

FATMA TURGUT KAYNAK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2022

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ERİŞKİN SAĞLIKLI BİREYLERDE ÇOK RENKLİ AKAN
HÜCRE ÖLÇER İLE T VE B LENFOSİT ALT GRUPLARININ
YAŞA ÖZGÜ REFERANS DEĞERLERİNİN
OLUŞTURULMASI**

FATMA TURĞUT KAYNAK

**DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ METİN YUSUF GELMEZ**

**İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI
İMMÜNOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

İTHAF

Sevgili aileme, arkadaşlarıma ve eşime ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez yazım süreci boyunca bana yol gösteren, değerli fikirleri ve bilgi birikimi ile yolumu aydınlatan, her şartta benden desteğini esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Metin Yusuf Gelmez'e;

Bilgi birikimleri ile eğitim sürecime büyük katkıları bulunan hocalarım Prof. Dr. Günnur Deniz'e ve Prof. Dr. Suzan Çınar'a;

Hayatım boyunca beni her durumda destekleyen, haklarını asla ödeyemeyeceğim anneme, babama ve kardeşlerime;

Tüm yüksek lisans ve tez yazım süreci boyunca bana sabır gösteren eşime;

Tez çalışmalarım sırasında bana anlayışla destek olan mesai arkadaşlarımdan tümüne teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2020-37095

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Doğal İmmün Sistem	5
2.2. Edinsel İmmün Sistem	7
2.2.1. B Lenfosit	7
2.2.1.1. B Lenfosit Aktivasyonu	8
2.2.1.2. Antikor çeşitleri ve fonksiyonları	14
2.2.1.3. Hastalıklarda B Lenfositlerin Rolü	15
2.2.2. T Lenfositler	16
2.2.2.1. T Lenfosit Aktivasyonu	18
2.2.2.2. T Lenfosit Alt Grupları	22
2.2.2.2.1. Yardımcı (CD4 ⁺) T Lenfositler	22
2.2.2.2.2. Sitotoksik (CD8 ⁺) T Lenfositler	26
2.2.3. Hastalıklarda T Lenfositlerin Rolü	26
2.2.3.1. Primer İmmün Yetersizlikler (PİY)	28
2.2.3.2. İmmün Yaşlanma	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Gönüllülerin Seçimi	35
3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri	35
3.2. Kan Örneklerinin Temini	36
3.3. Kullanılan Malzemeler	37

3.3.1. Cihazlar ve Kimyasallar	37
3.4. Kullanılacak Monoklonal Antikorların Belirlenmesi	37
3.5. Antikor Titrasyonu ve Kompanzasyon Ayarları	38
3.5.1. Titrasyon Deneyleri	38
3.5.2. Kompanzasyon Ayarları.....	39
3.6. Kontrol (Boyasız) Tüp Kullanımı	41
3.7. T ve B Lenfosit Alt Gruplarının Değerlendirmesi	41
3.8. İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR.....	43
4.1. B Lenfosit Panel Bulguları.....	45
4.2. T Lenfosit Panel Bulguları.....	55
4.2.1. Lenfosit Kapısı Bulguları.....	55
4.2.2. Lenfosit Kapısı İçinde T Lenfosit Bulguları	57
4.2.3. CD3 ⁺ Kapısı T Lenfosit Bulguları	61
4.2.4. CD4 ⁺ Kapısında T Lenfosit Bulguları.....	69
4.2.5. CD8 ⁺ Kapısı T Lenfosit Bulguları	76
5. TARTIŞMA.....	81
KAYNAKLAR	86
ETİK KURUL KARARI.....	94
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	97
ÖZGEÇMİŞ.....	98

