azaldığı ve bu durumun hipogamaglobulineminin kalıcı olması ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (6-10). Parsiyel IgA ve selektif IgM eksikliği olan hastalarda ise daha önce benzer bir çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmada parsiyel IgA eksikliği, IgM eksikliği ve süt çocuğunun geçici hipogamaglobulinemisi tanısı alan hastalarda, periferik kanda IgD, CD19, CD27, CD38, CD21, IgM yüzey belirteçleri kullanılarak B hücre alt grupları düzeyleri belirlenmesi ve elde edilen sonuçların sağlıklı kontrollerle ve birbirleriyle karşılaştırılarak patogenezdeki rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.

III. Materyal ve Yöntem

1. Çalışma grubunun seçimi

Çalışmaya Pediatrik İmmunoloji-Allerji Bilim Dalı Polikliniği’nde uluslararası rehberlerde belirlenen kriterlere göre SÇGH, parsiyel IgA Eksikliği ve selektif IgM Eksikliği tanısı alan 1-16 yaş arasında 73 hasta alındı:

SÇGH grubu 41 hasta,

IgA eksikliği grubu 16 hasta,

IgM eksikliği grubu 16 hasta,

Sağlıklı kontrol grubu ise 29 çocuktan oluşturuldu.

Pediatrik İmmunoloji-Allerji Bilim Dalı Polikliniği’ne başvuran hipogamaglobulinemi tanısı alan olgular ve sağlıklı gönüllüler ebeveyn onayı alındıktan sonra çalışmaya dahil edildi.

ARAŞTIRMAYA DAHİL OLMA KRİTERLERİ

Hasta gönüllüler için ;

Pediyatrik İmmunoloji-Allerji Bilim Dalı Polikliniği'nde uluslararası rehberlerde belirlenen kriterlere göre SÇGH, parsiyel IgA Eksikliği ve IgM Eksikliği tanısı almış olma (≤ 16 yaş)

ARAŞTIRMAYA DAHİL OLMAMA KRİTERLERİ

Hasta gönüllüler için:

Başka bir nedene (ilaç, enfeksiyon) ikincil hipogamaglobulinemi saptanması,

Sağlıklı gönüllüler için:

Çalışmaya alındıkları sırada sağlıklıların enfeksiyon geçirmiyor olması ve bilinen başka bir kronik hastalığının olmaması

2. Örneklerin toplanması

Olgulardan EDTA'lı tüpe 3'er ml venöz kan örneği alındı. EDTA'lı tüplere alınan kanlar bekletilmeden Ana Bilim Dalımız İmmunoloji-Allerji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda akım sitometri cihazıyla direkt immünofloresan yöntemi ve 4 renk boyama yöntemi uygulanarak değerlendirildi.

3. Yöntem

Çalışma için 12x75 mm polisteren tüplere 100 μ l olacak şekilde alınan periferik kan örneklerine monoklonal antikolar eklenip oda ısısı ve karanlıkta 15 dakika inkübasyona bırakılarak lenfositlerde yüzey boyaması yapıldı. İnkübasyonun ardından eritrosit uzaklaştırma işlemi için hücreler otomatik TQ-Prepistasyonuna (BeckmanCoulter, Miami FL) alındı. Süspansiyon haline getirilen örnekler akım sitometri cihazında (Cytomics FC500 FlowCytometer, BeckmanCoulter Corp, Miami FL, USA) analiz edildi.

Analizler 488 nm Argon- İyon lazer eksitasyon kaynağı ile; yana saçılım (SS), 90 derece ile saçılım (FS) ve FL1, FL2, FL4 ve FL5 detektörleri, işlemler ise CXP Software version 2.2 programı kullanılarak yapıldı. FS'e karşı SS detektörlerinin kullanımı ile hücreler büyüklük ve granül içeriklerine göre bilgisayar ortamına yansıtılıp lenfositler diğer periferik kan hücrelerinden karakteristik görünüm ve yerleşim yerleri esas alınarak ayrıldı. Bu lenfosit kapısı içinde CD19+ hücreler seçilerek B hücre alt tipleri belirlendi.

Ayrıca her hastadan toplam lenfosit sayılarını belirlemek amacıyla tam kan sayımı alındı ve hücrel immün yetmezliğin ekarte edilmesi için periferik kan lenfosit alt grupları rutin olarak değerlendirildi.

