



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**YAYGIN DEĞİŞKEN İMMUN YETMEZLİK
VE SELEKTİF IgA EKSİKLİĞİNDE
İN VİTRO SİTOKİN SALINIMI**

Dr. Kadri KAMBER

UZMANLIK TEZİ

Bursa – 2008



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**YAYGIN DEĞİŞKEN İMMUN YETMEZLİK
VE SELEKTİF IgA EKSİKLİĞİNDE
İN VİTRO SİTOKİN SALINIMI**

Dr. Kadri KAMBER

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. S. Şebnem KILIÇ

Bursa – 2008

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet	ii-iii
İngilizce Özet	iv-v
Giriş ve Amaç	1-13
Gereç ve Yöntem	14-15
İstatiksel Analiz	16
Bulgular	17-21
Tartışma	22-26
Sonuç	27
Kaynaklar	28-35
Özgeçmiş	36
Teşekkür	37

ÖZET

Selektif IgA eksikliği (slgAE); sekretuvar IgA yokluğu ve serum IgA düzeyinin 5 mg/dl altında olması ile karakterize, en sık görülen immun yetmezliktir. IgA eksikliğinin patogenezi bilinmemekle birlikte, Ig sınıf değişimi ve sitokinlerinde içinde olduğu izotip değişiminde anormallikler gösterilmiştir. YDİY, hipogamaglobulinemi, antikor yapımında bozukluk ve tekrarlayan bakteriyel enfeksiyon ile karakterize, heterojen bir hastalık grubudur. Defektif T hücre aktivasyonu, tam fonksiyonel B hücre aktivasyonu için gerekli olan T ve B hücreler arasındaki ilişkiyi belirleyen CD40L ekspresyonundaki bozukluk ve/veya T hücre farklılaşmasında ihtiyaç duyulan sitokinlerin üretiminde anormalliklere yol açabilir. Bu da YDİY hastalarında bozulmuş sitokin üretimi açıklamalarından biri olan proliferasyon ve/veya farklılaşma bozukluklarına benzemektedir.

Aynı genetik kökene sahip olduğu düşünülen YDİY'li ve slgA eksikliği olan hastalarda, ortak bir immunolojik bozukluğun olup olmadığını araştırmaya yönelik, sitokin yanıtlarını araştırmayı planladık.

Biz bu çalışmamızda, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, İmmunoloji Bilim Dalı Polikliniğinde takip edilen 15 YDİY'li, 10 slgA eksikliği olan hastada ve 24 sağlıklı kontrol grubunda, lenfositler fitohemaglutinin (PHA) ile uyarılarak sitokin düzeyleri ELISA ile ölçüldü ve uyarı öncesi ile karşılaştırıldı.

YDİY'li hasta US grubu kontrol US grubuyla karşılaştırıldığında IL-10 düzeyi anlamlı derecede yüksek saptandı. YDİY'de uyarı sonrası kontrolle karşılaştırıldığında IL-4 düşük iken, IL-10'da artış saptandı. SIgA eksikliğinde de uyarı sonrası kontrole göre IL-4 düzeyi düşük saptandı. Tüm hasta ve kontrol gruplarında PHA ile uyarı sonucunda sitokinlerde anlamlı derecede yükselme saptandı. Bu da bize PHA'nın lenfositler üzerine iyi bir uyarıcı olduğunu gösterdi.

Sonuç olarak her iki hasta grubunda gözlenen IL-4 düşüklüğünün hipogamaglobulinemi ve Ig dönüşümündeki defekti açıklayabilecek bir neden olabileceği düşünüldü. YDİY'de IL-10 yüksekliğinin artmış inflamatuvar süreçten dolayı ya da azalmış proinflamatuvar sitokin yanıtına sekonder olarak yükselmiş olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Selektif IgA Eksikliği, Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik, IL- 4, IL- 10, CD40 Ligand

SUMMARY

Cytokine response in lymphocytes of patients with CVID and sIgAD

Selective IgA deficiency (sIgAD), using 5 mg/dl of serum IgA as the upper limit for diagnosis and concomitant lack of secretory IgA, is the most common form of primary immunodeficiency. The pathogenesis of IgA deficiency is not known, although abnormalities in Ig class switching and the cytokines involved in isotype switching have been implicated. Common Variable Immunodeficiency (CVID) is a heterogeneous group of B cell deficiency syndromes characterized by hypogammaglobulinemia, impaired antibody production and recurrent bacterial infections. Defective T-cell activation may lead to an impairment in cognate T-B-cell interaction due to impaired expression of CD40 ligand and/or abnormalities in the production T-cell-derived cytokines required for fully functional B-cell activation, proliferation and/or differentiation which could indeed explain the impairment in antibody production present in CVID patients. It has been found that cytokines are produced in low levels due to the decreased T cell function which occur as a result of the defect in CD40L expression in CVID patients.

The aim of this study is to determine the possible common immunological pathway by exploring CD40L expression and cytokine responses in CVID and sIgAD patients.

In our study, lymphocytes are stimulated by phytohemagglutinin (PHA) and then cytokine levels are measured by ELISA and compared with pre-stimulation in 15 CVID, 10 sIgAD patients and in 24 healthy controls admitted to Pediatric Immunology Department in Uludag University Faculty of Medicine. CD40L expression on lymphocytes is measured by flow cytometry.

IL-10 levels were significantly higher in unstimulated (US) lymphocyte supernatant of CVID patients compared with control US group. Following PHA stimulation, low IL-4 and high IL-10 levels were found in CVID patient. In sIgAD, IL-4 was low compared to control group after PHA stimulation. CD40L expression was normal in lymphocytes in both patient groups.

It was suggested that low IL-4 in both groups might be one of the responsible factor of hypogammaglobulinemia and defective immunoglobulin isotype switching. The increase in IL-10 in CVID might be secondary to the increase in inflammatory process or due to decrease in proinflammatory cytokine response.

Key words: Selective IgA Deficiency, Common Variable Immunodeficiency, IL-4, IL-10, CD40L

GİRİŞ

Selektif IgA Eksikliği

Selektif IgA eksikliği (slgA); sekretuvar IgA yokluğu ve serum IgA düzeyinin 5 mg/dl altında olması ile karakterize bir hastalıktır. Primer immun yetersizliklerin en sık görülen formudur. Sıklığı ortalama 1/600-1/700 olarak bildirilmiştir (1). Farklı etnik gruplarda prevalansı değişkenlik gösterir. Örneğin Japonya'da 1/ 18,000; Çin'de 1/4000 sıklıkta görülmektedir (2).

Hastaların çoğunda sinopulmoner enfeksiyonlar, alerjik ve otoimmün hastalıkların sıklığında artış saptanmıştır. Sık tekrarlayan enfeksiyon geçiren IgA eksikliği hastalarda IgG alt gruplarına da bakılmalıdır. IgG alt gruplarından özellikle IgG2 eksikliğinin eşlik ettiği hastalarda enfeksiyon sıklığı ve ciddiyeti daha da belirgindir (3).

IgA eksikliği nedenleri değişkendir. 3 mekanizma tanımlanmıştır(4).

1. İntrinsik B hücre defekti
2. Ig A'nın supressör T hücreleri ile baskılanması
3. Ig A yapımında T hücre yardımının selektif olarak gerçekleşmemesi

Dolaşımda B hücre sayısı normal olduğundan IgA sentezinde veya salınmasında bir defekt olabileceği düşünülmektedir. Altıncı kromozomun kısa

kolunun 21. segmentinde bulunan genin sIgAD eksikliğine neden olduğu bildirilmiştir (5). Ayrıca sIgA eksikliği olan hastalarda, kan ürünleriyle transfüzyon sonrasında anafilaktoid reaksiyonlar gelişebilir. Bu hastalarda salgısal IgA yokluğuna bağlı antijenin fazla miktarda Emilimi, antijenle bağlanacak antikor miktarında azalma ve anti IgA antikorlarının oluşmasına bağlı reaksiyonlar meydana gelir (6). SIgA eksikliğinde serum IgA düzeyi 5 mg/dl'nin altında bulunurken serum IgG, IgM, IgD, ve IgE düzeyleri normal veya artmıştır.

SIgA eksikliği olan bazı hasta gruplarında hastalarda HLA B14, DR1, DQW1, C4A2, ve C4B2 allelleri sağlıklı insanlara göre daha yüksek oranda saptanırken, bazı çalışmalarda ise bu görüşü desteklememektedir (7). Bu hastalarda çölyak hastalığı, glomerülonefrit ve romatizmal hastalıkların görülme oranında artış saptanmıştır (8-9). SIgA eksikliği olan hastalarda insüline bağımlı diabetes mellitus, immün trombositopenik purpura (ITP), otoimmün hemolitik anemi gibi otoimmün hastalıklar normal bireylere göre daha sık görülmektedir (10-11). Ayrıca bu hastalarda retikulum hücreli sarkom, özofagus ve akciğerde skuamöz hücreli sarkom ve timoma gibi malignitelerin görülme olasılığının yüksekliğine dikkat çekilmiştir.

