

CD19 molekül eksikliği: Bir köy taraması

CD19 deficiency: A village screening study

Ismail Reisli, Hasibe Artaç, Sevgi Pekcan*, Reyhan Kara, Kadir Yümlü**,
Cüneyt Karagöl**, Ömer Çimen**, Metin Şen**, Mehmet Artaç***

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Konya

*Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Göğüs Hastalıkları Bilim Dalı, Konya

**Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya

***Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Konya, Türkiye

Özet

Amaç: CD19 eksikliğinin ilk kez tanımlandığı bir olgunun köyünde yaşayan ve akrabası olan bir olguda daha CD19 eksikliği tanımlandı. Bu olgular, bu köyde yaşayan başka olguların ve taşıyıcıların da olabileceğini düşündürdü. Bu amaçla köy halkı immün yetersizlik düşündürülen klinik bulgular ve CD19 molekül eksikliği yönünden değerlendirildi.

Gereç ve Yöntem: CD19 eksikliği olgularının akrabaları ve kontrol grubu, anket formları ile birincil immün yetersizlik hastalıklarının klinik belirtileri için sorgulandı. Olgulardan alınan kan örneklerinde, CD19 ve CD21 molekül varlığı akış sitometri ile incelendi.

Bulgular: Toplam 59 aileden 129 çocuk (9,5±3,7 yıl) ve 79 yetişkin (37±13 yıl) olmak üzere 208 olgu (126 kadın, 82 erkek) değerlendirildi. Yeni bir CD19 eksikliği olgusu saptanmadı. Anket formları ile 67 olguda (57 çocuk, 10 yetişkin) en az bir uyarıcı immün yetersizlik bulgusu vardı. CD19 medyan ekspresyon değeri (MFI) 20 olguda, CD19 yönünden heterozigot taşıyıcı olan bireylerden elde edilen 60 MFI değerinin altındaydı.

Çıkarımlar: Bulgularımız CD19 eksikliği heterozigot "taşıyıcılığı" açısından, CD19 taşıyan B lenfosit oranının değil, CD19 medyan ekspresyon düşüklüğünün yol gösterici olduğunu düşündürmüştür. CD19 medyan ekspresyon değerine göre taşıyıcı oldukları belirlenen bu olguların, mutasyon tetkiklerinin yapılarak taşıyıcı olduklarının doğrulanması planlanmıştır. (*Türk Ped Arş 2009; 44: 127-30*)

Anahtar kelimeler: CD19 medyan ekspresyonu, CD19 molekül eksikliği, köy taraması

Summary

Aim: We identified a new CD19 deficient case who was a relative of the first CD19 deficient patient and lived in the same village. These cases suggested that other patients with CD19 deficiency or carriers could be found in this village. The aim of this study was to assess the warning signs of primary immunodeficiency and the CD19 molecule deficiency in this population.

Material and Method: The relatives of CD19 deficient patients and controls were examined for the warning signs of primary immunodeficiency using a questionnaire form. Blood samples were taken from these subjects. CD19 and CD21 expressions (median fluorescent intensity, MFI) were analyzed by flowcytometry in these samples.

Results: A total of 208 subjects (59 families, 126 females, 82 males) including 129 children 9.5±3.7 years and 79 adults (37±13 years) were evaluated. A new case with CD19 deficiency was not detected. There was at least one warning sign for immunodeficiency in 67 subjects (57 children and 10 adults). CD19 median expression value was lower than 60 MFI value in 20 subjects, which was known as in the carriers who were detected to have heterozygous mutation.