TABLÖLAR LİSTESİ

TABLO 2-1:DOĞAL VE EDİNSEL İMMÜN SİSTEM ARASINDAKİ FARKLAR	4
TABLO 2-2: CD4 ⁺ T LENFOSİT ALT GRUPLARI	25
TABLO 4-1: GÖNÜLLÜ GRUPLARI VE GRUPLARA AİT BİLGİLER	44
TABLO 4-2: LENFOSİT KAPISINDA B LENFOSİT ALT GRUP DAĞILIMLARI	49
TABLO 4-3: CD19 ⁺ KAPISINDA B LENFOSİT ALT GRUPLARININ DAĞILIMI.....	51
TABLO 4-4: LENFOSİT KAPISINDA T LENFOSİT ALT GRUP DAĞILIMLARI	60
TABLO 4-5:CD3 ⁺ KAPISINDA T LENFOSİT ALT GRUP DAĞILIMLARI	62
TABLO 4-6:CD3 ⁺ CD4 ⁺ T LENFOSİT ALT GRUP DAĞILIMLARI	70
TABLO 4-7:CD4 ⁺ CD8 ⁺ T LENFOSİT ALT GRUP DAĞILIMLARI	76

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL 2-1: DOĞAL VE EDİNSEL BAĞIŞKILIK SİSTEMİ HÜCRELERİ VE MEDIATÖRLERİ	5
ŞEKİL 2-2: DOĞAL İMMÜN SİSTEM ELEMANLARI	6
ŞEKİL 2-3: B LENFOSİT YÜZEY BELİRTEÇLERİ	7
ŞEKİL 2-4 : NAİF B LENFOSİT GÖÇ YOLU	9
ŞEKİL 2-5: T BAĞIMLI VE BAĞIMSIZ B LENFOSİT AKTİVASYONU.....	10
ŞEKİL 2-6: SOLÜBL ANTİJEN İLE B LENFOSİT AKTİVASYONU	11
ŞEKİL 2-7: B LENFOSİT VE YARDIMCI T LENFOSİT ETKİLEŞİMİ.....	12
ŞEKİL 2-8: B LENFOSİT AKTİVASYON YOLAĞI VE GERMİNAL MERKEZ REAKSİYONLARI	14
ŞEKİL 2-9: T HÜCRE RESEPTÖR ÇEŞİTLERİ.....	17
ŞEKİL 2-10: T LENFOSİT YÜZEY BELİRTEÇLERİ.....	17
ŞEKİL 2-11: CD4 VE CD8 LENFOSİT ASH ETKİLEŞİMİ.....	19
ŞEKİL 2-12: ASH VE T LENFOSİT YÜZEY RESEPTÖRLERİNİN ETKİLEŞİMİ.....	20
ŞEKİL 2-13: ASH İLE ETKİLEŞİM SONRASI T LENFOSİT AKTİVASYONU	21
ŞEKİL 2-14: TREG HÜCRELERİN DENDRİTİK HÜCRE VE T LENFOSİTLERİ BASKILAMA FONKSİYONU	24
ŞEKİL 2-15: PERFORİN VE GRANZİM İLE CD8 SİTOTOKSİK AKTİVİTESİ	26
ŞEKİL 2-16: ULUSLARARASI İMMÜNOLOJİK DERNEKLER BİRLİĞİ TARAFINDA İMMÜN YETERSİZLİKLERİN SINIFLANDIRILMASI	31
ŞEKİL 2-17: ÜLKEMİZDE PRİMER İMMÜN YETERSİZLİK DAĞILIMI.....	32
ŞEKİL 3-1: ANTIKOR TITRASYON DENEYİ	39
ŞEKİL 3-2: FITC VE PE İÇİN EMİSYON SPEKTRUMU	40
ŞEKİL 4-1: B LENFOSİT VE ALT GRUPLARININ KAPILAMA STRATEJİSİ	45
ŞEKİL 4-2: A) LENFOSİT KAPISI KADIN ERKEK VE TOTAL BİREYLERDE CD19 ⁺ , CD19 ⁺ CD27 ⁺ VE CD5 ⁺ CD19 ⁺ LENFOSİT DAĞILIMLARI B) CD19 ⁺ LENFOSİTLERİN YAŞA GÖRE DAĞILIMLARI	50
ŞEKİL 4-3: CD19 ⁺ LENFOSİT KAPISINDA A) KADIN ERKEK VE TOTAL BİREYLERDE TOTAL HAFIZA, NAİF, NON-SWİTCHED VE SWİTCHED B LENFOSİT DAĞILIMLARI, B) CD5 ⁺ CD19 ⁺ VE IGD ⁺ CD27 ⁺ B LENFOSİT DAĞILIMLARI, C) YAŞ GRUPLARINA GÖRE CD27 ⁺ TOTAL HAFIZA B LENFOSİT DAĞILIMLARI, D) YAŞ GRUPLARINA GÖRE CD27 ⁺ IGD ⁺ NAİF B LENFOSİT DAĞILIMLARI.....	52
ŞEKİL 4-4: LENFOSİT KAPISI VE CD3 ⁺ T LENFOSİT KAPILAMA STRATEJİSİ	55