Sağlıklı gönüllüler semptomatik hipogamaglobulinemiye dışlamak amacıyla serum immün globulin düzeyleri bakılarak normal olduğu görüldükten sonra çalışmaya dahil edildi.

Hücreler IgM PC5 (BeckmanCoulter, Marseille, France, Clone UHB), IgD PE (BD Pharmingen, Clone IA6-2), CD27 FITC ((BD Pharmingen, Clone M-T271), CD19 PC7 (BeckmanCoulter, Marseille, France, Clone J4.119), CD38 FITC (BeckmanCoulter, Marseille, France, Clone, T16), CD21 PE (BeckmanCoulter, Marseille, France, Clone, BL13) monoklonal antikorları kullanılarak boyandı.

Euroclass sınıflamasına göre B hücre alt grupları aşağıdaki şekilde sınıflandırıldı:

Deneyimsiz (*Naive*) B hücreler: CD19+CD27-IgD+

Aktive B hücre: CD21low CD38lowCD27+

Nonswitched hafıza (Marjinal alan) B hücre: IgM+ CD27+ IgD+

Switched hafıza B hücre: CD19+ CD27+ IgD-

Transizyonel B hücre: CD38high IgMhigh

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya ABD Laboratuvarı'nda nefelometrik yöntemle çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar Türk çocuklarında yaşa göre normal değerlerle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (76).

İstatistiksel değerlendirme;

İstatistiksel değerlendirmeler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İstatistik Ana Bilim Dalı'nda SPSS 15.0 programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında, dağılımın normal olması durumunda ortalama değerleri ve Oneway Anova, normal dağılım olmadığında ise medyan değerler ve Kruskal-Wallis analiz yöntemleri kullanıldı. P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. Analiz ve Bulgular

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Pediatrik İmmünoloji-Allerji Bilim Dalı Polikliniği'ne sık enfeksiyon nedeniyle başvuran hastalar immünolojik olarak değerlendirildi ve gerekli kriterleri sağlayan hastalar çalışma için seçildi. SÇGH tanılı 41 hasta, parsiyel IgA eksikliği tanılı 16 hasta ve selektif IgM eksikliği tanılı 16 hasta ile birlikte 29 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi.

Hastaların tanılara göre cinsiyet dağılımı Tablo 1'de görülmektedir. Hastalar tanılara göre cinsiyet dağılımı açısından değerlendirildiğinde anlamlı fark bulunmadı ($p=0.667$).

Tablo 1. Tanılara göre hastaların ve sağlıklı kontrollerin cinsiyet dağılımı

Tanı, (n)	Cinsiyet, n(%)	
	<u>Kız</u>	<u>Erkek</u>
SÇGH, (41)	16 (39)	25 (61)
Parsiyel IgA Eksikliği, (16)	6 (38)	10(62)
Ig M Eksikliği, (16)	6 (38)	10 (62)
Sağlıklı, (29)	12 (41)	17 (59)
Toplam	40 (37.5)	62 (62.5)

Çalışmaya dahil edilen her hasta grubundaki hastaların bir kısmı çalışmadan önce de takipte olan hastalar olduklarından tanı yaşı ve inceleme yapıldığı andaki yaşları ayrı ayrı değerlendirildi (Tablo 2). Tanı yaşı ve tetkik yaşı gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel fark bulunmadı ($p=0.371$ ve $p=0.162$)

Tablo 2. Tanılara göre hastaların tanı yaşı ve çalışma sırasındaki yaşı ortancası ve dağılımı

Tanı		Tanı Yaşı (yıl)	Çalışma Sırasındaki Yaşı (yıl)
SÇGH	Median (yıl)	2.1	3.5
	(Min-Max)	(1.2-13)	(1.5-16)
Parsiyel IgA Eksikliği	Median (yıl)	4,5	6.2
	(Min-Max)	(1.4-11)	(4-16)
Ig M Eksikliği	Median (yıl)	4,2	5.75
	(Min-Max)	(0.5-11)	(1.1-13)
Sağlıklı	Median (yıl) (Min-Max)		4 (1.5-16)

Hastaların ve sağlıklı kontrol grubunun başvuru yaşı, tanı yaşları, toplam nötrofil ve lenfosit sayıları ve serum immunglobulin düzeyleri ortalamaları Tablo 3’de görülmektedir. Ancak her hasta kendi yaş grubu normalleri ile karşılaştırıldığından ortalamaları karşılaştırmak için istatistiksel analiz yapılmamıştır.