Ayırıcı tanıda anormal immünglobulin sentezi ile karakterize hücrel immün yetersizlik, ataksi-telenjektazi, kronik mukokütanöz kandidiyazis, X'e bağlı hiper IgM sendromu düşünülmelidir (12). Ayrıca ACE inhibitörleri, romatizma, epilepsi tedavisinde kullanılan ilaçlara sekonder oluşan edinsel IgA yetersizliği ile ayırıcı tanısının yapılması gereklidir (13-14).

IgG2 düşüklüğünün eşlik ettiği sIgA eksikliği olan vakalarda ağır enfeksiyon geçirme öyküsü mevcutsa düşük düzeyde IgA içeren IVIG preparatları dikkatli bir şekilde verilebilir. Eritrosit transfüzyonu uygulanacak, sIgA eksikliği olan hastalara, üç kez yıkanmış eritrosit süspansiyonu verilmesi uygundur.

SlgA eksikliği olan hastalar düzenli aralarla izlenmelidir. Çünkü bu hastaların yıllar içinde IgA sentezleyebildikleri bazılarında ise panhipogammaglobulinemi gelişebildiği gösterilmiştir.

YAYGIN DEĞİŞKEN İMMUN YETMEZLİK (YDİY)

YDİY, antikor yapımında bozukluk ve tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlarla karakterize heterojen bir hastalık grubudur (15).

B hücre defektleri: En sık gözlenen fenotip B hücre farklılaşmasındaki bozukluklara bağlı antikor eksikliğidir. Çoğu hastalarda B hücre sayısı normaldir. Bunun dışında B hücre farklılaşmasında rol oynayan koreseptörler CD27 ve CD134 ligandın ekspresyonunda defektler vardır. Olgun olmayan B hücreleri dışında hafıza B hücre sayı ve aktivasyonunda da sorunlar olabilir (16).

T hücre defektleri: YDİY'li olguların %25-30'unda CD8+ lenfositleri artmıştır, CD4+ sayısı normal veya azalmıştır ve CD4/CD8 oranı azalmıştır. Antijene özgü T hücreleri olmayabilir. Birçok olguda periferik kandaki lenfositler mitojen veya antijenle uyarıldığında çoğalmazlar. Bazılarında ise T hücre reseptöründe bozukluk vardır (16).

Adezyon/"Switching" Defektleri: YDİY hastalarında hücre yüzey moleküllerinden adezyonla ilgili olanların ekspresyonu azalmıştır. L-Selektin, attraktin ve CD40L bunların en önemlileridir. Aktive CD4+ lenfositlerin yüzeyinde taşınan CD40L B hücre çoğalması, farklılaşması ve izotip "switching" için çok önemlidir.

Yapılan birçok çalışma YDİY'li hastaların immunolojik bozukluğunun B - hücreleri ile sınırlı olmadığını; T hücreleri ve monosit-makrofajların da bu hastalıkta rol üstlendiğini, muhtemelen antijen sunumunda ve B hücre yardımında bir bozukluk olduğunu göstermiştir. YDİY'li hastaları B hücreleri invitro uygun şartlarda uyarıldığında, normal immunglobulin üretmeleri, bu hastaların B hücrelerinde intrinsik olarak bir defekt olmadığını düşündürür (15).

YDİY patogenezinde yer alan moleküler bozukluklar henüz tam olarak ortaya konmamıştır. Ancak YDİY olasılıkla birçok gen defektinden kaynaklanmaktadır. Bu subgrubun çoğunluğunda otozomal dominant bir kalıtım paterninin gösterilebilir olmasıyla birlikte en az %10'nun ailesel olmasına rağmen çoğu vakanın temelde sporadik olduğu görülmüştür (17-18).

Şu anda YDİY'li hastalarda birçok monojenik defektin varlığı gösterilmiştir (19-20). Moleküler patolojiler aşağıda sıralanmıştır.

- 1- Aktive T- hücrelerinin indüklenebilir co-stimülatörü (ICOS) (21-22).
- 2- Transmembran aktivatörü ve Ca-modülatörü ve siklofilin ligand (TACI) (23-24).
- 3- Tümör nekrozis faktör aile reseptörünün B-hücre aktive edici faktörü veya reseptörü. (BAFF), (BAFF-R) (25).
- 4- CD19 (25-26) .

Biyolojik önemi açık olmamasına rağmen YDİY'li hastalarda TACI, BAFF ve bir proliferasyon indükleyici ligandın (APRIL) (B hücrelerini aktive eden ve izotip sınıf işaretlenmesini etkileyen) serum düzeylerinin belirgin olarak yükselebildiği bildirilmiştir (27). Bu proteinlerdeki yükselmeler aynı zamanda birçok romatolojik hastalıkta, hematolojik malignitede ve aktif graft versus host hastalığında da görülmektedir (28).

Son yıllarda YDİY'li hastalarda primer T-hücre defekti olduğu görüşü daha benimsenmiştir ve bu görüş T ve B hücre lenfosit alt gruplarının ve fonksiyonlarının in vitro analizine dayanır. Her ne kadar YDİY'li hastaların çoğu normal T-hücre sayısına sahipse de, lenfositlerin in vitro mitojen ya da spesifik antijen ile uyarıya yanıt vermemesi sonucu T-lenfositlerde fonksiyonel defekt olduğu düşünülmüştür (29- 30). Ayrıca YDİY'li hastaların lenfosit kültürleri in vitro çeşitli ajanlarla uyarıldığında; IL-2, IL-4, IL-5, IFN-gama gibi bazı interlökin salınımlarında belirgin azalma olduğu gözlenmiştir (31 -32).

CD40 ligand (CD40L) aktive CD4+ lenfositlerde eksprese edilir. B-hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli bir rolü vardır. CD40-CD40L sinyalindeki bir bozukluğun YDİY'li hastalarda B-hücre farklılaşmasını engelleyebileceği bildirilmiştir (33). YDİY'li hastaların B hücreleri anti-CD40 ve IL-4 varlığında in vitro kültür ortamında normal proliferasyon gösterip, normal miktarlarda IgE salgılayabilmektedir (34).

Bu durum YDİY'li hastaların çoğunun normal fonksiyona sahip B hücrelerine sahip olduğu hipotezini desteklemektedir. Ayrıca başka bir çalışmada anti-CD40 ve IL-10 ile kültür edilen YDİY'li hastaların B hücrelerinin immunglobulin üretebildikleri gösterilmiştir (35).

Hastalık genellikle 18 aylıktan sonra görülmekte; 1-5 yaşlarında ve 16-20 yaşlarında olmak üzere iki pik yapmaktadır (36). Sıklığı 1/10.000-100.000'dir. Serum IgG düzeyi, yaş grubu ortalamasının 2SD altında seyrederek. Hastaların çoğunlukla serum IgA, yarısında ise serum IgM düzeyi düşük bulunmaktadır. İzohemaglutininler saptanamaz, protein ve polisakkarit yapıdaki aşılara karşı antikor yanıtı oldukça düşüktür. Hastaların çoğunda B hücre sayısı normal, ancak az bir kısmında düşük sayıda ya da hiç yoktur (37).

Solunum yolu ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına yatkınlık, YDİY'li hastaların en sık başvurma nedenidir (38-39). Solunum yolu enfeksiyonlarının etiolojisinde *Haemophilus İnfluenza*, *Moraxella catarrhalis* ve *Streptococcus pneumoniae* (40-41) sıklıkla yer alırken; gastrointestinal sistem enfeksiyonlarında ise en sık rastlanan patojenler *Giardia lamblia* ve *Campylobacter jejeuni*dir (42). Her ne kadar intravenöz immunglobulin (İVİG) tedavisi ağır enfeksiyonların insidansını azaltsa da bazı hastalarda İVİG tedavisine rağmen kronik sinopulmoner hastalık gelişebilmektedir (43-44).

YDİY'de hem kızlar hem de erkekler eşit seviyede etkilenebilmektedir. Çoğu vaka sporadiktir, ancak ailevi kalıtım %25 vakada görülebilir (42). Hastaların % 10'unun birden fazla aile bireyinde, YDİY ya da YDİY geni ile ilişkili bir immun yetmezlik (IgA eksikliği) görülebilir. Birçok aile bireyinin etkilendiği ailelerde, kalıtım paterni katı Mendelyen kurallarına uymaz. Bazı ailelerde immun yetmezlik bir kuşakta atlamakta, bazılarında ise bir aile bireyinde IgA eksikliği mevcutken, diğerinde YDİY saptanmaktadır. Bu durum hastalığa yol açan gen ya da genlerin yüksek ifade edilebilirliğini ve penetransını gösterir(45). Monozigot ikizlerde yapılan bir çalışmada ise ikizlerin birinde hipogamaglobulinemi saptanması, kazanılmış faktörlerin de YDİY fenotip gelişiminde etkisinin olduğunu gösterir (46).

İdiyopatik trombositopeni, otoimmün hemolitik anemi, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozis, otoimmün tiroidit, vitiligo ve primer bilier siroz gibi otoimmün bozukluklar YDİY'li hastalarda görülebilir (38). Yine bu hastalarda aynı zamanda akciğerlerde, karaciğerde, dalakta ve konjunktivada sarkoid benzeri granülamatoz oluşumlara saptanabilir (47). YDİY'li hastalarda malignansi riski artmıştır. Çoğunluğu YDİY olan 377 hipogamaglobulinemili hastada yapılan bir çalışmada malignant lenfoma için risk 23 kat, gastrik kanser içinse 50 kat artmış bulunmuştur (48). Aynı zamanda yapılan başka bir

çalışmada 98 YDİY'li hastanın 13 yıl izleminde lenfoma riskinin 100 kat arttığı gösterilmiştir (49).

