

## KRONİK İTP'Lİ ÇOCUKLARDA YÜKSEK DOZ İVİG TEDAVİSİ SONRASI T LENFOSİT CEVABI

Nevin YALMAN\*, Semâ ANAK\*, Ülker ÖNEŞ\*\*, Işık YALÇIN\*\*,  
Hülya BİLGİN\*, Gündüz GEDİKOĞLU\*

L.Ü. Tıp Fak. Çocuk Sağ. ve Hast. Hematoloji - Onkoloji Bilim Dalı, Bizim Lösemili Çocuklar Vakfı\*,  
L.Ü. Tıp Fak. Çocuk Sağ. ve Hast. Allerji İmmunoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı\*\*.

### ÖZET

*Kronik idiyopatik trombositopenili (KrİTP) 8 çocukta ve sağlıklı 10 kontrolde, hücresele immünite ile intravenöz immunoglobulin (İVİG) tedavisiyle gösterdiği değişiklikler araştırıldı. Lökosit ve lenfositlerde anlamlı bir fark bulunamazken, % T lenfosit değerleri, Kr. İTP'lilerde düşük bulundu ( $0.001 < p < 0.01$ ) % T supresör lenfositler ise kontrollere göre yüksek olmasına karşın fark anlamlı değildi. 8 Kr İTP'li hastalara İVİG 1 gr/kg/günx5 uygulamasından sonra immunoglobulin G'de anlamlı bir artış bulunurken ( $p < 0.001$ ), IgM, IgA, IgE, lökosit, lenfosit, T lenfositlerde bir fark yoktu ( $p > 0.05$ ). % T supresör lenfosit değerlerinde ise anlamlı bir düşme görüldü (TÖ:  $50.3 \pm 14.8$ , TS:  $37.2 \pm 10.7$ , ( $0.001 < p < 0.01$ ).*

**Anahtar sözcükler:** İdiyopatik trombositopenik purpura, supresör T Lenfosit

### SUMMARY

*T-lymphocyte subpopulation changes were surveyed in 8 chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) patients and 10 controls after high-dose intravenous immunoglobulin (IVIG) treatment. Initially there were no significant difference in white blood cells (WBC), lymphocyte counts, but T-lymphocytes % were significantly lower in chronic ITP patients ( $0.001 < p < 0.01$ ), while T % suppressor lymphocytes were higher compared to controls, but the difference was not significant. 8 chronic ITP patients received IVIG 1 gr/kg/dayx5 and when immunoglobulin levels were compared to the initial levels, there was a significant rise in IgG levels ( $p < 0.001$ ) but not a significant difference in the IgM, IgA, IgE, WBC, lymphocyte, T-lymphocyte levels ( $p > 0.05$ ). But there was a significant decrease in the T % suppressor lymphocyte levels (Before treatment  $50.3 \pm 14.8$  % after treatment  $37.2 \pm 10.7$  % ( $p < 0.01$ ).*

**Key words:** Idiopathic thrombocytopenic purpura, suppressor T-lymphocyte

Kr. İTP, dolaşan kanda anti-trombosit antikorların ve/veya trombosit yüzeylerinde fikse antikorların saptanabildiği otoimmün bir hastalıktır. Bu, IgG izotipine ait antikorlarla kaplı olan otolog trombositler IgG'lerin Fc bölümlerine uyan reseptörler yolu ile splenik

makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Trombosit otoantikorların değişik metotlarla ölçümü ve tespiti İTP tanısına yardımcı olabilir, ancak değerlerin, tedavi-prognoz ilişkisindeki yeri açık değildir. Yine de İTP'li hastalarda aktif fazda immunolojik bozukluklar gösterilmiş ve Steroid,

Danazol gibi tedavi yöntemleri ile normale döndürülebilmektedir(1-4). Tedavide, Imbach'ın ITP'li çocuklarda yüksek doz intravenöz immunglobulin (IVIg) uygulaması ile trombosit sayısında hızlı artışı gösterdiği çalışmasından sonra IVIg uygulaması hem akut hem kronik ITP'de alternatif bir tedavi yöntemi olarak yaygın kullanım alanına girmiştir. IVIg'in RES'in aşırı ve geçici blokajını sağlayıcı etkisi yanında nonspesifik B hücre cevabında azalma, otoantikörlere karşı spesifik anti idyotipler ile otoimmün cevabın supresyonu, hücreyel immunitede değişiklik gibi immun regultuar etkileri de vardır(2). Bu çalışmamızda, steroid ve immunsupressif tedavi ile cevap alamadığımız Kr. ITP'li hastalarımızda IVIg uygulaması öncesi/sonrası trombositlerdeki kalitatif değişiklikler ve immun yanıtın araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Ist.Üniv. Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı. Bizim Lösemili Çocuklar Vakfı Sağlık Kuruluşunda takip ve tedavi edilen 8 Kr. ITP'li çocuk hasta ve kontrol grubu olarak da yaş ve cinsi uygun 10 sağlıklı çocuk bu çalışmaya alınmıştır.