Tablo 3. Tanılara göre hastaların temel immünolojik tetkikleri

	SÇGH (n=41)	Parsiyel IgA Eksikliği (n=16)	Ig M Eksikliği (n=16)	Sağlıklı Kontrol (n=29)
TNS (Ort±SD)	3986±2232	4346±2635	4453±2219	3471±1487
TLS (Ort±SD)	3494±1335	3160±1032	3720±1728	3321±1213
IgG (Ort±SD)	559±103,58	1025±253,04	876±179,10	960±197,39
IgA (Ort±SD)	52±31,51	30±12,52	84±41,74	112±57,03
IgM (Ort±SD)	82±34,13	94±24,50	49±12,04	122±46,09

Tablo 4’de her tanı grubunda B hücre alt gruplarının ortalama±SD veya median (minimum-maksimum) değerleri verilmiştir. ‘Switched’ hafıza hücreleri, transizyonel B hücreler ve CD19+ B hücrelerin ortalama ve median değerleri sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında tanı grupları arasında anlamlı fark bulunmazken, ‘non-switched’ hafıza B hücrelerinin IgM eksikliği olan hastalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak düşük olduğu görüldü (p=0.028).

Deneyimsiz (naive) B hücreler ise SÇGH ve IgM eksikliği olan hasta grubunda sağlıklı kontrollere göre belirgin olarak yüksek bulundu ($p=0.001$ ve $p=0.021$). Aktive B hücreler, sağlıklı gönüllülerle karşılaştırıldığında SÇGH grubunda düşük bulundu, bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.009$).

SÇGH tanısı ile çalışmaya alınan ancak beklenen yaşta düzelme göstermeyen hastaların 'sınıflandırılmayan hipogamaglobulinemi' olabileceği düşünüldü. Bu nedenle SÇGH grubunu oluşturan hastalar, SÇGH tanılı hastaların beklenen düzelme yaşına göre (3 yaş) 2 gruba ayrılarak B hücre alt grupları analizi tekrar yapıldı. 3 yaş altı hasta grubunda, 3 yaş altı kontrol grubuna ve 3 yaş üstü SÇGH grubuna göre deneyimsiz B hücrelerin anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p=0.001$ ve $p=0.001$). 'Switched', 'nonswitched' ve transizyonel B hücrelerde fark bulunmazken, aktive B hücreler, ≤ 3 yaş SÇGH tanılı hastalarda, hem ≤ 3 yaş sağlıklı kontrollerden ($p=0.001$) hem de >3 yaş üstü SÇGH tanılı hastalarda ($p=0.014$) daha düşük bulundu, bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo 5).

Daha önce yaptığımız bir çalışmada (4) bazı hastalarda SÇGH durumunun 6 yaşa kadar devam edebileceği ve daha sonra düzelme gösterebileceğini saptamamızdan dolayı SÇGH tanısı olan hastalar ve sağlıklı kontroller 6 yaş altı ve üstü 2 gruba ayrıldı. Deneyimsiz B hücrelerin, ≤ 6 yaş altındaki SÇGH tanısı alan hastalarda hem her iki sağlıklı kontrol grubundan hem de >6 yaş SÇGH grubundan anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (Tablo 6). Aktive B hücreler ise 6 yaş altı SÇGH tanısı olan hastalarda, 6 yaş altı sağlıklı kontrollere göre belirgin olarak düşüktü, bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p=0.005$). *Nonswitched*, *switched* ve transizyonel B hücre gruplarında sağlıklı kontroller ile istatistiksel anlamlı fark yoktu. CD19 B hücrelerin sağlıklı kontrollerde >6 yaş üstü grupta ≤ 6 yaşa göre azaldığı görüldü, fark anlamlı idi ($p=0.003$).