YDİY'i tanımlayan hipogamaglobulinemi ve antikor yapım bozukluğu aşağıdaki immun yetmezliklerin bulgusu olduğundan, ayırıcı tanının dikkatli yapılması gereklidir. Agamaglobulinemi varyantları, X'e bağlı lenfoproliferatif sendromun hipogamaglobulinemisi YDİY ile benzer immun fenotipe sahip olabilir. Süt çocukluğu döneminde ise YDİY'i düşündürecek bir immun fenotipe sahip hastada öncelikle ağır kombine immun yetersizlik (SCID), X'e bağlı agamaglobulinemi (XLA) ve hiperimmünglobulin M sendromu ekarte edilmelidir. YDİY'e benzer şekilde klinik ve immunolojik profil sergileyen primer immun yetersizliklere ek olarak çeşitli kromozomal ve kalıtsal metabolik hastalıklarda da hipogamaglobulinemi görülebilir. Tablo-1'de YDİY'li hastaların ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken hümorale immun yetmezlikler verilmiştir.

Tablo-1: YDİY'in ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken hümorale immun yetmezlikler

X'e bağımlı agamaglobulinemi
Hiper IgM sendromu
Ig ağır-zincir gen delesyonları
Otozomal resesif alfa zincir eksikliği
Ig A eksikliğinin eşlik ettiği ya da etmediği IgG alt gruplarının selektif eksikliği
Antikor yapım bozuklukları
Ig A eksikliği
Süt çocuğunun geçici hipogamaglobulinemisi
Otozomal resesif geçişli agamaglobulinemi

Tip 1-Tip 2 ve Tip 3 Lenfositler

T lenfositler helper ve supresör T hücreleri olarak başlıca 2 grupta incelenmektedir. T helper ve T supresör hücreleri de kendi aralarında salgıladıkları sitokinlere göre Tip 1 ve Tip 2 alt gruplarına ayrılmaktadır (50). Ancak son zamanlarda Tip 3 alt grubunun varlığına işaret edilmektedir.

Sitokinler

Sitokinler immün sistem hücreleri tarafından salınan ve immun sistemi düzenleyici role sahip, düşük moleküler ağırlıklı (20-80 kD mol ağırlığında) proteinlerdir. Salındıkları zaman organizmada sistemik olarak (endokrin) ve/veya salındıkları hücre çevresindeki hücrelere (parakrin) veya doğrudan salındıkları hücreler üzerine (otokrin) etki edebilmektedirler. Sitokin yapımı antijenik uyarıya spesifik olmamakla beraber, oluşmaları ve hedef hücreleri etkilemeleri için antijenik uyarı gerektirirler (51). Fizyolojik olarak sitokinlere hücreler arasında mesaj ileten biyolojik mediyatörler gibi bakılabilir. Bu moleküllerin, lenfositler ve diğer hematopoetik hücrelerin yapılmasında ve farklılaşmasında çeşitli etkileri vardır. Çalışmada kullanılan sitokinler ve biyolojik etkinlikleri özetlenmiştir (50-51).

İnterlökin-2:

Molekül ağırlığı 15 kD (kilodalton)'dur. Aktive CD4+T hücreleri (Th1), bazı koşullarda CD8+T, NK hücreleri ve timositlerde bulunur. Aktive T ve B hücrelerinin çoğalmasını, antikor yapımının tetiklenmesini, bazı sitokinlerin (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, GM-CSF, INF γ , TNF- β , TGF- β) sentezinin uyarılmasını, sitotoksik T lenfositlerinin aktivasyonu, NK hücrelerinin ve nötrofillerin

aktivasyonunu sağlar. IL-2 yapan T hücrelerinin selektif olarak bu yeteneklerini kaybetmeleri anergiye yol açar. IL-2R α , β ve γ subunitlerinden oluşur. α zinciri sinyalizasyona katılmaz. IL-2R istirahat halindeki T hücrelerinde eksprese edilmez. NK hücrelerinde IL-2R'leri yapısal olarak (sürekli) eksprese ederler. Siklosporin A, FK506, T hücrelerinde IL-2 ve IL-2R indüksiyonunu kısmen inhibe ederler (52-53).

İnterlökin-4:

Molekül ağırlığı 18 kD'dur. Th2 hücreleri, timositler, mast hücreleri, bazofiller, NK hücrelerinde bulunur. Th1 subset inhibisyonu, Th2 subset indüksiyonu, aktive B hücre çoğalma faktörü (IgE ve IgG4 yapımının hızlanması), sitotoksik T hücre aktivasyonunun artması, mast hücrelerinin çoğalma faktörü, MHC klas II ekspresyonunun artması, bir grup sitokin (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α) ve nitrik oksid sentezi üzerine supresif etki, ağır zincir izotip dönüşümünün majör regülatörü olarak görev yapar. Birçok nitelikleri IL-13 ile ortaktır (54).

İnterlökin-10:

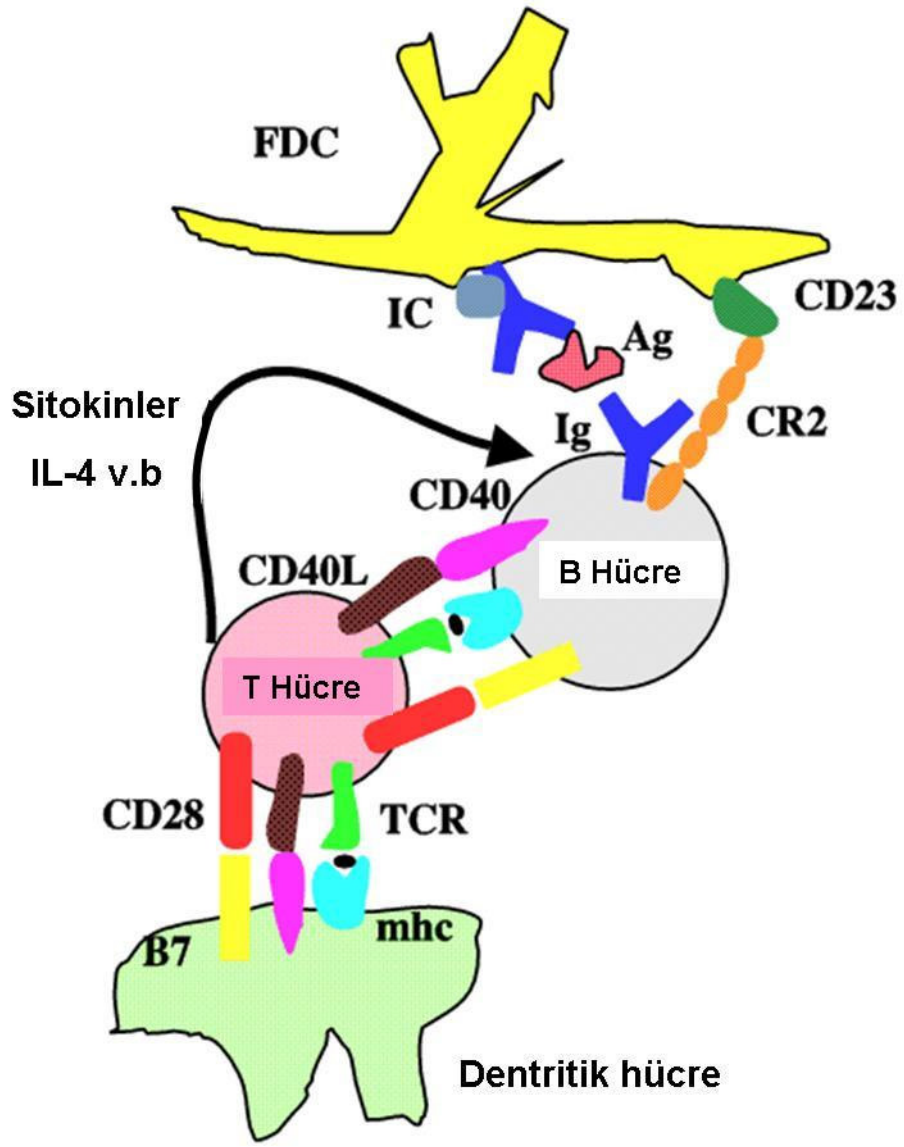
Molekül ağırlığı 32 k D'dur. Regülatör T hücre, Th2 ve Th0 subset hücreleri, timositler, monosit, B hücreleri, Langerhans hücreleri ve makrofajlarda bulunur. Th1 alt grup proliferasyonunun baskılanması, IL-2 ve INF- γ , IL-1, IL6, IL-8, GM-CSF, G-CSF sentezinin inhibisyonu, NK ve makrofaj aktivasyonunun inhibisyonu, B hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonunun indüksiyonu, IgG1, IgG2, IgG3 ve IgA'ya dönüşüm gibi görevleri vardır. Birçok enfeksiyon sırasında INF- γ cevabına IL-10 yapımında eşlik edebilir. Tip 1 sitokin cevabı ile oluşabilecek doku hasarını minimize edilmesi nedeniyle olabilir. TGF- β ile

sinerjik etki gösterir. İmmun toleransın indüklenmesinde rol alır. IL-19, IL-20, IL-24 ve IL-26, IL-10 ile %20-28 homoloji gösterdikleri için IL-10 ailesi içinde yer alır (55).