6 aydan uzun süre steroid ve/veya immunsupressif tedavi ile remisyona girmemiş, peteşi, ekimoz, epistaksis gibi semptomları devam eden, trombosit sayısı  $50.000/mm^3$ 'ün altında olan ve Kr. ITP tanısı almış 8 hastaya IVIg 1gr/kg/gün 5 gün süreyle verilmiş ve tedavi

önce ve sonrası trombosit sayısı, serum immunglobulin IgG, IgM, IgA, IgE düzeyleri, lökosit sayısı lenfosit sayısı, % T lenfosit düzeyini veren spontan Rozet testi, T lenfosit alt gruplarında % T supresör lenfosit değerini göstermek amacı ile teofilinli E Rozet testi yapılarak, aşağıdaki formüle göre inhibisyon yüzdesi= % T supresör lenfosit düzeyleri araştırılmıştır(1,13).

$$\text{inhibisyon yüzdesi} = \frac{E + Et}{E} \times 100 = T$$

supresör lenfosit yüzdesi

Spontan Rozet ve teofilinli E Rozet testleri Ist. Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı İmmunoloji laboratuvarında yapılmıştır (5,6). Çalışmamızda, Kr. ITP'li hastalarda tedavi öncesi ile sonrası değerlerin birbirleri ve kontrol grubuyla karşılaştırılmasında Student t testi kullanılmıştır(7). Ortalamalar, standart deviasyon değerleri ile verilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 8 Kr. ITP'li olgudan 4'ü erkek, 4'ü kızdı. Yaş ortalamaları  $12,2 \pm 2,9$ , (Dağılım: 8 yaş-15 yaş), hastalık başlangıç yaş ortalaması  $7,3 \pm 3,6$  (Dağılım 3 yaş-12 yaş) ve hastalığın devam süresi  $4,8 \pm 3,1$  (Dağılım 3 sene-10,5 sene) idi. Tüm olgular Metil-prednizolon Azathiopirin, Cyclophosphamid gibi immunsupressif ilaçlarla yanıt alınamayan Kr. ITP'li hastalardı. Trombosit değerleri Ort:  $21825 \pm 14422 \times 10^6/L$  idi. 5 gün IVIg (1 gr/kg/gün) uygulaması sonrası tüm olgularda trombosit değerleri Ort:

220.000±75403x10<sup>6</sup>/L (Dağılım 120.000-350.000x10<sup>6</sup>/L) a yükseldi. Başlangıç değerleriyle fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.001). Hastaların IVİG tedavi öncesi ile sonrası serum immunglobulin değerleri karşılaştırıldığında IgG (T.Ö. ort: 943.5±279.8mg/dl, T.S. ort: 2030±502.7mg/dl)