TANI	SÇGH (n=41)	Parsiyel IgA Eksikliği (n=16)	Selektif IgM Eksikliği (n=16)	Sağlıklı Kontrol (n=41)
CD19				
(Ort±SD)	13.9±5.8	14.3±4.7	15.6±4.7	14.4±5.2
Median	13	13.6	14.6	14.8
Naive-CD19+CD27-IgD+				
(Ort±SD)	80.4±8.1	78.7±6.4	79.8±8.8	74.1±7.6
Median	81.9	79.5	79.6	72.1
Nonswitched IgM+CD27+ IgD+				
(Ort±SD)	7.5±2.7	8.2±3.1	5.7±2.1	8.2±2.1
Median	6.5	7.8	4.5	7.6
Switched CD19+CD27+ IgD-				
(Ort±SD)	43.4±16.4	37±10.9	34.8±16.7	42.8±12.9
Median	43	40	36.9	41.4
Aktive-CD21lowCD38lowCD27+				
(Ort±SD)	5±1.8	5.9±3.1	5.3±2.2	6.8±3.6
Median	4.4	5	5.5	5.9
Transizyonel CD38high IgMhigh				
(Ort±SD)	8.1±3.7	7.1±3.1	7.2±2.9	7.7±3.3
Median	7.5	5.7	6.8	7.4

P=0.028

Tablo 4. Tanılara göre hastaların B hücre alt grupları ortalama ve median değerleri

Tablo 5. SÇGH ve sağlıklı kontrollerin 3 yaş altı ve 3 yaş üstü B hücre alt gruplarının ayrı ayrı karşılaştırılması

TANI	<u>SÇGH Grubu</u>		<u>Sağlıklı Kontrol</u>	
	≤ 3 yaş (n=18)	>3 yaş (n=23)	≤ 3 yaş (n=9)	>3 yaş (n=20)
CD19 (Ort±SD)	16.1±6	13.3±5.2	16.7±3.5	13.3±5.6
Naive-CD19+CD27-IgD+ (Ort±SD)	86.1±3.2	76±8	75.3±8.4	73,6 7,3
Nonswitched IgM+CD27+ IgD+ (Ort±SD)	7.5±2.7	8.2±2.7	9.0 ±2.0	7.9±2.2
Switched CD19+CD27+ IgD- (Ort±SD)	40.3±15.4	45±17	45.2±16.4	41.7±11.4
Aktive- CD21lowCD38lowCD27+ (Ort±SD)	4.1±1.6	5.7±1.7	7.6±5.6	6.4±2.3
Transizyonel CD38high IgMhigh (Ort±SD)	8.4±5	7.9±2.4	8.3±2.8	7.4±3.5

P=0.031

P=0.001

P=0.001

P=0.014

P=0.001

Tablo 6. SÇGH ve sağlıklı kontrollerin 6 yaş altı ve 6 yaş üstü B hücre alt gruplarının ayrı ayrı karşılaştırılması

TANI	<u>GH</u>		<u>Sağlıklı Kontrol</u>	
	≤ 6 yaş (n=32)	>6 yaş (n=9)	≤ 6 yaş (n=19)	>6 yaş (n=10)
CD19 (Ort±SD)	14.4±6.2	12.4±3.8	16.4±4.8	10.74±3.8
	P=0.004		P=0.003	
Naive-CD19+CD27-IgD+ (Ort±SD)	81.8±7.7	75.8±8.1	76±7.7	69.1±4.2
	P=0.016		P=0.013	
Nonswitched IgM+CD27+ IgD+ (Ort±SD)	7.4±2.6	8.2±3	8.2±2.1	8.7±2
Switched CD19+CD27+ IgD- (Ort±SD)	43.3±17.1	43.9±10.9	44.2±11.5	40.7±16.3
Aktive-CD21lowCD38lowCD27+ (Ort±SD)	4.9±1.9	5.4±1.7	7±3.9	6.4±3.1
	P=0.005			
Transizyonel CD38high IgMhigh (Ort±SD)	8.2±4	7.7±2.5	8±3.3	6.7±3.3

IgA eksikliğinin tanı kriterlerinde hastaların 4 yaş üstünde olma şartı olduğundan, parsiyel IgA eksikliği olan grubaçalışma sırasında 4 yaş ve üzeri hastalar dahil edildi. 16 parsiyel IgA eksikliği tanısı alan hastanın B hücre alt grupları, 4 yaş üzeri sağlıklı kontrollere göre istatistiksel açıdan farklı bulunmadı.