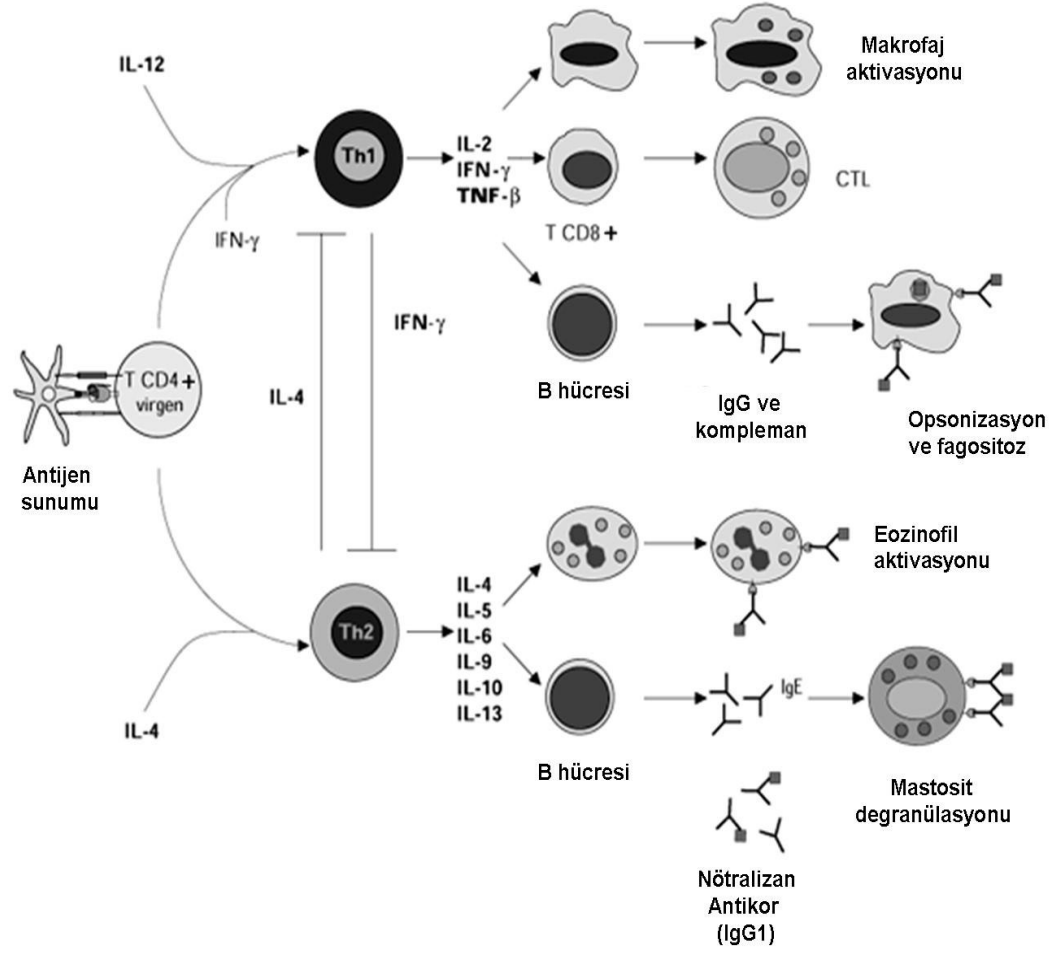
İnterferon-γ (gamma):

20-25 k D ağırlığındadır. CD₈ T, Th1 alt grup ve NK T hücreleri gama-delta T hücreleri, DC'ler ve aktive makrofajlar da bulunur. CD₄⁺ T hücrelerinin Th1 fenotipine diferansiyasyonu, Th1 ve NK hücre aktivitesinin şiddetlenmesi, Th2 subset hücrelerinin inhibisyonu, çeşitli hücrelerde MHC Klas-I ve Klas-II antijenlerinin ve Fc reseptör ekspresyonunun indüksiyonu, makrofaj ve endotel hücre aktivasyonu, B hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını sağlar. Yüzey reseptörlerinin ekspresyonunda artış, NADPH oksidaz ve NO sentaz sentezinin artması (superoksit ve NO yapımının artması), kaşeksi (lipoprotein lipaz ve gliserol fosfat dehidrogenaz inhibisyonu ve lipid akümülyasyonunu önleyerek) ve antiviral etkinlik gibi görevleri vardır.

IFN-γ, birçok hücrenin intrasellüler patojenleri öldürme yeteneklerini artırır. IFN-γ reseptörünün genetik defekti, hücreleri INFγ ile aktivasyondan alıkoyar (makrofajlarda fonksiyonel yetersizlik). Enflamasyonda makrofaj ve DC'leri aktive ederek doğal ve kazanılmış immunitiyi güçlendirir (56).



Şekil- 1a: Hüresel ve hümoral yanıtta CD40-CD40L etkileşimi



Şekil- 1b: Hücresel ve hümoral yanıtta TH1/TH2 etkileşimi ve sitokin yanıtları

AMAÇ

YDİY ve slgA eksikliği etiyolojisi tam aydınlatılamamış, kromozom 6'da, (aynı MHC bölgesinde) yer alan hastalıklardır. Biz bu çalışmada;

1-) Aynı genetik kökene sahip olduğu düşünölen YDİY'li ve slgA eksikliği olan hastalarda ortak bir immunolojik bozukluğun olup olmadığını araştırmaya yönelik, hasta ve kontrol grubu (uyarılmış ve uyarılmamış) lenfositlerinde TH1/TH2 sitokin yanıtlarını araştırmayı planladık.

2-) Uyarılmış ve uyarılmamış lenfositlerde TH1/TH2 düzeyleri her iki hastalık grubunda kendi aralarında ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmunoloji Bilim Dalı polikliniğinde takip edilmekte olan üç haftada bir düzenli intravenöz immunglobulin tedavisi alan yaygın değişken immün yetmezlikli 15 hasta, selektif IgA eksikliği tanısıyla izlenen 10 hasta ve yaş grupları benzer 24 sağlıklı çocuk (immün yetmezliği olmayan) çalışmaya alındı. Çalışma uygulamaya geçmeden önce Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan yazılı onay alındı.

Lenfosit Kültürü

Steril heparinli enjektöre 5 ml kan alındı. Alınan heparinli kan, cRPMI ile 1:1 oranında dilüe edildi. Dilüe edilen kan, 3 ml ficol içeren falkon tüpüne yavaşça tabakalandırıldı. Ficollü kan 1600 devirde 20°C'de 20 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan lenfosit halkası, pastör pipeti ile dikkatli bir şekilde alınarak yeni bir kültür tüpüne konuldu. Elde edilen lenfosit popülasyonunun üzerine 3-5 ml cRPMI eklendi. Lenfosit solüsyonu ilk yıkamada hızlı devirde (2000 RPM), 10 dk santrifüj edildi. Daha sonra supernatan dökülerek dipteki pelet karıştırıldı ve tekrar üzerine 2-3 ml c RPMI eklendi. İkinci ve üçüncü yıkamada 1400 devirde, 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Üçüncü yıkamadan sonra, supernatan dökülerek, lenfosit hücre peleti komplet medyumla 1 ml'ye

tamamlandı. Lenfositlerin homojen dağılması için pastör pipeti ile pipetaj uygulandıktan sonra (ihmal edilebilecek kadar az miktarda) örnek alınarak hücre sayımı yapıldı ve kültür ekim öncesi 1.000.000 hücre/ml oranında lenfosit konsantrasyonu elde edildi. Daha sonra her bir kültür kuyucuğuna 500 µl miktarda ekildi. Sitokin ölçümü için; a-) Uyarılmamış, b-) Fitohemaglutinin ile uyarılmış olmak üzere iki kuyucuğa ekim yapıldı.

Fitohemaglutinin konsantrasyonu 1:100 olacak şekilde RPMI'lı süspansiyon hazırlandı. Hücre kültürüne 5 µcg/ml oranında eklendi. Kültür örnekleri 37°C CO2'li etüve konuldu ve 24 saat sonra kültür supernatanları toplandı. Örnekler ependorflara konularak -20°C'de saklandı. Daha sonra saklanan kültür süpernatant örneklerinden TH1 (IL-2,INF-γ), TH2 (IL-4, IL-10) sitokinler ELISA yöntemi ile çalışıldı.

İstatiksel Analiz

İkiden fazla bağımsız grubu karşılaştırmak için Kruskal-Wallis testi, bağımsız iki grubu karşılaştırmak için Mann-Whitney testi kullanıldı. Bağımlı iki grubu karşılaştırmak için Wilcoxon Signed Ranks testi kullanıldı.