Conclusions: Our findings suggested that CD19 median expression might be a diagnostic tool for the subjects who have CD19 heterozygous mutations. Mutation analyses are planned for the confirmation of CD19 heterozygous mutation in these subjects who have low CD19 median expression. (*Turk Arch Ped 2009; 44: 127-30*)

Key words: A village screening, CD19 deficiency, CD19 median expression

Giriş

Son yıllarda birincil immün yetersizliklere (BİY) neden olan yeni mutasyonlar tanımlanmıştır. Bu mutasyonlardan sadece B lenfositlerin gelişim basamaklarını etkileyen ve kemik iliğindeki öncül B lenfositlerinin olgunlaşmasında blok ile sonlananlar, pe-

riferik kanda B hücre yokluğu ve agammaglobulinemi ile belirgin BİY'e neden olmaktadır (1). Bu hastaların büyük kısmında (%85) Bruton tirozin kinaz (BTK) geninde mutasyon saptanmakta ve bu durum erkek olgularda görülen Bruton hastalığına yol açmaktadır. Geri kalan %15 olguda ise "B-cell linker protein" (BLNK), immünglobülin ağır ve hafif zincir genlerinde mutasyon-

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Hasibe Artaç, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Beyşehir Yolu, 42080, Konya, Türkiye Tel.: +90 332 223 73 05-7086 Faks: +90 332 223 61 81 E-posta: hasibeartac@yahoo.com

Geliş Tarihi/Received: 12.05.2009 **Kabul Tarihi/Accepted:** 23.09.2009

Türk Pediatri Arşivi Dergisi, Galenos Yayıncılık tarafından basılmıştır. Her hakkı saklıdır. / Turkish Archives of Pediatrics, published by Galenos Publishing. All rights reserved.

lar bildirilmiştir. Hem erkek hem de kız olgularda görülen bu ikinci durum ise otozomal çekinik agammaglobulinemi olarak bilinmektedir (2-5). Diğer taraftan periferik kanda olgun B lenfositler bulunduğu halde antijen yanıtındaki eksiklikler nedeniyle immünglobulin sentezinin bozulduğu klinik tablolar da söz konusudur. Bu grupta immünglobulin sınıf dönüşümünü etkileyen gen bozukluklarının yol açtığı hiper IgM sendromları ve B hücre olgunlaşması, işlevi ve farklılaşmasını bozan genetik bozuklukların (ICOS, TACI, BAFF, CD19) neden olduğu yaygın değişken immün yetersizlik tabloları yer almaktadır (6-12).

B lenfositlerinin yüzeyinde B hücre alması (reseptörü) ile birlikte CD19, CD21, CD81 ve CD225 gibi ko-reseptörler de bulunmaktadır (13). B hücre yanıtının düzenlenmesinde rol oynayan bu ko-reseptörlere ait ilk CD19 eksikliği olgusu Konya'da Apasaraycık Köyü'nden 10 yaşında bir kız çocuğunda tarafımızdan saptanmıştır (14). Erasmus Tıp Merkezi ile ortaklaşa yürütülen çalışma ile bu kız olguda CD19 gen defektinin gösterilmesinden sonra, Kolombiya'da 33, 35 ve 45 yaşlarında ikisi kız biri erkek üç kardeş olguda daha CD19 gen defektine bağlı immün yetersizlik tablosu tanımlandı (14). Daha sonra Japonya'dan sekiz yaşındaki bir erkek olguda da CD19 gen defektine bağlı immün yetersizlik saptandı (15). Böylece dünyada toplam beş hastada CD19 eksikliği yayınlanmış oldu.

2007 yılının Eylül ayı içinde, CD19 eksikliğini tanımladığımız ilk olgumuzun köyünde yaşayan ve olgumuzun akrabası olan 12 yaşında bir erkek çocukta daha CD19 eksikliği saptadık. Bu olgu bize, bu köyde yaşayan başka olguların veya taşıyıcıların olabileceğini düşündürdü.

Bu çalışmanın amaçları;

- 1) İki CD19 eksikliği olgusunun köyünde yaşayan toplumun immün yetersizlik düşündürdüren uyarıcı bulgular açısından değerlendirmek,
- 2) CD19 ile CD21 molekülünün varlığını ve yoğunluğunu (mediyan fluorescent intencity, MFI) incelemek,
- 3) CD19 ve CD21 ekspresyonlarını önceden genetik olarak belirlenmiş hasta ve taşıyıcıların sonuçları ile karşılaştırarak CD19 eksikliği ve taşıyıcısı olabilecek olguları belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Apasaraycık köyünde 150 hane, 900 kişi ve yaklaşık 400 çocuk bulunmaktadır. Öncelikle iki indeks olgunun akrabaları belirlendi. Aynı köyden bilindiği kadarıyla akraba olmayan bireylerden kontrol grubu oluşturularak tüm olgular BİY'in uyarıcı bulguları yönünden sorgulandı. Bu sorgulama için anket formu hazırlandı (1). Anket formlarında BİY ile ilişkili araştırılan uyarıcı bulgular şunlardır:

- 1) Bir yılda sekizden fazla üst solunum yolu enfeksiyonu
- 2) Bir yılda ikiden fazla ciddi sinüz enfeksiyonu
- 3) İki aydan uzun süren etkili sinüz antibiyotik kullanımı
- 4) Bir yılda ikiden fazla pnömoni
- 5) Büyüme ve gelişme geriliği
- 6) Yineleyen derin doku veya organ apseleri
- 7) Bir yaşından sonra ağızda veya deride süregen mantar enfeksiyonu
- 8) Enfeksiyonu iyileştirmek için damar içi antibiyotik kullanımı gereksinimi
- 9) İki yıldan fazla derin doku yerleşimli enfeksiyon
- 10) Ailede BİY öyküsü

Kişilerden EDTA'lı tüpe 2-3 ml kan alındı. Periferik kanda CD19 ve CD21 molekül ekspresyonu dört renkli akış sitometri cihazı (FACSCalibur, Becton Dickinson Biosciences, San Jose, California, USA) ile değerlendirildi. CD19 (FITC) ve CD21 (PE) monoklonal antikorları (Becton Dickinson, San Rose, CA, USA) kullanıldı. Çalışma yerel etik kurul tarafından onaylandı.

İstatistik çözümlerler SPSS hazır istatistik paket programı (SPSS for Windows, Version 15.0, SPSS Inc., U.S.A) kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki karşılaştırma için "independent sample t" testi kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Toplam 208 kişiden (126 kadın, 82 erkek, K/E: 1,53) kan alındı. Çalışılan grup 1 ile 75 yaş arasında olup 18 yaş altı çocuk olarak değerlendirildi. Bu kişiler 59 aileden 129 çocuk (%62, ortalama yaş \pm SS; 9,5 \pm 3,7) ve 79 erişkinden (%38, ortalama yaş \pm SS; 37 \pm 13) oluştu (Tablo 1). İki indeks olgu ile akrabalığı olan toplam 93 kişi vardı. Akrabalık olan ve olmayan kişiler arasında yaş ve cinsiyet açısından fark yoktu. Anket formu dolduran 190 katılımcının 67'sinde (57 çocuk, 10 yetişkin) en az bir uyarıcı immün yetersizlik bulgusu vardı. Bu bulgular tekrarlayan üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarıydı. İmmün yetersizlik düşündürdüren bulgular yönünden akrabalık olan ve olmayanlar arasında fark saptanmadı.

Akış sitometri çözümlenmesi ile CD19 molekül eksikliği olan kişi saptanmadı. CD19 moleküllü çocuklarda %8 \pm 3,3; yetişkinlerde %11,9 \pm 4,6 bulundu. Akraba olanlarda CD19 yüzde oranı ve CD21 medyan ekspresyon değerleri, akraba olmayanlardan yüksekti ($p < 0,05$) (Tablo 2).

Önceki çalışmalarda CD19 medyan ekspresyonu (MFI) CD19 yönünden heterozigot taşıyıcı olduklarını bildiğimiz anne, baba ve kardeşlerde düşük saptanmıştı. Bu değerler göz

Tablo 1. Olguların demografik verileri

	Çocuk	Yetişkin	Total
Sayı (n)	129	79	208
Yaş (yıl) (ort \pm SS)	9,5 \pm 3,7	37 \pm 13	20,2 \pm 16
Ortanca	(1-17) 10	(18-75) 35	(1-75) 13
Erkek (n)	59	23	82
Bayan (n)	70	56	126
Uyarıcı belirtiler (n)	10	57	67