ŞEKİL 4-5: CD4 ⁺ T LENFOSİT KAPILAMA STRATEJİSİ	56
ŞEKİL 4-6: CD8 ⁺ T LENFOSİT KAPILAMA STRATEJİSİ	57
ŞEKİL 4-7: LENFOSİT KAPISINDA A) CD3 ⁺ , CD3 ⁺ CD4 ⁺ , CD4 ⁺ CD31 ⁺ VE CD4 ⁺ CD25 ⁺ T LENFOSİT HÜCRE DAĞILIMLARI, B) CD4 ⁺ VE C) CD8 ⁺ HÜCRELERDE KADIN VE ERKEKLERDE YAŞ GRUPLARI DAĞILIMLARI	60
ŞEKİL 4-8: CD3 ⁺ KAPISINDA KADIN VE ERKEK YAŞ GRUPLARINA GÖRE CD4 ⁺ (A) VE CD8 ⁺ (B) DAĞILIMLARI	66
ŞEKİL 4-9: CD3 ⁺ KAPISINDA ERKEKLERDE VE KADINLARDA TH1 BENZERİ CD3 (A), TH2 BENZERİ CD3 (B) VE TH17 BENZERİ CD3 HÜCRELERİN (C) YAŞ GRUPLARINA GÖRE DAĞILIMI	68
ŞEKİL 4-10: CD4 ⁺ KAPISINDA A) KADIN, ERKEK VE TOTAL BİREYLERDE NAİF, EFEKTÖR HAFIZA, SANTRAL HAFIZA VE T _{EMRA} HÜCRE GRUPLARININ DAĞILIMLARI, B) YAŞ GRUPLARINA GÖRE NAİF VE SANTRAL HAFIZA HÜCRE DAĞILIMLARI C) KADIN VE ERKEK YAŞ GRUPLARINDA RTE HÜCRE DAĞILIMLARI	75
ŞEKİL 4-11: CD4 ⁺ KAPISINDA ERKEK VE KADINLARDA YAŞ GRUPLARINA GÖRE TREG HÜCRE DAĞILIMLARI (A), T _{FH} HÜCRE DAĞILIMLARI (B) VE T _{FR} HÜCRE DAĞILIMLARI (C)	77
ŞEKİL 4-12: CD4 ⁺ KAPISINDA ERKEK VE KADINLARDA YAŞ GRUPLARINA GÖRE TH1 (A), TH2 (B) VE TH17 (C) HÜCRE DAĞILIMLARI	79
ŞEKİL 4-13: CD8 ⁺ KAPISINDA ERKEK VE KADINLARDA YAŞ GRUPLARINA GÖRE NAİF (A), T _{EMRA} (B) VE EFEKTÖR HAFIZA, SANTRAL HAFIZA VE T _{FC} HÜCRE (C) DAĞILIMLARI	81
ŞEKİL 4-14: CD8 ⁺ KAPISINDA ERKEK VE KADINLARNDYA YAŞ GRUPLARINA GÖRE TC1 (A), TC2 (B) VE TC17 (C) HÜCRE DAĞILIMLARI	83