Hasta ve kontrol grubunda;

- 1) Uyarılmayan (US) ve PHA eklenen (PHA) YDİY ve slgA eksikliği ve sağlıklı kontrol grubunun sitokin yanıtlarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı.
- 2) YDİY (US/PHA), slgA eksikliği (US/PHA) ve Kontrol gruplarının (US/PHA) karşılaştırılmasında bağımsız iki grubu karşılaştırmak için Mann-Whitney testi kullanıldı.
- 3) YDİY (US/PHA), slgA eksikliği(US/PHA) ve Kontrol grubu'nun (US/PHA) kendi içinde karşılaştırılması için bağımlı iki grubu karşılaştırmak için Wilcoxon Signed Ranks testi kullanıldı.

BULGULAR

Bu çalışmaya alınan 15 YDİY'li hastanın 11'i erkek, 4'ü kız olup, hastaların yaş ortalaması 14, ortanca yaş 12 idi. Selektif IgA eksikliği tanısı ile izlenen 10 hastanın 6'sı erkek, 4'ü kız olup, ortalamaları 6,9 yaş, median yaş ise 8 yaştı. Sağlıklı ve benzer yaştaki 24 kontrolün 15'i erkek, 9'u kızdı. Kontrollerin yaş ortalaması 10,4 yaş, median yaş 10 yaştı.

Lenfosit Kültürlerinden Ölçülen Sitokin Değerleri

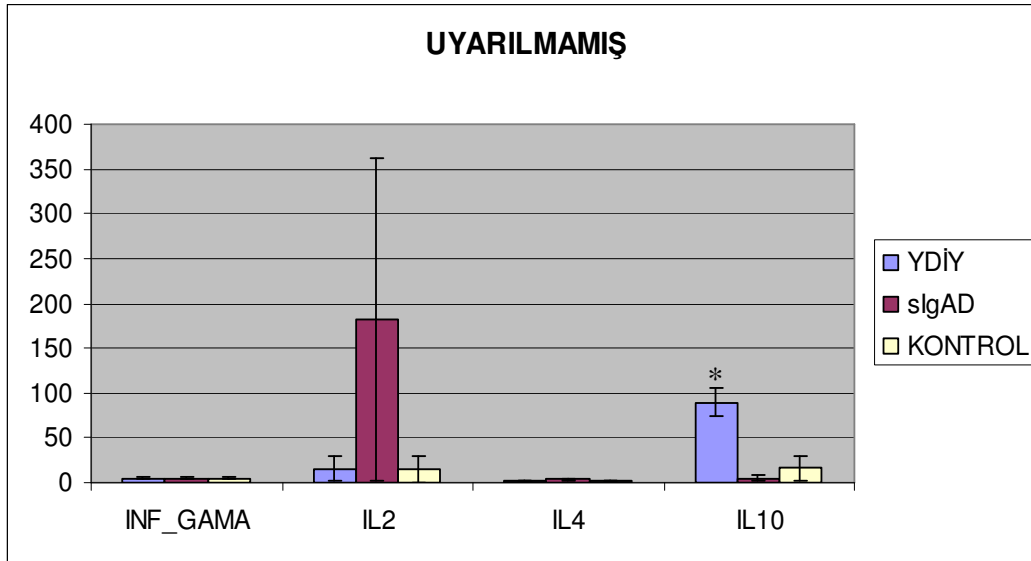
YDİY'li 15 hasta slgA eksikliği olan 10 hasta ve 24 kontrolden lenfosit kültürü yapıldı. Uyarılmamış (US), fitohemaglütinin (PHA) ile uyarılmış kültür tüplerinden Tip 1 (IL-2, INF γ) ve Tip2 (IL-4,IL-10) sitokin ölçümleri yapıldı. Gruplar sitokin seviyeleri açısından kendi aralarında karşılaştırıldı.

Hücre kültürü sitokin Ölçümü (Uyarılmamış-US)

YDİY, slgAD ve kontrol grubu uyarılmamış üç grup kendi içlerinde karşılaştırıldığında IL-10'da istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$). YDİY'li grup slgAD ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı. YDİY'li grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında IL-10'da anlamlı farklılık saptandı. Sonuçlar Tablo 2'de ve Şekil-2'de gösterilmiştir.

Tablo 2: YDİY, slgAD ve kontrol grubunun US Hücre kültürü sitokin ölçüm sonuçları

Uyarılmamış-US hücre kültürü sitokin ölçümü	YDİY (n=15)	slgAD (n=10)	Kontrol (n=25)	P Değeri
INF γ	0,01	0,01	0,01	p>0,05
IL-2	15,5	181,6	15,2	p>0,05
IL-4	2,01	3,4	1,3	p>0,05
IL-10	89,8	4,86	16,24	p<0,05

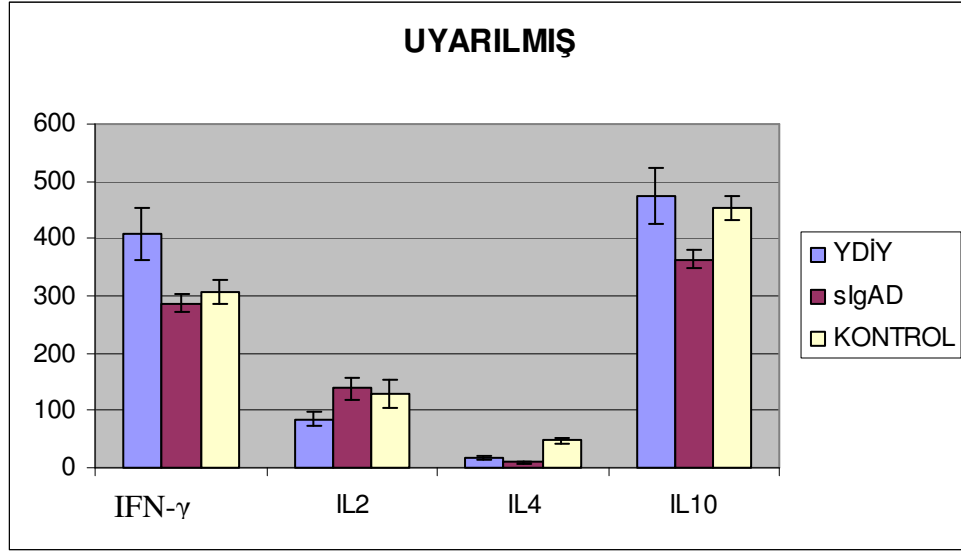


Şekil 2: YDİY, slgAD ve kontrol grubu uyarılmamış (US) hücre kültürü sitokin ölçümü karşılaştırılması

* YDİY'li grup Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında IL-10' da anlamlı derecede yükseklik saptandı.

Hücre Kültürü Sitokin Ölçümü (Uyarılmış-PHA)

Fitohemaglutininle (PHA) uyarılmış gruplar kendi içlerinde karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı. İstatistiksel olarak anlamlı olmasada YDİY’de uyarı sonrası kontrolle karşılaştırıldığında IL-4 düşük, IL-10 artmış bulundu. SİgAD’de uyarı sonrası kontrole göre IL-4 düşük saptandı. Sonuçlar Şekil 3’de gösterilmiştir.



Şekil 3: YDİY, SİgAD ve kontrol grubunun PHA ile uyarılmış hücre kültürü sitokin ölçümü karşılaştırılması

PHA (Fitohemaglutinin) ile Uyarılan ve Uyarılmayan Gruplarda Sitokin Ölçümleri

YDİY’li hastaların ve kontrol grubunun US ve PHA ile uyarılan tüplerinden ölçülen Tip 1 ve Tip 2 sitokin değerleri karşılaştırıldı.

YDİY'li hastaların uyarı öncesi ve sonrası kültür süpernatanlarındaki Tip 1 ve Tip 2 sitokin ölçümlerinde IL-4, IL-10, INF- γ düzeylerinde anlamlı farklılık saptandı.

SlgAD'li hastaların uyarı öncesi ve sonrası kültür süpernatanlarında Tip 1 ve Tip 2 sitokin ölçümlerinde IL-4, IL-10, INF- γ 'da anlamlı farklılık saptandı.

Kontrol grubunda uyarı öncesi ve sonrası kültür süpernatanlarındaki Tip 1 ve Tip 2 sitokin ölçümlerinde IL-2, IL-4, IL-10, INF- γ 'da anlamlı farklılık saptandı. Sonuçlar Tablo-4'de gösterilmiştir.

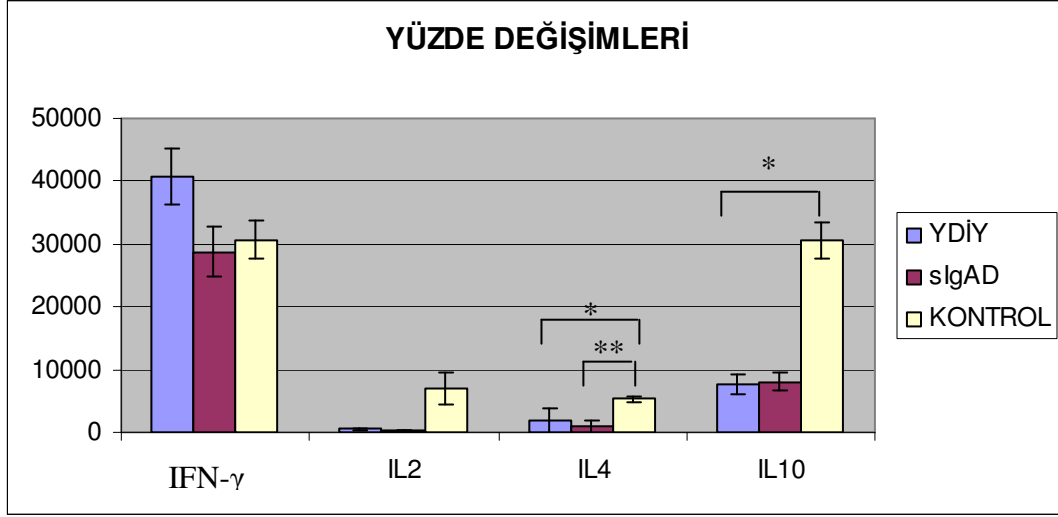
Tüm gruplarda uyarı sonrası sitokin yanıtlarındaki artış PHA'nın lenfositler üzerinde iyi bir uyarıcı olduğunu gösterdi.