Tablo 2. Köy taramasına katılan toplam 208 kişide CD19 yüzde oranlarının, CD19 ve CD21 medyan ekspresyonlarının taşıyıcı (20 kişi) ve akrabalarındaki (93 kişi) değerlerinin karşılaştırılması

	CD19 (%)	p	CD19 medyan ekspresyonu	p	CD21 medyan ekspresyonu	p
Taşıyıcı (n:20)	11,2 \pm 4,1	-	48,7 \pm 8,1	<0,0	424 \pm 104,7	<0,01
Taşıyıcı değil	10,3 \pm 4,6		88,7 \pm 12,6		581 \pm 174	<0,01
Akraba (n:93)	11,1 \pm 4,6	<0,05	83,3 \pm 21	-	594 \pm 186	
Akraba değil	9,8 \pm 4,5		86,2 \pm 12,9	-	544 \pm 163	<0,05

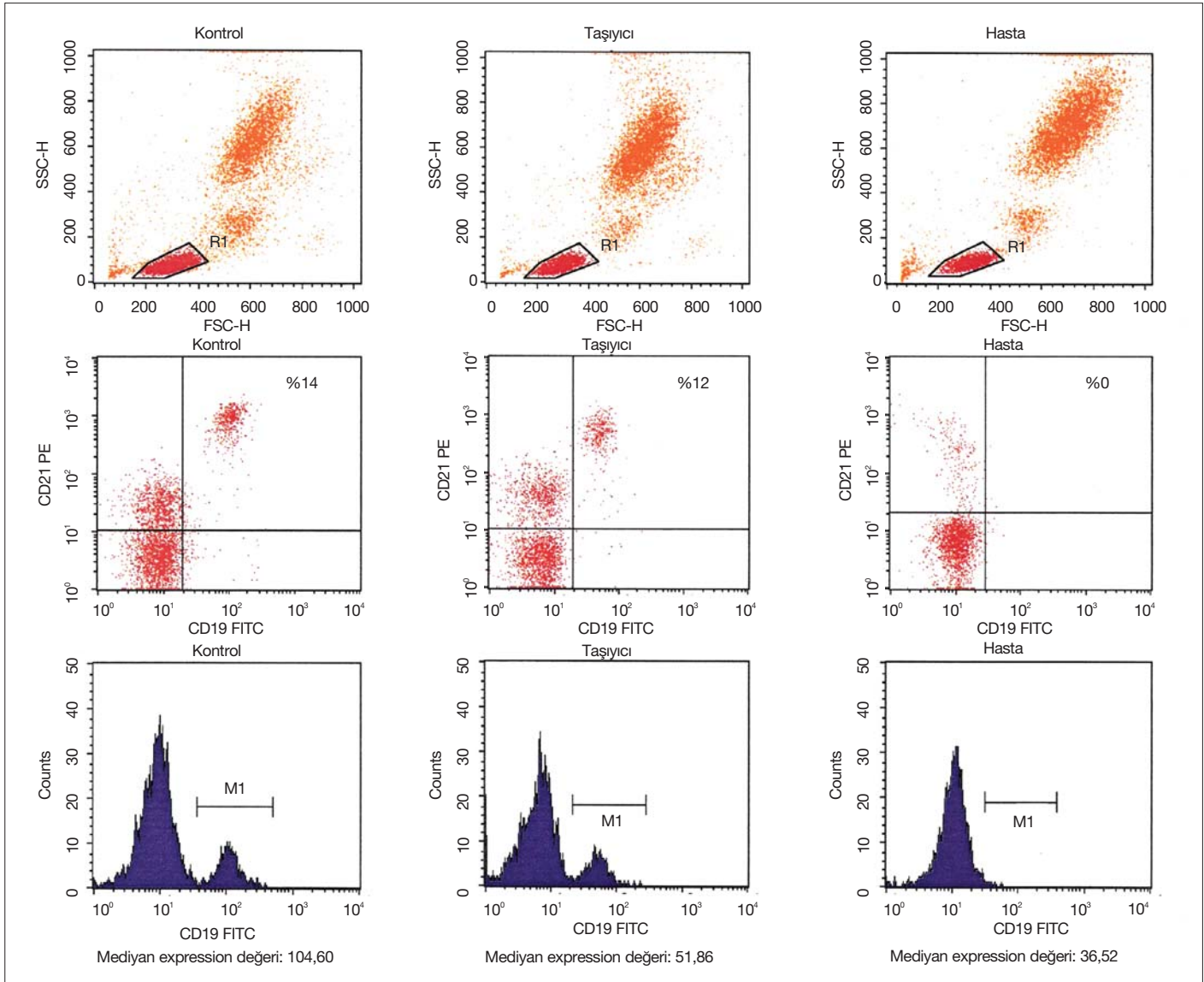
önünde bulundurulmuş akış sitometri çözümü verileri değerlendirildiğinde; CD19 medyan ekspresyonu 20 kişide (15 çocuk, 5 yetişkin) 60 MFI değerinin altında saptandı (Şekil 1). Bu olguların CD21 medyan ekspresyon değerleri de, diğer akrabalarından düşüktü ($p<0,01$) (Tablo 2). Medyan ekspresyon değerine göre taşıyıcı 20 olgunun CD19 oranı normal sınırlarda idi. CD19 ve CD21 oranları ve medyan ekspresyonu ile immün yetersizlik bulgularının varlığı açısından fark bulunmadı.