Kontrol grubu, yaş grubuna göre normal değerlerin oluşturulması açısından 3 gruba ayrıldı ve her hücre grubunun normal değerleri belirlendi. ≤ 3 yaş, 3-7 yaş ve >7 yaş grupları arasında hiş bir hücre grubunda istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Yaşa göre ortalama ve alt-üst sınır değerleri Tablo 6'da verildi. *Nonswitched* hücreler dışında tüm hücre gruplarında anlamlı fark olmasa da yaşla birlikte azalma eğilimi olduğu görüldü.

Tablo 6. Sağlıklı kontrollerin B hücre alt gruplarının yaşa göre normal değerleri

	<u>≤ 3 yaş</u> (n=9) Ortalama (Alt sınır-Üst Sınır)	<u>3-7 yaş</u> (n=10) Ortalama (Alt sınır-Üst Sınır)	<u>>7 yaş</u> (n=10) Ortalama (Alt sınır-Üst Sınır)
CD19+ B hücre	16.7 (12-23.9)	13.6 (5.7-30.2)	12.7 (7.7-16.4)
Deneyimsiz B hücre	75.3 (59.8-85.8)	75.5 (67-89.1)	69.2 (62.2-76.2)
Non-switched B hücre	8.7 (7.4-14.1)	7.2 (5.2-11.1)	8.6 (5.1-11.8)
Switched B hücre	45.2 (15.4-73)	45.9 (33.6-65.2)	31.9 (12.9-45)
Aktive B hücre	7.6 (4.2-21.8)	7.1 (3.7-13.2)	4.8 (3.2-5.9)
Transizyonel B hücre	8.3 (2.6-12.8)	8.0 (5.4-18.2)	5.9 (2.8-10.2)

V. Sonuç ve Öneriler

- SÇGH grubunda, sağlıklı kontrollere göre, *Naive* B hücrelerinde yükselme ve Aktive B hücrelerinde azalma bulundu.
- Selektif IgM eksikliği olan hastaların *nonswitched* hafıza B hücrelerinde diğer gruplarda saptanmayan düşüklük saptandı.
- *Nonswitched* B hücreler hariç tüm B hücre alt gruplarında yaş arttıkça azalma olduğu görüldü.

Bu çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular, *Naive* B hücrelerin artmasından dolayı SÇGH patogenezinde B hücrelerin olgunlaşmasında gecikme olduğunu ve B hücrelerin aktive hücrelere dönüşemediğini, benzer şekilde Selektif IgM eksikliğinde izotip dönüşümü yapmamış (*nonswitched*) B hücrelerin düşük olmasından dolayı IgM düzeyinin düşük olduğunu düşündürmektedir.

Hipogamaglobulinemisi saptanan hastaların düzenli olarak takip edilmelidir. SÇGH patogenezinde immün sistemin olgunlaşmasında bir bozukluk olduğu düşünülebilir. İmmün sistemin yaşın büyümesi ile olgunlaşması sonucu hipogamaglobulinemi durumu düzelebilir.

VI. Kaynaklar

1. Conley ME, Notarengelo LD, Etzioni. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies: representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clin Immunol.* 1999;93:190-197.
2. Kidon MI, Handzel ZT, Schwartz R, Altboum I, Stein M, Zan-Bar I. Symptomatic hypogammaglobulinemia in infancy and childhood-clinical outcome and in vitro immune responses. *BMC Family Practice.* 2004;5: 23-30.
3. Kowalczyk D, Mytar B, Zembala M. Cytokine production in transient hypogammaglobulinemia and isolated IgA deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;100:556-562.
4. Dogu F, Ikinciogullari A, Babacan E. Transient hypogammaglobulinemia of infancy and early childhood: outcome of 30 cases. *Turk J Ped.* 2004;46(2):120-124.
5. Keles S, Artac H, Kara R, Gokturk B, Ozen A, Reisli I. Transient hypogammaglobulinemia and unclassified hypogammaglobulinemia: Similarities and differences. *Ped Allergy Immunol.* 2010;21:843-851.
6. Moschese V, Carsetti R, Graziani S, Chini L, Soresina AR, La Rocca M, Bossi G, Di Cesare S, Plebani A. Memory B-cell subsets as a predictive marker of outcome in hypogammaglobulinemia during infancy. *J Allergy Clin Immunol.* 2007:474-476.
7. Wehr C, Kivioja T, Schmitt C, Ferry B, Witte T, Eren E, Vlkova M, Hernandez M, Detkova D, Bos PR, Poerksen G, von Bernuth H, Baumann U, Goldacker S, Gutenberger S, Schlesier M, Bergeron-van der Cruyssen F, Le Garff M, Debre P, Jacobs R, Jones J, Bateman E, Litzman J, van Hagen PM, Plebani A, Schmidt RE, Thon V, Quinti I, Espanol T, Webster AD, Chapel H, Vihinen M, Oksenhendler E, Peter HH, Warnatz K. Blood. The EUROclass Trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency. 2008;111: 77-85.
8. Kruetzman S, Rosado MM, Weber H, Germing U. Human immunoglobulin M memory B cells controlling *Streptococcus Pneumonia* infections are generated in the spleen. *J Exp Med.* 2003;197:939-945.