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ADA	Adenozin deaminaz
ADCC	Antikor aracılı hücresel sitotoksitite
AID	Aktivasyonla indüklenen sitidin deaminaz
AKİY	Şiddetli kombine immün yetersizlik
AS	Ankilozan spondilit
ASH	Antijen sunucu hücre
BAP	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
BHR	B hücre reseptörü
BTK	Bruton's Tirozin Kinaz
CCL	C-C kemokin ligand
CCR	C-C kemokin reseptör
CLA	Kutanöz lenfosit ilişkili antijen
COVID-19	Koronavirüs salgını
CR	Kompleman reseptör
CSR	İzotip dönüşümü
CXCR	C-X-C kemokin reseptör
CXCL	C-X-C kemokin ligand
DETAE	Aziz Sancar Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü
ESR	Eritrosit sedimentasyon hızı
FDH	Foliküler dendritik hücre
FRH	Fibroblastik retiküler hücre
GM	Germinal merkez
HEV	Yüksek endotelyal venül
ICAM-1	Hücreler arası adezyon molekülü-1
Ig	İmmünoglobülin
IL	İnterlökin
IPEX	Bağıışıklık düzensizliği, poliendokrinopati, enteropati ve X'e bağlı
ITAM	İmmunoreseptör tirozin bazlı aktivasyon motif
KEH	Kan endotelyal hücre

Lck.	Lenfosit spesifik protein trozin kinaz
LFA-1	Lökosit fonksiyon ilişkili antijen-1
MHC	Majör doku uyumluluk kompleksi
MG	Myastenia gravis
MRH	Marjinal retiküler hücre
MS	Multipl skleroz
NK	Doğal öldürücü
PAD	Ağırlıklı antikor eksiklikleri
PAMP	Patojenle ilişkili moleküler örgü
PİY	Primer immün yetersizlik
PRR	Ortak örgüleri tanıyan reseptör
RAG	Rekombinasyon aktive edici gen
TLR	Toll benzeri reseptör
S1P	Sfingosin-1-fosfat
S1PR1	Sfingosin-1-fosfat reseptörü
SHM	Somatik hipermutasyon
SLE	Sistemik lupus eritematozus
Tc	Sitotoksik T lenfosit
T _{CM}	Merkezi hafıza T lenfosit
T _{EM}	Efektör hafıza T lenfosit
T _{EMRA}	Efektör hafıza-CD45RA T
T _{FH}	Foliküler yardımcı T hücre
T _{FR}	Foliküler regülatör T hücre
Treg	Regülatör T hücre
Th	Yardımcı T lenfosit
THR	T hücre reseptörü
UNG	Urasil DNA glikozilaz
XLA	X'e bağlı Agammaglobulinemi
VKİ	Vücut kitle indeksi
WBC	Beyaz kan hücresi

YDİY	Yaygın değişken immün yetersizlik
ZAP-70	Zeta zincir ile ilişkili protein 70



ÖZET

Turğut Kaynak, F. (2022). Erişkin sağlıklı bireylerde çok renkli akan hücre ölçer ile T ve B lenfosit alt gruplarının yaşa özgü referans değerlerinin oluşturulması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji AD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

İmmün sistem hücrelerinin primer immün yetersizlik (PİY), otoimmünite ve kanser gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol aldıkları bilinmektedir. PİY hastalarına çoğunlukla çocukluk çağında tanı konulmakla birlikte, hastalık belirtilerinin çeşitliliği ve yeni tanımlanan PİY hastalık grupları tanıda gecikmelere ve hastaların uygun tedavi seçeneklerine geç ulaşmasına neden olmaktadır. Son yıllarda düşük maliyeti, hızlı ve güvenilir sonuç vermesi, artan antikor ve floresan çeşitliliği nedeniyle akan hücre ölçer PİY tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Sağlıklı bireylerde T ve B lenfosit alt gruplarının ulusal referans değerlerinin belirlenmesi, hastalardan elde edilen sonuçların doğru değerlendirilmesi için gereklidir. Bu nedenle 20-60 yaş arası, 60 erkek ve 58 kadın olmak üzere 118 sağlıklı erişkin bireyden alınan kan örneklerinde T ve B lenfosit alt grup dağılımları hem cinsiyet hem de yaş grupları açısından akan hücre ölçer ile değerlendirildi. Çalışmamızda, kadınlarda CD3⁺ ve CD4⁺ T lenfosit oranlarının erkeklere göre yüksek olduğu saptandı. Cinsiyet ve yaş farklılıklarının CD4⁺ T lenfosit alt grup dağılımlarını etkilemediği, buna karşın 50-60 yaş grubunda naif CD8⁺ T hücre oranlarının azaldığı, efektör hafıza-CD45RA T (T_{EMRA}) oranlarının arttığı saptandı. Regülatör T (T_{reg}) hücre dağılımının 50-60 yaş bireylerde arttığı belirlendi. 50-60 yaş erkek bireylerde foliküler regülatör T (T_{FR}) hücre oranlarının arttığı, kadınlarda ise foliküler yardımcı T (T_{FH}) hücre oranlarının erkeklere göre azaldığı gözlemlendi. 20-29 yaş grubu kadınlarda yardımcı T (Th)2 ve Th17 yönünde farklılaşmanın daha yüksek olduğu, ileri yaş gruplarında ise bu farklılaşmanın Th1 yönünde arttığı saptandı. Özetle bu çalışmada, sağlıklı erişkin popülasyonunda T ve B lenfosit alt gruplarının hem yaş hem de cinsiyet farklılıklarına ait referans aralıkları oluşturularak verilerin lenfosit alt grup dağılımlarının değerlendirilmesinde kliniğe katkı sunacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: T lenfosit, B lenfosit, Lenfosit alt grupları, Referans değerleri, PİY