Tartışma

CD19 molekül eksikliği saptanan hastalarda CD19 oranının B lenfositler yüzeyinde %1'den düşük düzeyde bulunduğu ve taşıyıcılarda ise CD19 oranı normal iken CD19 molekülünün medyan ekspresyonunun normal bireylerden daha düşük olduğu tarafımızdan ilk kez gösterilmişti (14). Bu çalışma ile

CD19 eksikliği yönünden taşıyıcı olan olguların, CD19 medyan ekspresyonlarının kontrollere göre düşük olduğunu ve bu düşüklüğün klinik olarak immün yetersizlik bulgusuna neden olmadığını göstermiştir. Olası taşıyıcıların saptanmasında yüzde oranı yerine, CD19 medyan ekspresyon değerinin kullanılmasının uygun olduğu gösterilmiştir.

CD19 proteini, olgun B lenfositlerinin yüzeyinde CD21, CD81 ve CD225 ile birlikte bir bütün oluşturmaktadır. Bu bütün ise B hücre almacı ile birlikte görev yapmakta ve antijen ile uyarı sonrasında olayları düzenlemektedir (13). Bir ko-reseptör olarak CD19 molekülü ile ilgili çalışmalar, yeni bir hastalığın tanımlanmasının ötesinde, B hücrelerinin gelişiminde rol oynayan sinyal iletim mekanizmalarına da yeni bir bakış açısı getirmiş ve bu konuda yeni araştırmalar için önemli ipuçları ortaya koymuştur. Bugüne kadar CD19 molekül eksikliği tanımlanan altı hastada tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar, piyelo-



Şekil 1. CD19 molekül eksikliği olan hastada, CD19 molekülü için heterozigot mutasyonu olan taşıyıcıda ve kontrolde CD19 molekülünün oranları ve medyan ekspresyonları

nefrit ve gastrit bildirilmiştir (14,15). Yetersiz antikor yanıtları ve hafıza B hücrelerinde azalma, yaşamın ilk 10 yılından itibaren tekrarlayan enfeksiyonlar ve hipogammaglobülinemiye neden olmaktadır. Taşıyıcılarda ise immün yetersizlik bulgularına rastlanmamış ve immünglobülin düzeyleri normal bulunmuştur. Taşıyıcıların birinde 13 yaşında sistemik lupus eritematoz gelişmiş olup CD19 heterozigot mutasyonu olan olgularda klinik olarak otoimmün hastalıklara yatkınlık ile ilgili daha ileri çalışmalarına gereksinim vardır.