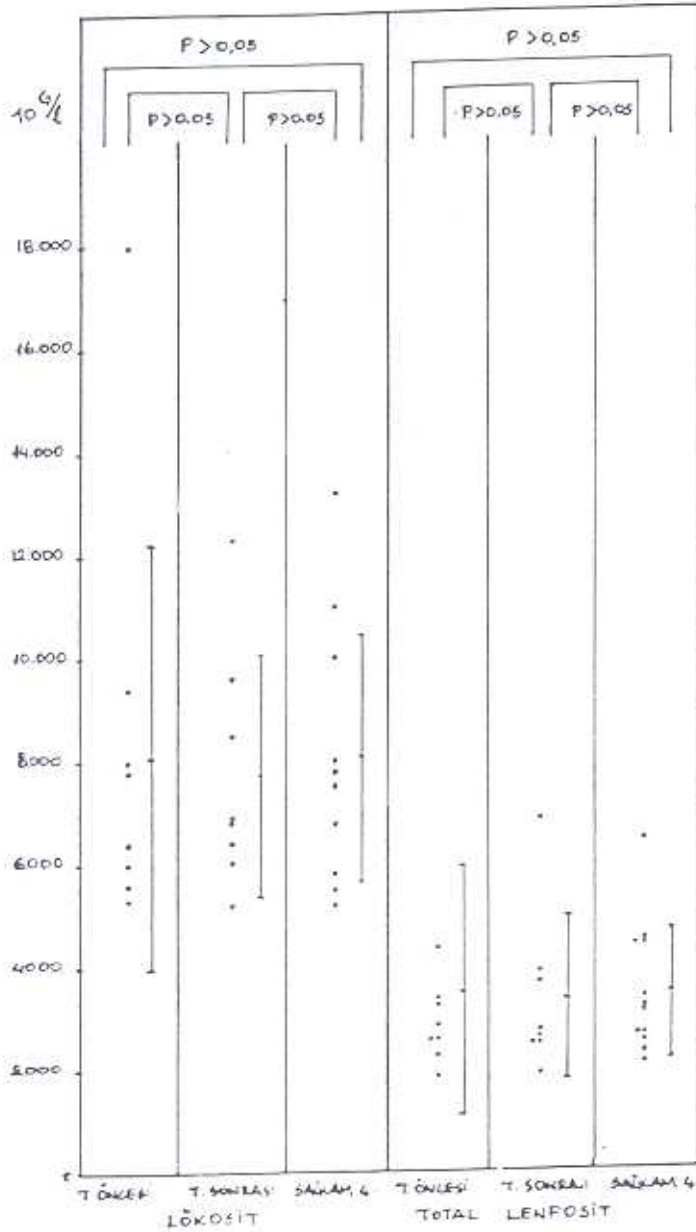
anlamlı bir yükselme göstermekteydi (p<0.001). Ancak IgM (T.Ö. Ort: 210±89.7mg/dl, T.S. Ort: 255±107.7mg/dl, IgA (T.Ö. Ort: 145.3±54.6mg/dl, T.S. Ort: 166.1±86.9mg/dl, IgE (T.Ö. Ort: 74.8±84.8 iü/ml, T.S. Ort: 73.2±74.4iü/ml değerlerinde istatistiksel olarak fark yoktu (p>0.05) (Tablo I).

Tablo I. Kr. ITP'li olgularda IVİG tedavi önce ve sonrası serum immunglobulin değerleri.

IVİG ile	IgG mg/dl (X±SD)	IgM mg/dl (X±SD)	IgA mg/dl (X±SD)	IgE iü/ml (X±SD)
Tedavi öncesi	943.56 ± 279	210 ± 89	145 ± 54	74 ± 84
Tedavi sonrası	2030 ± 502	255 ± 107	166 ± 86	73 ± 74
	p<0.001	p>0.05	p>0.05	p>0.05

Kr. ITP'li hastaların lökosit değerlerinde (T.Ö. Ort: 8062.5±4140x10<sup>6</sup>/L, T.S. Ort: 7725±2325x10<sup>6</sup>/L) tedavi sonucu anlamlı fark görülmedi. Bu değerler sağlam çocukların değerleri ile (Ort: 8033±2373x10<sup>6</sup>/L karşılaştırıldığında da fark anlamsızdı (p>0.05)

(Tablo II). Olguların mutlak lenfosit değerleri (T.Ö. Ort: 3478±2428x10<sup>6</sup>/L, T.S. Ort: 3318±1584x10<sup>6</sup>/L ve kontrol grubundaki sağlam çocukların mutlak lenfosit değerleri (3442±1249x10<sup>6</sup>/L karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamadı (p>0.05) (Şekil 1).