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2020-37095

ABSTRACT

Turgut Kaynak, F. (2022). Establishment of age-specific reference values of T and B lymphocyte subsets by multicolor flow cytometry in healthy adults. Istanbul University, Institute of Health Sciences, Aziz Sancar Experimental Medicine Research Institute, Department of Immunology. Master Thesis. Istanbul.

Immune system cells play a role in the pathogenesis of various diseases such as primary immune deficiency (PID), autoimmunity and cancer. The diversity of disease symptoms and newly defined PID disease groups cause delays in the diagnosis of PID. In recent years, flow cytometers have been used in the diagnosis of PID due to their low cost, rapid and reliable results, antibody and fluorescence diversity. Determination of national reference values in T and B lymphocyte subgroups in healthy individuals is necessary for the correct evaluation of the results of the patients. For this reason, T and B lymphocyte subgroup distributions in blood samples taken from 118 healthy adult individuals (60 males and 58 females) aged between 20 and 60 years, were appreciated with a flow cytometer in terms of both gender and age groups. In our study, CD3⁺ and CD4⁺ T lymphocyte cell ratios were found to be higher in females than in males. It was determined that gender and age differences did not affect CD4⁺ T lymphocytes subgroups distribution, however, the ratios of naïve CD8⁺ T cells decreased and effector memory-CD45RA T (T_{EMRA}) ratios increased in the 50-60 age group. It was displayed that the distribution of regulator T (Treg) cells increased in individuals aged 50-60 years. It was observed that follicular regulator T (T_{FR}) cell ratios increased in 50-60 years old males, whereas follicular helper T (T_{FH}) cell ratios decreased in females compared to males. It was showed up that the differentiation in the direction of helper T (Th)2 and Th17 was higher in females aged 20-29, while this differentiation increased in the direction of Th1 in older age groups. In summary, it is thought that our data will contribute to the evaluation of lymphocyte subgroup distributions by establishing reference ranges for both age and gender differences of T and B lymphocyte subgroups in the healthy adult population.

Key Words: T lymphocyte, B lymphocyte, Lymphocyte subsets, Reference values, PID

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. TYL-2020-37095

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vücudumuzu yabancı mikroorganizmalara karşı koruyan, doğal ve edinsel olmak üzere iki savunma hattından oluşan immünite (bağışıklık) terimi latince askerlikten veya vergiden muaf anlamına gelen “immunis” kelimesinden türemiştir.

Doğal immün sistem; fiziksel ve kimyasal bariyerler, kompleman ve diğer enflamatuvar mediatörler gibi kan proteinleri ve doğal öldürücü (NK) hücreler, dendritik hücre, granüositler, makrofaj gibi çeşitli immün sistem hücreleri ile patojene karşı ilk savunma mekanizmasını oluşturur. Edinsel immün sistem, B lenfositler ile humoral, T lenfositler ile hücreyel olmak üzere iki tip immün yanıt oluşturarak doğal immün sistem tarafından elimine edilemeyen patojene karşı ikinci savunma hattını oluşturur.

