

İmmünolojide Prenatal Tanı

Sara Şebnem Kılıç

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji Bilim Dalı, Bursa, Prof.Dr.

Primer immün yetmezlik hastalıkları, primer ya da doğumsal immün yetmezlik bozuklukları sonucunda gelişen kronik, tekrarlayan özellikte da yineleyen bakteriyel, fungal, protozoal ve viral enfeksiyonlarla seyreden hastalıklar grubudur. Gelişmiş ülkelerde toplumda olası görülme oranı 1/10.000 ile 1/100.000 arasında değişmektedir (2,3). Akraba evliliğinin sık görüldüğü ülkemizde tam insidansı bilinmemekle birlikte, özellikle otozomal resesif geçiş gösteren immün yetmezliklerin daha sık görülmesi beklenmektedir.

Doğumsal hastalıklar genellikle erken çocukluk döneminde başlayıp, morbidite ve mortaliteye yol açmaktadır. Bu nedenle erken tanı yaşam kurtarıcı olabileceği gibi, uzun vadede yaşam kalitesinin artırılmasını, genetik danışma ya da prenatal tanıyı olanaklı kılmaktadır.

Ağır kombine immün yetmezlik (SCID)

Ağır kombine immün yetmezlik sendromu (SCID), humoral ve hücrel immünitede yetmezlikle karakterize heterojen kalıtım gösteren bir grup hastalığı temsil eder. Farklı genetik nedenlere bağlı ortaya çıkabilen, T ve/veya B lenfosit sayı ve fonksiyonlarında bozuklukla karakterize bir primer immün yetmezlik hastalığıdır. X'e bağlı ya da otozomal resesif geçiş gösterebilir. Görülme sıklığı 1/50.000- 1/100.000 canlı doğumdur (1). Prenatal tanı, ailede ağır kombine immün yetmezlik öyküsü varlığında mutlaka yapılmalıdır.

Fetal kanda T hücrelerin bulunmadığının gösterilmesi, ağır kombine immün yetmezlik prenatal tanısında yardımcı bir yöntem olabilir. Linch ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada SCID'li 3 fetusun T hücre sayısı 100 mm³ den azken, immunolojik açıdan sağlıklı 12 fetusda bu değer 2500 /mm³ bulunmuştur (4).

SCID'in etiopatogenezinde rol oynayan faktörler arasında adenozin deaminaz (ADA) enzim yetersizliği, Ác sitokin reseptör zincir yetersizliği, Janus Kinaz 3 (Jak 3) bozukluğu, IL-7 reseptör zincir (IL-7 R) bozukluğu, Artemis gen defekti, rekombinaz aktive edici genler 1 ve 2 (RAG 1-2) bozukluğu ve CD 45 gen mutasyonu sayılabilir (5).

Adenozin deaminaz (ADA) enzim yetersizliği ve pürin nükleozid fosforilaz eksikliği:

Adenozin deaminaz (ADA) enzim yetersizliği ve pürin nükleozid fosforilaz eksikliğinin olduğu SCID tiplerinde prenatal tanı amniyosentez, koryonik villus örnekleri ve fetal hücre kültürlerinin analizi ile mümkün olmaktadır. Fetal eritrositlerde azalmış ADA aktivitesi ve artmış dATP seviyeleri görülmüştür (2,3).