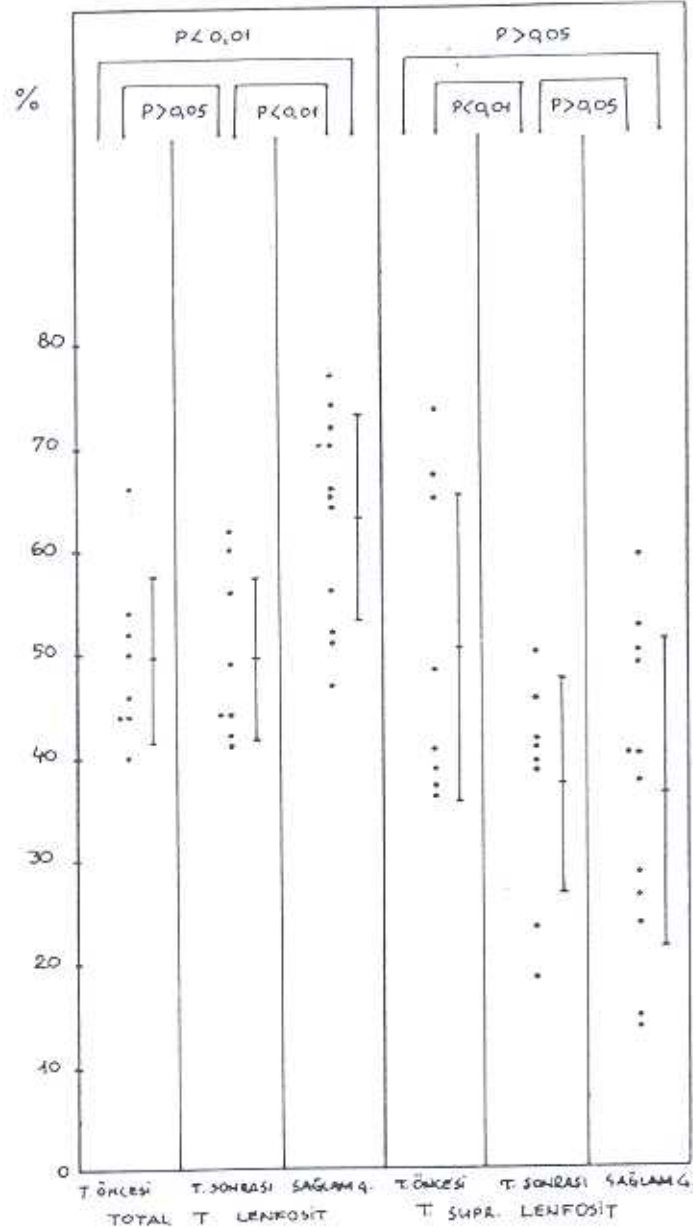
Şekil 1 : Kr. ITP li olguların IVIG tedavi öncesi ve sonrası lökosit, lenfosit değerlerinin birbirleri ile ve sağlam kontrollerle karşılaştırılması.

% T lenfosit değerleri T.Ö.  $4.9.5 \pm 8.1$ , T.S.  $52.7 \pm 8.4$  bulundu, fark anlamsızdı ( $p > 0.05$  ). Ancak bu değerler sağlam ço-

cuklarındaki  $63.6 \pm 9.8$  ile karşılaştırıldığında ileri derecede düşük bulundu ( $p < 0.01$ ) (Şekil 2).

% T supresör lenfosit değerlerinde T.Ö. %50.3±14.8, T.S. %37.23±10.7 düşme gözlemlendi. Bu düşme istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıydı ( $0.001 < p < 0.01$ ). Bu

değerler sağlam çocukların değerleri ile karşılaştırıldığında (% T supr. lenfosit 36.2±15.1) istatistiksel olarak fark bulunamadı ( $t=2.05, p>0.05$ ) (Şekil 2).



Şekil 2. Kr. ITP'li olguların IVIG tedavisi öncesi ve sonrası % T lenfosit, % T supresör lenfosit değerlerinin birbirleri ile sağlam çocukları ile karşılaştırılması.

8 olgunun tümü IVIG tedavisine yanıt gösterdiler, ancak bunlardan 7'sinde trombosit sayısında ortalama 5 ay içinde tekrar düşme gözlemlendi ( $100.000 \times 10^6/L$ ), bu nedenle 4 olguda ileri dönemde splenektomi uygulanırken, 3 olguda steroid tedavisine tekrar başlandı, 1 olgunun ise trombosit sayısı  $120 \times 10^9/L$  üzerinde kaldı ve bugüne kadar hiç ilaca gereksinim duyulmadı.

### TARTIŞMA

Otoimmün trombositopenik purpurada, klinik ve laboratuvar özellikleri ile nonspesifik immunglobulin ve anti trombosit aktivitesi gösteren spesifik otoantikörlerin aşırı yapımı söz konusudur. Bu hastaların serumlarında, komplemanı fikse eden IgG antikörleri supresör lenfosit fonksiyonlarını inhibe etmekte ve böylece anti trombosit aktiviteli otoantikörlerin artmış üretimini göstermektedir(8).