Tablo 4: PHA (Fitohemaglutinin) ile Uyarılan ve Uyarılmayan Gruplarda Sitokin Ölçümleri

SİTOKİNLER	INF γ (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
YDİY (n=15) US*/PHA**	0/44,5	14/12,6	0,1/2,9	15,2/49,5
P DEĞERİ	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05
SlgAD(n=10) US*/PHA**	0/15,8	80/17,6	0,75/1,4	3,3/15,8
P DEĞERİ	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05
KONTROL (n=24) US/PHA	0/21,9	14,3/23,4	0,12/5,3	13,6/21,19
P DEĞERİ	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Gruplar Arasında Yüzde Değişimi

YDİY, sIgAD ve kontrol grubu yüzde değişimleri açısından karşılaştırıldığında IL-4 ve IL-10'da anlamlı farklılık saptandı.



* YDİY ve KONTROL gruplarının % değişimleri karşılaştırıldığında IL4 ve IL10'da anlamlı farklılık saptandı

** sIgAD ve KONTROL gruplarının % değişimleri karşılaştırıldığında IL4'de anlamlı farklılık saptandı

TARTIŞMA

Selektif IgA eksikliği (slgA); sekretuar IgA yokluğu ve serum IgA düzeyinin 5 mg/dl altında olması ile karakterize bir hastalıktır. Primer immun yetersizliklerin en sık görülen formudur. Sıklığı ortalama 1/600-1/700 olarak bildirilmiştir (1). Dolaşımda B hücre sayısı normal olduğundan IgA sentezinde veya salınmasında bir defekt olabileceği düşünülmektedir. Altıncı kromozomun kısa kolunun 21. segmentinde bulunan genin slgAD eksikliğine neden olduğu bildirilmiştir (5).

Yaygın Değişken İmmun Yetmezlik; hipogamaglobulinemi, antikor yapımında bozukluk ve tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonla karakterize genetik orijini tam olarak bilinmeyen bir hastalık grubudur. Çoğu vaka sporadiktir, ancak ailevi kalıtım %25 vakada görülebilir (36). YDİY'li hastaların soyağaçlarının analizi sonucu bir kısım hastada kalıtım şeklinin otozomal dominant olduğu gösterilmiştir. Genetik kalıtım sonucu farklı aile bireylerinde farklı immun yetersizlikler görülebilmektedir (66).

Hastaların %10'unun birden fazla aile bireyinde YDİY ya da YDİY geni ile ilişkili bir immun yetmezlik (IgA eksikliği) görülebilir. SlgA eksikliği ve YDİY arasında yakın bir genetik ilişki mevcuttur. Vaka çalışmaları sonucu YDİY ve slgA eksikliği olan hastaların, kromozom 6'da, MHC bölgesinde, sınıf II ve III alelleri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (67). Büyük ve çok sayıda etkilenen bireyleri olan bir ailede 3 kuşak boyunca yapılan genetik incelemeler sonucunda

MHC sınıf III bölgesinde YDİY geni için potansiyel bir bölge bulunmuştur (68). Yapılan başka bir çalışmada ise çeşitli derecelerde etkilenmenin görüldüğü 101 aile çalışmaya dahil edilmiş ve MHC sınıf II bölgesinde hastalıktan sorumlu bir bölge tanımlanmıştır (69). YDİY'li hastalarda, şu ana kadar gösterilen monojenik defektler (19-20); Aktive T hücrelerinin indüklenebilir co-stimülatörü (ICOS) (21-22), Transmembran aktivatörü ve Ca- modülatörü ve siklifilin ligand (TACI) (23-24), tümör nekrozis faktör ailesi B-hücre aktive edici faktör (BAFF) ve reseptörü (BAFF-R) (25), CD19 eksikliğidir (25-26). Ancak bu bilinen patolojiler hastalığı oluşturan sebeplerin %10'unu oluşturmaktadır.

YDİY'li immunolojik bozukluğun B hücresi ile sınırlı olmadığı; T hücreleri ve monosit-makrofajlarında bu hastalıkta rol oynadığı, antijen sunumunda ve B-hücre yardımında bozukluk olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. YDİY'li hastaların B hücrelerinin in vitro anti-CD40 ya da IL-4 ile uyarı sonucunda immunglobulin üreten plazma hücrelerine dönüşebildiği gösterilmiştir (63).

CD40/CD40L etkileşiminin, B-hücrelerinin çoğalması, farklılaşması ve izotip dönüşümünde önemli rolü bilinmektedir (28, 52, 54,55, 68, 69). Bu hastaların bir kısmında CD40L protein ekspresyonunun azaldığı bu durumun ise etkisiz sinyal iletimine ve T-B hücre etkileşiminde bozukluğa neden olduğu gösterilmiştir (64).

Hala etiyojisi karanlık olan CVID ve slgAD eksiklikli hastalarda aktive CD4 T hücreleri üzerindeki ekspresyonunun CD40L patogenezdaki rolünü aydınlatmaya yönelik daha önce yaptığımız bir çalışmada hem YDİY'li, hem de slgA eksikliği olan hasta gruplarında CD40L ekspresyon düzeyleri kontrol grubuna göre farklı bulunmadı (70). Bu durum YDİY ve slgA eksikliği olan hastaların aktive lenfositlerinin normal CD40L ekspresyonuna sahip olduğunu göstermekle birlikte CD40-CD40L fonksiyonları hakkında bilgi vermez. Nitekim M.Farrington ve ark.'nın yaptığı çalışmada YDİY'li hastaların aktive

lenfositlerinde CD40L ekspresyonu detaylı olarak incelenmiştir (64).Bu çalışmada YDİY'li hastaların aktive lenfositlerinde eksprese edilen CD40L mRNA düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük (hastaların %42'sinde) olduğu saptanmıştır. CD40'ın solubl formunun bağlanması ile T hücresinde fonksiyonel CD40L ekspresyonu belirlenmiştir. Azalmış CD40L mRNA düzeylerine sahip hastalarda fonksiyonel CD40L ekspresyonu düşük bulunurken, normal CD40L m-RNA düzeylerine sahip hastalarda normal bulunmuştur (67,72,73). **YDİY'li hastaların, yapısal olarak mevcut ancak fonksiyonel olarak bozuk bir CD40 ligandına sahip olabileceği gösterilmiştir (70,72,74).**

Bu düşünceden yola çıkarak ortak genetik özelliğe sahip olduğu düşünülen ve etiyolojileri tam aydınlatılamamış olan YDİY'li ve slgA eksikliği olan hastalarda, T hücre fonksiyonlarını değerlendirmek üzere in vitro TH1/TH2 sitokin salınımını sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırdık.

Son yıllarda YDİY'li hastalarda primer T-hücre defekti olduğu görüşü daha benimsenmiştir ve bu görüş T ve B hücre lenfosit alt gruplarının ve fonksiyonlarının in vitro analizine dayanır. Her ne kadar YDİY'li hastaların çoğu normal T-hücre sayısına sahipse de, lenfositlerin in vitro mitojen ya da spesifik antijen ile uyarıya beklenen yanıtı verememesi sonucu T-lenfositlerde fonksiyonel defekt olduğu düşünülmüştür. Hasta lenfositlerinin in vitro mitojen ya da spesifik antijene yanıtları yeterli değildir (29-30). Yine YDİY'li hastaların lenfosit kültürleri in vitro çeşitli ajanlarla uyarıldığında; IL- 2, IL- 4, IL- 5, IFN-gama gibi bazı interlökin salınımlarında belirgin azalma olduğu gözlenmiştir (31 - 32).

Başka bir çalışma da ise bir grup YDİY'li hastanın T hücrelerinin in vitro uyarı sonucunda yeterince sitokin salgılayamadığı bulunmuştur. Bu durum B hücrelerini yeterince aktive edemeyen T hücre disfonksiyonuna ve B hücrelerinin immunglobulin salgılayan plazma hücrelerine dönüşmemesindeki soruna işaret edebilir (64).

Hayvan çalışmalarında B hücrelerindeki yetmezliğin nedeni plazma hücrelerinden sekretuar IgA farklılaşmasını sağlayan IL-4, IL-6, IL-7 ve IL-10 gibi sitokinlerin eksikliği gösterilmiştir (71).