Di George sendromu

Di George sendromu yaklaşık 1:4000 canlı doğumda görülen konjenital bir hastalıktır. Klinik olarak hastalığın semptomları hastadan hastaya bariz değişiklikler göstermekle beraber bu hastalarda tipik bir yüz görünümünün yanı sıra sıklıkla doğumsal kalp problemleri, hipoparatiroidizm ve hücrel immün yetmezliğe bağlı tekrarlayan ağır enfeksiyonlar görülür (6). Di George sendromlu hastalarının büyük çoğunluğunda genetik tanı sitogenetik bir tanı yöntemi olan FISH (Fluorescent in-situ hybridization) tekniği ile 22. kromozomdaki delesyonun saptanması ile konur (22q11) (7). Ancak interfaz (quick) FISH ile delesyonun saptanması halinde metafaz yaymada 22. kromozomu içeren bir translokasyonun taranması gerekebilir. Hastalığın patogenezinden sorumlu gen 22q11.2 bölgesinde yer alan Tbx1 dir. Tbx1 gen ürünü, açık yazılımlı T-Box 1, bir transkripsiyon faktörü olarak aslında kontrolü altında tuttuğu birçok genin fonksiyonunu modifiye etmektedir(8). Ancak Tbx1'in bilhassa timus bezinin normal gelişimi için gerekli olduğu bilinmektedir. Di George sendromu hastalarında bu genin silinmesi sonucu timus yetmezliği geliştiği ve bu sebeple T-hücrelerine bağlı immün cevabın hastalarda hiçbir zaman tam oluşmamasından dolayı tedavi edilmesi zor ağır enfeksiyonlar görüldüğü düşünülmektedir.

Di George sendromu sıklıkla de-novo gelişen bir anomaliye bağlı olduğundan, bu sendromunda prrdiktif analiz veya taşıyıcılık testlerinin yeri yoktur. Ancak hasta çocuk sahibi ebeveynlerin mükerrer gebeliklerinde FISH yöntemi ile kromozomal delesyon analizi prenatal tanı amacıyla amniosentez yoluyla alınan fetal hücreler üzerinde de uygulanabilir.

Eğer FISH tekniği ile 22q11 delesyonu saptanın ancak hastaya klinik olarak veya aile öyküsüne göre velokardio fasiyal sendrom (VCF) tanısı konursa bu ailelere ayrıca genetik danışmanlık hizmeti verilmeli ve akraba evliliklerinden kaçınılması önerilmelidir (9). Zira VCF sendromunun görülme insidansı her 2,000 canlı doğumda bir (1:2.000) olmakla beraber yarı damak olgularında bu sıklık 1:12 (%8) dir.

X'e bağlı geçen agammaglobulinemia-XLA (Bruton Hastalığı):

Ogden Bruton tarafından 1952 yılında tanımlanmış ilk primer immün yetmezlik hastalığıdır. Serum immunglobulinleri son derece düşük, antikor yapımı bozuktur (10-14). B hücreleri son derece düşük olan veya saptanamayan bu hastalarda enfeksiyonlar, anneden geçen Ig G yapısındaki antikorların tükendiği dönemde (6-9 aylıkken) başlamaktadır. Hastaların %20 'sinde ise bulgular 3-5 yaşından sonra başlamaktadır. Bu hastalarda yaygın olarak antibiotik kullanımı ile tanı gecikmekte ve akciğerlerde kalıcı hasarlar meydana gelmektedir. Tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar sonucunda gelişen bronşiektazi en sık görülen klinik komplikasyon olup daha fazla orta ve alt akciğer loblarında yer almaktadır. Daha az görülen komplikasyonlardan olan kronik, konjoktivit, giardia, malabsorpsiyon, persistan enteroviral enfeksiyonlara bağlı kronik meningoensefalit yaşam kalitesi prognozu belirleyen faktörler arasında yer

almaktadır . Periferik lenf nodları ve tonsiller fizik muayenede saptanamamakta veya çok küçük olarak bulunmaktadır. Hastalığın tedavisinde aylık immunglobulin tedavisinin yanında dönüşümlü olarak antibiyotikler kullanılmaktadır (14-21)

Prenatal tanıda fetal kanda B hücrelerin bulunmadığının gösterilmesi yada koriyon villüs biyopsi örneğinde btk gen mutasyonu araştırılır.

Otozomal Resesif Agamaglobulinemiler

μ ağır zincir gen mutasyonları: B hücre yokluğu ile giden immün yetmezlikler içinde Btk gen bozukluğundan sonra en sık rastlanan genetik bozukluktur. İ ağır zincir geni 14. kromozomda yer almaktadır. Bu hastalarda tüm immunoglobulinler düşüktür ve genetik geçiş otozomal resesiftir. Pro-B hücre sayıları normalken, pre-B hücreleri belirgin olarak azalmıştır.