Macintosh'da(1) İTP'li çocuk hasta ve yakın aile fertlerinde özellikle yetersiz supresör hücre aktivitesini kapsayan regülatuar T lenfosit anormalliklerini tespit etmiştir(2).

Buna karşın Shannon(9) akut ve kronik İTP'li 12 çocukta lenfosit supgruplarını incelemiş, kontrollerle karşılaştırdığında ise, anlamlı bir fark bulamamıştır.

Delfraissy(10) ise kronik İTP'li hastaların T supresör hücre fonksiyonlarında bozukluk bulmuş, ancak T supresör lenfosit oranında, kontrollerle karşılaştırdığında anlamlı bir fark bulamamıştır.

Mylvaganam(11,12), akut İTP'li hastaların lenfosit fenotipik analizlerinde kadınlarda daha belirgin olarak yüksek bulduğu T supresör lenfosit değerlerinin Danazol tedavisiyle ve remisyonda iken normale indiğini göstermiştir. Mylvaganam 1988'de de kronik İTP'li hastalarda yaptığı immun sistem tetkikinde total T ve T yardımcı lenfositlerinde düşme yanında, T supresör lenfositlerinde artış bulurken, T lenfosit fonksiyonlarında (PHA, Con A, PWM mitojenlerine cevap) belirgin azalma saptamıştır. B lenfosit oran ve fonksiyonlarında ise bir özellik bulmamıştır.

Biz, çalışmamızda 8 kr. İTP'li çocuk hastada yaptığımız immunolojik araştırmada Mylvaganam'e (12) benzer şekilde T lenfosit yüzdesini anlamlı şekilde düşük bulduk. T supresör lenfositleri ise kontrollere göre yüksek olmakla beraber fark anlamsızdı ( $p > 0.05$ ). Ancak T helper lenfositleri ile lenfosit fonksiyonlarını ölçemediğimizden supresör hücre aktivitesini gösteremedik.

Bazı araştırmacılar total T lenfositlerindeki azalmayı T yardımcı lenfosit alt grubunun azlığına bağlamakta ( $CD_4/2 H_4+$ ), bunun yanında T helper lenfosit grubunun PHA ve Con A ya daha fazla cevap verdiği, azalmış mitojenik cevapta T helper lenfosit azlığının etkin olduğunu belirtmekte ancak, azalmış mitojenik cevap ile total T, T helper lenfosit azalması, T supresör lenfosit artışı (fonksiyon bozukluğu) arasında linear bir ilişki gösterememektedirler. Bu

nedenle azalmış blastojenik cevap, interlökin 2 (IL-2) nin ekspresyonu ve sekresyonu gibi diğer defektif faktörlere bağlanmaktadır. Kısacası ITP'li hastaların aktif fazındaki anormal T hücre cevabı plazma faktörleri yanında, T lenfositlerindeki intrinsek bir defekte de bağlanmaktadır (12).

IVIg'nin immun sistem üzerine olan regülatuar etkisi multifaktoryeldir ve supresyonun stimülasyonu, natural killer (NK) fonksiyonun azalması, Fc reseptörlere modülasyon ile antijen prezentasyonun interferensi ve idyotipik net work'un regülasyonu ile (2). IgG molekülün Fc kısmının nonspesifik olarak supresör hücre fonksiyonunu indüklediği bilinmektedir. Yine anti-idyotipik antikorlar, antijen-antikor nötralizasyonu üzerinden lenfosit sayı ve fonksiyonuna direkt etki ile immun olayı modüle etmektedir (2).

Dammaco(13), erişkin 8 ITP'li hastaya IVIG (400 mg /kg/gün, 5 gün) uygulayıp lenfosit subgruplarını araştırdığında, T lenfosit oranında değişim olmadan T<sub>4</sub> helper lenfositlerinde düşme, T<sub>8</sub> supresör lenfositlerinde de anlamlı artış buldu.

Macey(14) 15 Kr. ITP li hastada IVIG (400mg/kg/gün, 5 gün) uygulayıp, CD<sub>4</sub> helperinducer (CD<sub>4</sub> 4B<sub>4</sub> +) hücrelerinde azalma, CD<sub>8</sub>+CD<sub>11</sub> + supresör hücrelerinde azalma, CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranında anlamlı bir düşme ile T hücreye bağlı B hücre stimülasyonu ve immünglobulin yapımında azalma buldu.