Doğum sonrası kemik iliğinde hematopoetik kök hücrelerden gelişerek olgunlaşmalarını tamamlayan B lenfositler, naif hücreler olarak lenf noduna göç eder. Antijen ile karşılaşma sonrası aktif hale gelen naif B lenfositler, foliküler yardımcı T (T_{FH}) hücreler ile etkileşim sonrası kısa ömürlü plazma hücrelerine, germinal merkez (GM) B hücrelerine ve efektör hücrelere farklılaşır. GM B hücreleri ikincil lenfoid organlarda B hücre foliküllerinde bulunan GM'lere göç eder ve afinite olgunlaşması geçirerek dönüşmemiş hafıza hücrelerine farklılaşır. GM'de T_{FH} hücreleri ile ikinci kez karşılaşan B lenfositlerde izotip dönüşümü gerçekleşir. B lenfositler dönüşmüş hafıza hücrelerine veya uzun ömürlü plazma hücrelerine farklılaşır ve immünoglobülin (Ig) M tipi antikorlar yerine IgA, IgE veya IgG tipi antikorları sekrete eder.

Kemik iliğinde hematopoetik kök hücrelerden gelişen ve timusta olgunlaşma süreçlerini tamamlayan T lenfositler ikincil lenfoid organlara göç ederler. Burada antijen sunucu hücreler (ASH) tarafından işlenen protein yapıdaki antijen, majör doku uyumluluk kompleksi (MHC) sınıf I ile $CD8^+$ sitotoksik T lenfositlere veya MHC sınıf II ile $CD4^+$ yardımcı T lenfositlere sunulur. ASH ve T lenfosit etkileşimi sonrası çeşitli aktivasyon yolları ile T lenfositlerin proliferasyonu ve farklılaşması gerçekleşir. $CD4^+$ yardımcı T lenfositler çeşitli sitokinler salgılayarak immün sistem hücrelerini uyarır ve ASH'ler tarafından sekrete edilen farklı indükleyici sitokinler ile yardımcı T1 ($Th1$), $Th2$, $Th17$, regülatör T (Treg), T_{FH} ve foliküler regülatör T (T_{FR}) gibi hücrelere farklılaşır. Bu hücreler transkripsiyon faktörleri, sekrete ettikleri sitokinler, yüzey belirteçleri ile birbirlerinden ayrılmaktadır ve farklı fonksiyonlara sahiptirler. $CD8^+$ sitotoksik T lenfositler hücre içi patojenlere ve tümör hücrelerine karşı salgıladıkları perforin ve

granzim gibi sitotoksik enzimler ile yanıt oluşturur. Perforin hedef hücre zarında porlar açarak osmotik basıncı değiştirir. Granzim ise kaspaz yolağını aktif hale getirerek enfekte veya tümör hücreleri apoptoza yönlendirir. Aktivasyon sonrası proliferen olan ve farklılaşan T lenfositler ikincil lenfoid organlarda merkezi hafıza T lenfositlere (T_{CM}) ya da kan ve periferik dokular arasında sirkülasyona katılan efektör hafıza T lenfositlere (T_{EM}) farklılaşır.

İmmün sistem hücrelerinin primer immün yetersizlik (PİY), otoimmünite ve kanser gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol aldıkları bilinmektedir. Bağışıklık sisteminin kendinden olanı tanıma oluşun toleransın bozulması, B ve T lenfosit alt gruplarının fonksiyonel ve moleküler kusurları sonucu otoantikor üretimi, sjögren sendromu, tip 1 diyabet, hashimoto tiroiditi, gibi çeşitli otoimmün hastalıklara neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar, dönüşmemiş ve dönüşmüş hafıza B lenfosit oranlarının sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalarında azaldığını, buna karşın $CD27-IgD^-$ çift negatif B lenfosit ve T_{FH} hücre oranlarının arttığını göstermektedir. Benzer şekilde, multipl skleroz (MS) hastalarında da $CD27-IgD^-$ çift negatif B lenfosit ve T_{FH} hücre oranlarının arttığı, yardımcı T lenfositlerin ise $Th1$ yönünde farklılaştığı bildirilmektedir. Bununla birlikte, MS ve SLE hastalarında $CD4^+ T_{EM}$ hücre oranlarının arttığı, T_{CM} hücre oranlarının ise azaldığı gözlenmektedir. Güncel çalışmalar, Behçet hastalarında T lenfositlerin $Th17$ yönüne farklılaştığını ortaya koymaktadır.