Hastaların klinik bulguları btk gen bozukluğu olanlara büyük benzerlik göstermektedir. Ancak bazıları daha erken yaşta klinik bulgu verip hastalığın seyri daha ciddi olabilmektedir. Hastanın şikayetleri 4 aylıkken başlayabilmekte; ağır pnömoni, otit, gastroenterit, enteroviral ensefalit ile vakalar kaybedilebilmektedir (22,23).

Prenatal tanıda fetal kanda B hücrelerin bulunmadığının gösterilmesi yada koriyon villüs biyopsi örneğinde İ ağır zincir gen mutasyonu araştırılır.

λ 5 eksikliği: λ5 pro-B hücrelerinde ekspres edilmektedir. Eksikliğinde pre-B hücre sayısı azalmıştır. λ5 pre-BCR kompleksinin oluşumunda görevlidir. Hastalığın kliniğinde sık bakteriyel enfeksiyonlar mevcuttur. Prenatal tanıda fetal kanda B hücrelerin bulunmadığının gösterilmesi yada koriyon villüs biyopsi örneğinde λ5 gen mutasyonu araştırılır (24,25).

Ig α ve Igβ , eksikliği: Ig α (CD79a)ve Ig β (CD82) pre-B hücre evresinde sinyal iletiminde önemli moleküllerdir ve eksikliğinde pre-B hücrelerinde ciddi azalma saptanır. Genetik geçiş otozomal resesiftir. Ig α ve Igβ sinyal iletimi görevinin yanında, λ ağır zincirinin B hücre yüzeyine taşınmasında önemlidir. Hastalarda tekrarlayan ishal ve bronşit atakları yanında büyüme ve gelişme geriliği de görülebilmektedir. Prenatal tanıda fetal kanda B hücrelerin bulunmadığının gösterilmesi yada koriyon villüs biyopsi örneğinde sorumlu mutasyonunun ortaya konması gibi yöntemler kullanılır (26).

BLNK eksikliği: BLNK (B linker protein) B hücrelerinde sinyal ileten bir protein olup eksikliği pek az vakada bildirilmiştir. Pro B hücre sayısı normal ancak pre-B hücre sayısı azalmıştır. Hastalarda gelişme geriliği ve sık tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar görülebilmektedir. Prenatal tanıda fetal kanda B hücrelerin bulunmadığının gösterilmesi yada koriyon villüs biyopsi örneğinde BLNK gen mutasyonu veya sorumlu proteinin varlığı araştırılır (22).

Kronik granüloamatöz hastalık: Kronik granüloamatöz hastalık (KGH) 1:200.000 sıklıkta görülen; sık tekrarlayan cilt, akciğer, kemik, lenf nodu ve karaciğerin yaşamı tehdit eden enfeksiyonları ile karakterize bir hastalıktır. Mortalite sıklığı yılda % 2–5% tir. Kronik granüloamatöz hastalık ilk defa 1954 yılında tanımlanmıştır. Epitelial yüzeylerde (deri, akciğer,ve gastrointestinal sistem) tekrarlayan enfeksiyonlara yol açmaktadır. Lenfadenit,deri apseleri, pnömoni, hepatomegali, osteomyelit, sepsis ve içi boş organ çıkışında obstrüksiyon hastalığın klinik bulgularındandır. Katalaz(+) mikro-organizmalar (S. auerus, Klebsiella, Burkholderia cepacia, Serratia) en sık enfeksiyon yapan ajanlardır. Canlılarda fagosite edilen mikro-organizmaların respiratuar burst ile öldürülme olayını NADPH oksidaz enzimi katalize eder. NADPH oksidaz enzimi süperoxide radikalleri oluşturarak hücre içi mikro-organizmaların öldürülmesini sağlar. Kronik granüloamatöz hastalıkta bu enzimde defekt olduğundan mikro-organizmalar respiratuar burst ile öldürülemez.