9. Huck K, Feyen O, Ghosh S, Beltz K, Bellert S, Niehues T. Memory B-cells in healthy and antibody-deficient children. *Clin Immunol.* 2009;131:50-59.
10. Bukowska-Strakova K, Kowalczyk D, Baran J, Siedlar M, Kobylarz K, Zembala M. The B-cell compartment in the peripheral blood of children with different types of primary humoral immunodeficiency. *Pediatr Res.* 2009; 66: 28-34.
11. Belgemen T, Suskan E, Dogu F, Ikinciogullari A. Selective Immunoglobulin M deficiency presenting with recurrent impetigo: A case report and review of the literature. *Int Arch Allergy Immunol.* 2009;149:283-288.
12. Piqueras B, Lavenu-Bombled C, Galicier L, Bergeron-van der CF, Mouthon L, Chevret S, Debre P, Schmitt C, Oksenhendler E. Common variable immunodeficiency patient classification based on impaired B cell memory differentiation correlates with clinical aspects. *J Clin Immunol.* 2003;23:385-400.
13. Warnatz K, Denz A, Drager R, Braun M, Groth C, Wolff-Vorbeck G, Eibel H, Schlesier M, Peter HH. Severe deficiency of switched memory B cells (CD27(+)IgM(-)IgD(-)) in subgroups of patients with common variable immunodeficiency: a new approach to classify a heterogeneous disease. *Blood.* 2002;99:1544-1551.
14. Vodjgani M, Aghamohammadi A, Samadi M, Moin M, Hadjati J, Mirahmadian M, Parvaneh N, Salavati A, Abdollahzade S, Rezaei N, Srrafnejad A. Analysis of Class-Switched Memory B cells in patients with Common Variable Immunodeficiency and Its Clinical Implications. *J Investing Allergol Clin Immunol.* 2007;17(5):321-328.
15. Morbach H, Eichhorn EM, Liese JG, Girschick HJ. Reference values for B cell subpopulations from infancy to adulthood. *Clin Exp Immunol.* 2010; 262:271-279.
16. Sanz I, Chungwen W, Lee FE-H, Anolik J. Phenotypic and functional heterogeneity of human memory B cells. *Sem Immunol.* 2008;20:67-82.
17. Yong PL, Orange JS, Sullivan KE. Pediatric common variable immunodeficiency: immunologic and phenotypic associations with switched memory B cells. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010. Epub ahead of print.

VII. Ekler

a) Mali bilanço ve açıklamaları

Tüketim mal ve malzemeleri

CD19 Moab	580 TL
CD27 MoAb.....	950 TL
CD38 MoAb.....	420 TL
IgD MoAb.....	1.095 TL
IgM MoAb.....	1.270 TL
CD 21 MoAb.....	2.300 TL
Toplam	7805 TL

CARİ HARCAMALAR TOPLAMI 7805 TL

b) Makine ve teçhizatın konumu ve ilerideki kullanımına dair açıklamalar: Yoktur.

c) Teknik ve bilimsel ayrıntılar: yok

d) Sunumlar:

Bu çalışma European Academy Of Allergy And Clinical Immunology, 2011 Kongresine (11-15 Haziran 2011, İstanbul) bildiri özeti olarak gönderilmiş, poster olarak sunulmuştur.