Otozomal çekinik hastalıkların sıklığının yüksek olduğu ülkelerde, taşıyıcıların saptanması ve ailelerin bilgilendirilmesi önem kazanmaktadır. CD19 eksikliği heterozigot "taşıyıcılığı" açısından, CD19 taşıyan B lenfosit oranının değil, CD19 medyan ekspresyon düşüklüğünün yol gösterici olduğunu düşünüyoruz. Çalışmamızda CD19 medyan ekspresyon değerine göre taşıyıcı oldukları belirlenen bu olguların, mutasyon incelemelerinin yapılarak taşıyıcı olduklarının doğrulanması planlanmıştır.

Kaynaklar

1. Stiehm ER, Ochs HD, and Winkelstein JA. Immunodeficiency Disorders: General Considerations. In: Stiehm ER, Ochs HD, Winkelstein JA (eds). Immunologic disorders in infants and children. Fifth edition. Philadelphia: Saunders, 2004: 289-355.
2. Yel L, Minegishi Y, Coustan-Smith E, et al. Mutations in the mu heavy-chain gene in patients with agammaglobulinemia. N Engl J Med 1996; 335: 1486-93. (Abstract) / (Full Text) / (PDF)
3. Minegishi Y, Coustan-Smith E, Wang YH, Cooper MD, Campana D, Conley ME. Mutations in the human lambda5/14.1 gene result in B cell deficiency and agammaglobulinemia. J Exp Med 1998; 187: 71-7. (Abstract) / (Full Text) / (PDF)
4. Minegishi Y, Coustan-Smith E, Rapalus L, Ersoy F, Campana D, Conley ME. Mutations in Igalpha (CD79a) result in a complete block in B-cell development. J Clin Invest 1999; 104: 1115-21. (Abstract) / (Full Text) / (PDF)
5. Minegishi Y, Rohrer J, Coustan-Smith E, et al. An essential role for BLNK in human B cell development. Science 1999; 286: 1954-7. (Abstract) / (Full Text) / (PDF)
6. Bacchelli C, Buckridge S, Thrasher AJ, Gaspar HB. Translational mini-review series on immunodeficiency: Molecular defects in common variable immunodeficiency. Clin Exp Immunol 2007; 149: 401-9. (Abstract) / (PDF)
7. Allen RC, Armitage RJ, Conley ME, et al. CD40 ligand gene defects responsible for X-linked hyper-IgM syndrome. Science 1993; 259: 990-3. (Abstract) / (PDF)
8. Revy P, Muto T, Levy Y, et al. Activation-induced cytidine deaminase (AID) deficiency causes the autosomal recessive form of the Hyper-IgM syndrome (HIGM2). Cell 2000; 102: 565-75. (Abstract) / (PDF)
9. Ferrari S, Giliani S, Insalaco A, et al. Mutations of CD40 gene cause an autosomal recessive form of immunodeficiency with hyper IgM. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98: 12614-9. (Abstract) / (Full Text) / (PDF)
10. Imai K, Slupphaug G, Lee WI, et al. Human uracil-DNA glycosylase deficiency associated with profoundly impaired immunoglobulin class-switch recombination. Nat Immunol 2003; 4: 1023-8. (Abstract) / (PDF)
11. Grimbacher B, Hutloff A, Schlesier M, et al. Homozygous loss of ICOS is associated with adult-onset common variable immunodeficiency. Nat Immunol 2003; 4: 261-8. (Abstract) / (PDF)
12. Salzer U, Chapel HM, Webster AD, et al. Mutations in TNFRSF13B encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. Nat Genet 2005; 37: 820-8. (Abstract) / (PDF)
13. Rudd CE. Disabled receptor signaling and new primary immunodeficiency disorders. N Eng J Med 2006; 354: 1874-7. (Abstract) / (Full Text) / (PDF)
14. van Zelm MC, Reisli I, van der Burg M, et al. An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene. N Engl J Med 2006; 354: 1901-12. (Abstract) / (Full Text) / (PDF)
15. Kanegane H, Agematsu K, Futatani T, et al. Novel mutations in a Japanese patient with CD19 deficiency. Genes Immun 2007; 8: 663-70. (Abstract) / (Full Text) / (PDF)