KGH'da prenatal tanı fetal kan nötrofillerinde NAPH oksidaz aktivitesine bakılarak yapılabilir. Ancak fetal kan gebeliğin 16-18 haftasında elde edilebildiğinden, günümüzde daha fazla amniyon mayideki hücrelerden veya koriyon villüs biyopsi materyelinden elde edilen DNA örneğinde genetik tanı verilmektedir. Eğer aileye ait mutasyon bilinmiyorsa RFLP yöntemi ile genomik DNA örneğinde kısmi yda komplet gen delesyonları saptanabilir (27).

Fagosit fonksiyon bozuklukları: Fagositler sistem bozukluklarında kalıtım genellikle otozomal resesif yada X'e bağlı resesiftir. Prenatal tanıda kromozom analizi, RFLP, biyokimyasal analizler, gen ürün tayini ve fetal kan fagosit fonksiyonlarının değerlendirilmesi yer almaktadır. Chediak higashi sendromlu hastalarda fagositlerde veya deri melanositlerde dev lizozomal granüllerin görülmesi tanı koydurucudur (28). Bu amaçla alınan fetal kan örneğinde fagositlerde dev lizozomal granüllerin görülmesi prenatal tanı açısından geçerli bir yöntemdir. Lökosit adezyon veya IL12,1 defektinde prenatal tanı fetal kan örneğinde yapılabilmektedir (27). Metabolik depo hastalıklarında kord kanı lökositlerinde veya amniyon mayi hücrelerinden yapılan hücre kültürlerinde lizozomal enzim aktivitesi ölçülebilir.

Prenatal tanı yöntemleri ile genetik patolojisi saptanan ciddi immün yetmezliği olan vakalarda terapotik abortus veya intrauterin kök hücre nakli önerilmektedir.

Kaynaklar

1. Abrams M, Paller A. Genetic immunodeficiency diseases. Adv Dermatol. 2007;23:197-229.
2. Buckley RH. Primary cellular immunodeficiencies. J Allergy Clin Immunol. 2002 ;109(5):747-57
3. Report of an IUIS Scientific Committee. Primary immunodeficiency diseases. Clin Exp Immunol 1999; 118 (Suppl.1):1-28.
4. Linch DC, Levinsky RJ, Rodeck CH, Maclennan KA, Simmonds HA. Prenatal diagnosis of three cases of severe combined immunodeficiency: severe T cell deficiency during the first half of gestation in fetuses with adenosine deaminase deficiency. Clin Exp Immunol. 1984; 56(2):223-32
5. Marodi L, Notarangelo LD. Immunological and genetic bases of new primary immunodeficiencies. Nat Rev Immunol. 2007;7(11):851-61.
6. Jawad AF, McDonald-McGinn DM, Zackai E, Sullivan KE. Immunologic features of chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). J Pediatr 2001;139:715-23.
7. Tobias ES, Morrison N, Whiteford ML, Tolmie JL. Towards earlier diagnosis of 22q11 deletion. Arch Dis Child 1999; 81: 513-14.
8. Vitelli F, Morishima M, Taddei I, Lindsay EA, Baldini A. Tbx1 mutation causes multiple cardiovascular defects and disrupts neural crest and cranial nerve migratory pathways. Hum Mol Genet. 2002;11:915-22.
9. Demczuk S, Aurias A. DiGeorge syndrome and related syndromes associated with 22q11.2 deletions. Ann Genet 1995; 38: 59-76.
10. Tsukada S, Rawlings DJ, Wittle ON. Role of Bruton's tyrosine kinase in immunodeficiency. Curr Opin Immunol 1994; 6:623.
11. Sideras P, Smith CIE. Molecular and cellular aspects of X-linked agamaglobulinemia. Adv Immunol 1995; 59: 135-223.