Böylece IVIG tedavisinin immunsupresif etkisini göstermiş oldu.

Delfraissy(10) ise erişkin 7 Kr. ITP'li hastada Con A'ya karşı supresör hücre fonksiyonunu ve T lenfosit subgruplarını incelediğinde, IVIG (400 mg/kg/gün, 5 gün) verildikten sonra T lenfosit subgruplarında herhangi bir değişiklik olmadan, supresör lenfosit fonksiyonlarında düzelme saptamış ve IVIG'nin, immun cevabı supresör hücre fonksiyonunu artırarak modüle ettiğini belirtmiştir.

Biz 8 Kr. ITP'li çocukta IVIG vererek incelediğimiz total lenfosit ve total T lenfosit sayısında değişiklik bulamadık; ancak bazı çalışmalardan farklı olarak %T supresör lenfosit değerlerinde anlamlı bir düşme gördük (0.001 < p < 0.01). Bu tedavi sonrası değerler, sağlam kontrol olguların değerlerine yaklaşıyordu.

ITP tedavisinde kullanılan bazı ajanlar da immun sistemi etkilemektedir (3,11). Bunların arasında steroid, danazol ve vinblastin de sayılabilir. Mylvaganam da(11) Kr. ITP'li kadın hastalarda danazol tedavisi almış ve remisyona girmiş olgularda %T supresör lenfosit oranını aktif ITP'li hastalara göre düşük bulmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda, IVIG tedavisinin immun regülasyonu, immun sistemi modüle etme özelliği gösterilmiştir ve sonuçlar literatür bilgisiyle karşılaştırılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. McIntosh S, Johnson C, Hartigan P, Baumgarten A, Dwyer JM. Immunoregulatory abnormalities in children with thrombocytopenic purpura. *J Pediatr* 1981; 99: 525-530.
2. Newland, A.C. Macey, M.G. Veys, P.A.O.: Intravenous immunoglobulin: mechanisms of action and their clinical application In: Imbach, P., ed: Immunotherapy with intravenous immunoglobulins, San Diego: Proceedings of a conference held at interlaken 6-9 May 1990. Academic Press, 1991; 15-25.
3. Schreiber AD, Chien P, Tomaski A, Cines DB. Effect of Danazol in immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1987; 316: 503-8.
4. Stuart, M.J. Kelton, G.J.: The platelet, quantitative and qualitative abnormalities In: Nathan, D.G. Oski, F.A., Ed. Hematology of infancy and childhood, Third edition Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1987; 1343-1478.
5. Brain P, Gordon J, Wilets WA. Rosette formation by peripheral lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 1970; 6: 681.
6. Shore A, Dosch HM, Gelfand EW. Induction and separation of antigen dependent T helper and suppressor cells in man. *Nature* 1978; 274: 586.
7. Öztamak K. Biyoistatistik Ist. Ed Bilim ve Teknik Yayınevi. İstanbul 1985.
8. Hymes KB, Karpatkin S. In vitro suppressor T lymphocyte dysfunction in autoimmune thrombocytopenic purpura associated with a complement-fixing antibody. *Br J Haemat* 1990; 74: 330-335.
9. Shannon KM, Buchanan GR, Fink CW, Stastny P. Lymphocyte populations in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. *AJDC* 1984; 138: 64-65.
10. Delfraissy JF, Tchernia G, Laurian YI, Wallon C, Galanaud P, Dormont J. Suppressor cell function after intravenous gamma-globulin treatment in adult chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haemat* 1985; 60: 315-322.
11. Mylvaganam R, Ahn YS, Harrington WJ, Kim CI, Gratzner HG. Differences in T cell subsets between men and women with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1985; 66: 967-972.
12. Mylvaganam R, Garcia RO, Ahn YS, Sprinz PG, Kim CI, Harrington WJ. Depressed functional and phenotypic properties of T but not B lymphocyte in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1988; 71: 1455-1460.
13. Dammaco F, Iodice G, Campobasso N. Treatment of adult patients with intravenous immunoglobulin: Effects on circulating T cell subsets and PWM-induced antibody synthesis in vitro. *Br J Haemat* 1986; 62: 125-135.
14. Macey MG, Newland AC. CD4 and CD8 subpopulation changes during high dose intravenous immunoglobulin treatment. *Br J Haemat* 1990; 76: 513-520.