Bizim çalışmamızda hem YDİY'li hasta grubunun kendi arasında ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TH1/TH2 salınımında anlamlı farklılık olduğu saptandı. YDİY'li hasta grubunda lenfositler uyarıldığında IL-10 düzeylerinde belirgin artış gözlemlendi. Bu da bize artmış inflamatuvar sürecin sonucunda veya TH1 sitokin salınımındaki bir bozukluğa ikincil olarak IL-10'un yüksek olabileceğini düşündürdü. Ayrıca; istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da YDİY'li hasta grubunda IL-2 düzeyinin bazal seviyede saptanması TH1 sitokin yanıtında bir bozukluk olabileceği savını destekler yöndeydi (IL-10 proenflamatuvar sitokin sentezini ve kronik enflamasyonu baskılayarak antienflamatuvar bir etki gösterir). Bizim çalışmamızda SIgAD grubunda ise uyarı sonrası YDİY grubunda olduğu gibi kontrole kıyasla IL-4 düşük saptandı. YDİY'li hasta grubunda lenfositler uyarı sonrasında kontrole kıyasla azalmış IL-2, IL-4 salınımları saptandı. Bu da literatürle uyumluydu.

Çalışma verilerimiz YDİY'li hastalar ve ortak genetik özelliğe sahip slgA eksikliği olan hastalarda yapısal olarak mevcut, ancak fonksiyonel olarak bozuk olabilecek CD40L'in B hücre üzerindeki CD40 ile etkileşimi sonrasında anormal sitokin salınımı, immunglobulin yapım ve dönüşüm kusurunun ortaya çıkabileceği düşünülmüştür. Bu hastalarda T ve B hücre fonksiyonundaki daha ileri araştırmalar çok büyük olasılıkla primer defektlerin anlaşılmasını sağlayacak ve bu hastalar için ek tanı ve tedavi yaklaşımlarının bulunmasına yol açarak immun sistemin çalışması konusuna katkıda bulunacaktır.

SONUÇ

YDİY'li hastaların ve ortak genetik özelliğe sahip slgA eksikliği olan hastaların aktive T hücrelerindeki fonksiyonel yetersizliği olan CD40L' ın B hücre yüzey reseptörü olan CD40 ile yetersiz etkileşimi sonucunda, bu hastalarda görülen anormal sitokin salınımı, immunoglobulin yapım ve dönüşüm kusuruna yol açabileceği fikriyle bu çalışma planlanmıştır.

Sonuç olarak YDİY ve slgA eksikliği olan hasta gruplarında gözlenen IL-4 düşüklüğünün hipogamaglobulinemi ve Ig dönüşümündeki defekte yol açabilecek bir sebep olabileceği şeklinde yorumlandı. YDİY'de IL-10 yüksekliğinin azalmış proinflamatuvar sitokin yanıtına sekonder olarak ya da artmış inflamatuvar süreçten dolayı yükselmiş olabileceği düşünüldü.

KAYNAKLAR

1. Primary immunodeficiency diseases. Report of a WHO scientific group WHO. Clin Exp Immunol 1997; 159:6236-6241.
2. Hammarström L, Smith CIE. Genetic approach to common variable immunodeficiency and IgA deficiency. In: Ochs H, Smith CIE, Puck J. Primary immunodeficiency disease a molecular and genetic approach. Oxford: Oxford University Press 1999;250-262.
3. Aittoniemi J, Koskinen S, Laippala P, Laine S, Miettinen A. The significance IgG subclasses and mannan-binding lectin (MBL) for susceptibility to infection in apparently healthy adults with IgA deficiency. Clin exp immunol 1999;116:505-508.
4. Cunningham-Rundles C. Physiology of IgA and IgA deficiency. J Clin Immunol 2001;21:303-9.
5. Quartier P. IgA deficiency. Arch Pediatr 2001;8(6):629-633.
6. Ferreira A, Garcia Rodriguez MC, Lopez-Trascasa M, Pascual Salcedo D, Fontan G. Anti-IgA antibodies in selective IgA deficiency and in primary immunodeficient patients treated with gamma-globulin. Clin Immunol Immunopathol 1988;47(2):199-207.
7. Cuccia-Belvedere M, Monafò V, Martinetti M, Plebani A, De Paoli F, Burgio GR. Recurrent extended HLA haplotypes in children with selective IgA deficiency. Tissue Antigens 1989;34(2):127-132.
8. Burgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic F, Huber H, Lentze MJ, Nussle D, Raymond-Berthet. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. C. Arch Dis Child 1991;66(8):941-947.

9. Camilleri JP, Moore RH, Griffiths DF, Williams BD. Selective IgA deficiency associated with glomerulonephritis and oligoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1992;51(1):123-125.
10. Cerutti F, Urbino A, Sacchetti C, Palomba E, Zoppo M, Tovo PA. Selective IgA deficiency in juvenile-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *Pediatr Med Chir* 1988;10(2):197-201.
11. Cunningham-Rundles C. Hematologic complications of primary immune deficiencies. *Blood Rev* 2002;16(1):61-64.
12. Chapel HM, Webster ADB, Assessment of the immune system. Ochs HD, Smith CIE, Puck JM. Primary immunodeficiency diseases. A molecular and genetic approach. Oxford: Oxford University Press 1999;419-431.
13. Truedsson L, Baskin B, Pan Q, Rabbani H, Vorechovsky I, Smith CIE, Hammarström L. Genetics of IgA deficiency. *APMIS* 1995;103:833-842.
14. Hammarström L, Smith CIE, Berg U. Captopril induced IgA deficiency. *Lancet* 1991;336:436.
15. Halliwell B; Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med* 1992;119(6):598-620.
16. Cunningham-Rundles C. Common Variable immunodeficiency. In: Stiehm ER, Ochs HD, Winkelstein JA, eds. *Immunologic Disorders in Infants and Children*. 5th ed. Elsevier; 2004, p.374-80
17. Nijenhuis T, Klasen I, Weemaes CM, et al. Common Variable immunodeficiency (CVID) in a family: an autosomal dominant mode of inheritance. *Neth J Med* 2001; 59:134-9.
18. Jin H, Webster AD, Vihinen M, et al. Identification of Btk mutations in 20 unrelated patients with X-linked agammaglobulinemia (XLA). *Hum Mol Genet* 1995; 4:693-700.
19. Castigli E, Geha RS. Molecular basis of common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:740-6.
20. Kopecky O, Lukesova S. Genetic defects in common variable immunodeficiency. *Int J Immunogenet* 2007; 34:225-9.
21. 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.

22. Salzer U, Maul-Pavicic A, Cunningham-Rundels C, et al. ICOS deficiency in patients with common variable immunodeficiency. *Clin Immunol* 2004; 113: 234-40.
23. 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.
24. Garibyan L, Lobito AA, Siegel RM, et al. Dominant-negative effect of the heterozygous C104R TACI mutation in common variable immunodeficiency (CVID). *J Clin Invest* 2007; 117:1550-7.
25. Goldacker S, Warnatz K. Tackling the heterogeneity of CVID. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5:504-9.
26. van Zelm MC, Reisli I, van der Burg M, et al. An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD 19 gene. *N Engl J Med* 2006; 354:1901-12.
27. Knight AK, Radigan L, Marron T, et al. High serum levels of BAFF, APRIL, and TACI in common variable immunodeficiency. *Clin Immunol* 2007; 124:182-9.
28. Sarantopoulos S, Stevenson KE, Kim HT, et al. High levels of B-cell activating factor in patients with active chronic graft-versus-host disease. *Clin Cancer Res* 2007; 13:6107-14.
29. Jaffe JS, Eisenstein E, Sneller MC, Strober W. T-cell abnormalities in common variable immunodeficiency. *Pediatr Res* 1993;33(Suppl).24-28.
30. North ME, Webster ADB, Farrant J. Defects in proliferative responses of T cells from patients with common variable immunodeficiency on direct activation of protein kinase C. *Clin Exp Immunol* 1991;85:198-201.
31. Kruger G, Welte K, Ciobanu N, Cunningham-Rundles C, Ralph P, Venuta S, Feldman S, Koziner B, Wang CY, Moore MAS, Mertelsmann R. Interleukin-2 correction of defective in vitro T-cell mitogenesis in patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 1984;4:295-303.
32. Sneller MC, Strober W. Abnormalities of lymphokine gene expression in patients with common variable immunodeficiency. *J Immunol* 1990;144:3762-3769.