12. Sideras P, Müller S, Shields H et al. Genomic organization of mouse and human Bruton's agammaglobulinemia tyrosine kinase (btk) loci. *J Immunol* 1994;153: 5607-17.
13. Vihinen M, Brandau O, Branden LJ et al. BTKbase, mutation database for X-linked agammaglobulinemia (XLA). *Nucleic Acids Res* 1998; 26: 242-7.
14. Conley ME, Mathias D, Treadaway J, Minegishi Y, Rohrer J. Mutations in btk in patients with presumed X-Linked Agammaglobulinemia. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1034-1043.
15. Holinski-Feder E, Weiss M, Brandau O et al. Mutation screening of the btk gene in 56 families with X- Linked Agammaglobulinemia (XLA): 47 unique mutations without correlation to clinical course. *Pediatrics* 1998; 101: 276-284.
16. Jo EK, Kanegane H, Nonoyama S, et al. Characterization of mutations, including a novel regulatory defect in first intron, in Bruton's tyrosine kinase gene from seven korean X-linked agammaglobulinemia families. *J Immunol* 2001; 167: 4038-45.
17. Saffran DC, Parolini O, Fitch-Hilgenberg ME, Rawlings DJ, Afar DE, Witte ON. Brief report: a point mutation in the SH2 domain of Bruton tyrosine kinase in atypical X-linked agammaglobulinemia. *N Eng J Med* 1994; 330 : 1488-1491.
18. Hashimoto S, Tsukada M, Matsushita T et al. Identification of Brutons tyrosine kinase (Btk) gene mutations and characterization of the derived proteins in 35 X-linked agammaglobulinemia families : a nationwide study of Btk deficiency in Japan. *Blood* 1996; 88: 561-573.
19. Gaspar HB, Lester T, Levinsky RJ and Kinnon C. Bruton's tyrosine kinase expression and activity in X-linked agammaglobulinemia (XLA): the use of protein analysis as a diagnostic indicator of XLA. *Clin Exp Immunol* 1998; 111: 334-338.
20. Futatani T, Miyawaki T, Tsukada S et al. Deficient expression of Bruton's tyrosine kinase in monocytes from X-Linked Agammaglobulinemia as evaluated by a flow cytometric analysis and its clinical application to carrier detection. *Blood* 1998; 91(2): 595-602.
21. Futatani T, Watanabe C, Baba Y, Tsukada S and Ochs HD. Bruton's tyrosine kinase is present in normal platelets and its absence identifies patients with X-linked agammaglobulinemia and carrier females. *Br J Haematol* 2001;114: 141-149.
22. Gaspar HB, Conley ME. Early B cell defects. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 383-389.
23. Yel L, Minegishi Y, Coustan-Smith E et al. Mutations in the mu heavy- chain gene in patients with agammaglobulinemia. *N Eng J Med*, 1996; 335:1486-93.
24. Meffre E, LeDeist F, de Saint-Basile et al. A human non-XLA immunodeficiency disease characterized by blockage of B cell development at an early proB cell stage. *J Clin Invest* 1996; 7: 1519-1526.
25. Minegishi Y, Coustan-Smith E, Wang YH et al. Mutations in the human μ 5/14.1 gene result in B cell deficiency and agammaglobulinemia. *J Exp Med* 1998; 187: 71-77.
26. Minegishi Y, Coustan-Smith E, Rapalus L et al. Mutations in Ig- (CD79a) result in a complete block in B-cell development. *J Clin Invest* 1999; 104:1115-1121.
27. Malech HL, Hickstein DD. Genetics, biology and clinical management of myeloid cell primary immune deficiencies: chronic granulomatous disease and leukocyte adhesion deficiency. *Curr Opin Hematol*. 2007;14(1): 29-36.
28. Barrat F J, Auloge L, Pastural E, Lagelouse R D, Vimler E, Cant A J, Weissenbach J, Le Paslier D, Fischer A, de Saint Basile G. Genetic and physical mapping of the Chediak-Higashi syndrome on chromosome 1q42-43. *Am J Hum Genet* 1996; 59:625-33.