33. Farrington M, Grosmaire LS, Nonoyama S, Fischer SH, Hollenbaugh D, Ledbetter JA, Noelle RJ, Aruffo A, Ochs HD. CD40 ligand expression is defective in a subset of patients with common variable immunodeficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:1099-1103.
34. Gordon J, Millsum MJ, Guy GR, Ledbetter JA. Synergistic interaction between interleukin 4 and anti-Bp50 (CDw40) revealed in a novel B cellm restimulation assay. *Eur J Immunol*.1987;17:1535-1538.
35. Pastorelli G, Roncarolo MG, Touraine JL, Rousset F, Pene J, De Vries JE. Interleukin-4 suppresses immunoglobulin production by peripheral blood lymphocytes of patients with common variable immunodeficiency (CVI) induced by supernatants of Tcell clones. *Clin Exp Immunol* 1989;78:341-347.
36. Hermaszewski RA, Webster ADB. Primary hypogammaglobulinemia: A survey of clinical manifestations and complications. *QJ Med* 1993;86:31-42.
37. Ricardo U, Sorenson MD, Cleveland Moore MD. Antibody deficiency syndromes. 2000;47(6):1225-1252.
38. Cunningham-Rundles C. Clinical and immunologic analyses of 103 patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 1989;9:22-33.
39. Hausser C, Virelizer JL, Buriot D. Common variable hypogammaglobulinemia in children: Clinical and immunologic observations in 30 patients. *Am J Dis Child* 1983;137:833-837
40. Dukes RJ, Rosenow EC, Hermans PE. Pulmonary manifestations of hypogammaglobulinemia. *Thorax* 1978;33:603-607.
41. Samuelson A, Borelli S, Gustafson R. Characterization of Haemophilus influenzae isolates from the respiratory track of patients with bprimary antibody deficiencies: Evidence for persistent colonizations. *Scand J Infect Dis* 1995;27:303-313.
42. Hammarrstrom L, Smith CIE. Genetic approach to common variable immunodeficiency and IgA deficiency. In Ochs HD, Smith CIE, Puck JM. *Primary Immunodeficiency Diseases: A Molecular and Genetic Approach*. New York, Oxford University Press 1999;205-262.
43. Fasano MB. Risk and benefit of intravenous immunoglobulin treatment in children. *Curr Opin Pediatr* 1995;7:688-694.

44. Buehring I, Friedrich B, Schaaf J, Schmidt H, Ahrens P, Zielen S. Chronic sinusitis refractory to Standard management in patients with humoral immunodeficiencies. *Clin Exp Immunol* 1997;109:468-472.
45. Sicheer SH, Winkelstein JA. Primary immunodeficiency diseases in adults. *JAMA* 1998;279:58-61.
46. Lewkonja RM, Gairdner D, Doe WF. IgA deficiency in one of identical twins. *Br Med J* 1976;1:311-313.
47. Fasano MB, Sullivan KE, Sarpong SB. Sarcoidosis and common variable immunodeficiency. Report of 8 cases and review of the literature. *Medicine* 1996;75:251-261.
48. Kinlen LJ, Webster ADB, Bird AG. Prospective study of cancer in patients with hypogammaglobulinemia. *Lancet* 1985;1:263-266.
49. Cunningham-Rundles C, Siegal FP, Cunningham-Rundles S. Incidence of cancer in 98 patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 1987;7:294-299.
50. Stites DP, Terr AI. *Basic and Clinical Immunology*. Appleton-Lange. 7th ed. 1991;78-86
51. Kılıçturgay K. *İmmunolojiye giriş*. Güneş Kitabevi, Bursa, 3. basım, 2003;113-151
52. Taga K, Tosato G. IL-10 inhibits human T cell proliferation and IL-2 production *J Immunol* 1992 ;148:1143-1148
53. Fresno M, Kopf M, Rivas L. Cytokines and infectious disease. *Immunol Today* 1997;18:56-58
54. Paul WE, Seder RA. Lymphocyte responses and cytokines. *Cell* 1994;76:241-251
55. Fickenscher H, Hör S, Küpers H et al. The IL-10 family of cytokines. *Trends Immunol* 2002;23:89-95
56. Murray HW. Interferon-gamma and host antimicrobial defense: current and future clinical applications. *Am J Med* 1994;271:1948-1952

57. Vorechovsky I, Plebani A, Webster ADB, Hammarstrom L. Genetic Linkage of IgA deficiency to the major histocompatibility complex: Evidence for allele segregation distortion, parent of origin penetrance differences and the role of anti-IgA antibodies in disease predisposition. *Am J Hum Genet* 1999;64:1096-1109.
58. Hammarstrom L, Vorechovsky I, Webster ADB. Selective IgA deficiency (SIgAD) and common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Exp Immunol* 2000;120:225-231
59. Schroeder HW, Zhu ZB, March RE, Campbell RD, Berney SM, Nedospasov SA, Turetskaya RL, Atkinson TP, Go RC, Cooper MD, Volanakis JE. Susceptibility locus for IgA deficiency and common Variable immunodeficiency in the HLA-DR3,-B8, -A1 haplotypes. *Mol Med* 1998; 4:72-86.
60. Vorechovsky I, Cullen M, Carrington M, Hammarström L, Webster ADB. Fine Mapping of IGAD1 in IgA Deficiency and Common Variable Immunodeficiency: Identification and Characterization of Haplotypes Shared by Affected Members of 101 Multiple-Case Families. *J Immunol* 2000;164:4408-4416
61. Consortium TMS: Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *Nature* 1999;401:921-3.
62. Webster ADB: Common variable immunodeficiency. *Immunol and Allergy Clinics of North America*. 2001;1-21
63. Nonoyama S, Farrington ML, Ishida H, Howard m, Ochs HD. Activated B cells From patients with common variable immunodeficiency proliferate and synthesize immunoglobulin. *J Clin Invest* 1993; 92:1282-1287
64. Farrington M, Grosmaire LS, Nonoyama S, Fischer SH, Hollenbaugh D, Ledbetter JA, Noelle RJ, Aruffo A, Ochs HD. CD40 ligand expression is defective in subsets of patients with common variable immunodeficiency. *Proc Nat Acad Sci* 1994;91: 1099-1103
65. Armitage RJ, Fanslow WC, Strockbine L, Sato TA, Clifford KY, Macduff BM, Anderson DM, Gimpel SD, Davis-Smith T, Maliszewski CR, Clark EA, Smith CA, Grabstein KH, Costman D, Spriggs MK. Molecular and biological characterization of a murine ligand for CD40. *Nature* 1992;357,80-82.
66. Hollenbaugh D, Grosmaire L, Kullas CD, Chalupny NJ, Braesch-Andersen S, Noelle RJ, Stamenkovic I, Ledbetter JA, Aruffo A. The Human T cell antigen gp39, a member of the TNF gene family, is a Ligand for the CD40 receptor: Expression of a soluble form of gp39 With B cell co-stimulatory activity. *EMBO J* 1992;11:4313-4321

67. Spriggs MK, Armitage RJ, Stockbine L, Clifford KY, Macduff BM, Sato TA, Maliszewski CR, Fanslow WC. Recombinant human CD40 ligand Stimulates B cell proliferation and immunoglobulin E secretion. *J Exp Med* 1992;176:1543-1550.
68. Clark EA, Ledbetter JA. Activation of human B B cells mediated through two distinct cell surface differentiation antigens, Bp 35 and Bp 50 *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986; 83 :4494-4498
69. Clark EA, Lane PJ. Regulation of human B-cell activation and adhesion. *Annu Rev Immunol* 1991;9:97-127
70. Yaygın değişken immünyetmezlik ve selektif IgA eksikliğinde, lenfositlerde CD40 Ligand ekspresyonunun araştırılması. Mehmet Kezer Uzmanlık Tezi Bursa 2004.
71. Second joint meeting of the clinical immunology society and the clinical immunology committee of the international union of immunological societies *Clin Immunol*. 1999 Jan;90(1):152.
72. Aruffo A, Farrington M, Hollenbaugh D, Li X, Milatovich A, Nonoyama S, Bajorath J, Grosmaire LS, Stenkamp R, Neubauer M, Roberts RL, Noelle RJ, Ledbetter JA, Francke U, Ochs HD. The CD40 ligand, gp39, is defective in activated T cells from patients with Xlinked hyper IgM syndrome. *Cell* 1993;72:291-300.
73. Reinherz EL, Cooper MD, Schlossman SF, Rosen FS. Abnormalities of T cell maturation and regulation in human beings with immunodeficiency disorders. *J Clin Invest*. 1981;68:699-705.
74. DiSanto JP, Bonnefoy JY, Gauchat JF, Fischer A, de Saint Basile G. CD40 ligand mutations in X-linked immunodeficiency with hyper-IgM. *Nature* 1993;361:541-543.

ÖZGEÇMİŞ

03 Ekim 1976 Trabzon doğumluyum. İlkokul öğrenimimi Trabzon 100. Yıl İlkokulu'nda tamamladım. Trabzon Cumhuriyet Ortaokulu ve Trabzon Lisesi'ni bitirdikten sonra 1995 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandım. 2001 yılında Tıp Fakültesi eğitimimi tamamladıktan sonra 2003 Nisan TUS sınavında başarılı olarak Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Pediatri ihtisasını yapmaya hak kazandım. Evli ve üç çocuk babasıyım.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında yetiŐmem ve mesleki ilerlemem için bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tđm hocalarıma, tezime ve eğitimime yaptığı katkılarından dolayı tez danıŐmanım sayın Prof. Dr. S. Şebnem KILIÇ'a, Doç Dr. Barbaros ORAL'a, Uzm Dr. Biyolog Ferah BUDAK'a, Laboratuar teknisyeni Figen AYMAK'a, Dr. Yasin KARALI'ya, asistan arkadaşlarıma, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen aileme, her tđrlđ fedakarlık őrneđi gōstererek benim ilemi çeken biricik eŐime ve bana ihtiyaçları olduğu durumda yanlarında olamadığım canım ocuklarım İclal, Azra ve Semih Necati'ye çok teŐekkđr eder, Őđkranlarımı sunarım.