İmmün sistem hücrelerinin sayı ve fonksiyonel kusurları sonrası ortaya çıkan PİY hastalıklarının insidansı 1/10.000 olmakla birlikte otozomal resesif geçiş göstermesi ve ülkemizde akraba evliliklerinin yüksek olması sebebiyle görülme sıklığı daha fazladır. T lenfositlerin timustaki gelişimleri esnasında meydana gelen kusurlar, adenoazin deaminaz (*ADA*), rekombinasyon aktive edici genler (*RAG1*) ve *RAG2* genlerinde meydana gelen mutasyonlar şiddetli kombine immün yetersizlik (AKİY) tablosuna neden olarak hastalarda lenfosit eksikliklerine yol açar. Ayrıca yaygın değişken immün yetersizlik (YDİY) hastalarında dönüşmemiş ve dönüşmüş hafıza B lenfosit oranlarında azalma olduğu ve B hücrelerinin ağırlıklı olarak naif formda olduğu gösterilmektedir. İmmün toleransın korunmasında görevli Treg hücrelerinin transkripsiyon faktörü olan *FoxP3* geninde meydana gelen mutasyonlar sonucu Treg hücre sayısı ve fonksiyon bozuklukları sebebiyle bağışıklık düzensizliği, poliendokrinopati, enteropati ile karakterize X'e bağlı immüdisregülasyon, poiendokrinopati, enteropati (IPEX) sendromu görülmektedir.

PİY hastalarına çoğunlukla çocukluk çağında tanı konulmakla birlikte, hastalık belirtilerinin çeşitliliği ve yeni tanımlanan PİY hastalık grupları tanıda gecikmelere ve hastaların uygun tedavi seçeneklerine geç ulaşmasına neden olmaktadır. PİY tanısında kullanılan genetik tanı testleri, hastalığa özgü mutasyonların tanımlanması ve hastalığın altında yatan moleküler bozuklukların belirlenmesine olanak vermesinin yanı sıra, sadece tanıda değil genetik danışma, risk tespiti ve preimplantasyon için de son derece önemlidir. Ancak genetik testlerin hem uzun sürede sonuçlanması hem de maliyetinin yüksek olması nedeniyle son yıllarda antikör ve floresan çeşitliliği artan, düşük maliyeti, hızlı ve güvenilir sonuç vermesi nedeniyle akan hücre ölçer PİY tanısında rutinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Sağlık bireylerden elde edilen T ve B lenfosit alt grup dağılımlarının belirlenmesi, hastalardan elde edilen sonuçların yorumlanması açısından oldukça önemlidir. Etnik, coğrafya, yaş ve cinsiyet farklılıklarının lenfosit dağılımları üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Farklı ülkelere ait T ve B lenfosit alt grup dağılımlarını gösteren referans çalışmalar bulunmakla birlikte, ülkemizde bu yöndeki çalışmalar oldukça azdır. PİY hastaları için yapılan rutin tetkikler sonrası analiz sonuçlarını yorumlamak ve doğru değerlendirmek için gerekli olan ulusal referans değerlerini, daha geniş sağlıklı erişkin popülasyonunda hem cinsiyet hem de yaş grupları açısından değerlendirerek, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T lenfosit, NK ve CD19⁺ B lenfosit oranlarının dışında Th1, Th2, Th17, Treg, T_{FR} ve T_{FC} hücre oranlarını saptamak çalışmamızın hedef noktası olmuştur. Bu nedenle 20-60 yaş arası 60 erkek ve 58 kadın olmak üzere 118 sağlıklı erişkin bireyden alınan kanlar ile T ve B lenfosit alt gruplarının yaşa özgü referans aralıkları oluşturulmak üzere analiz edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

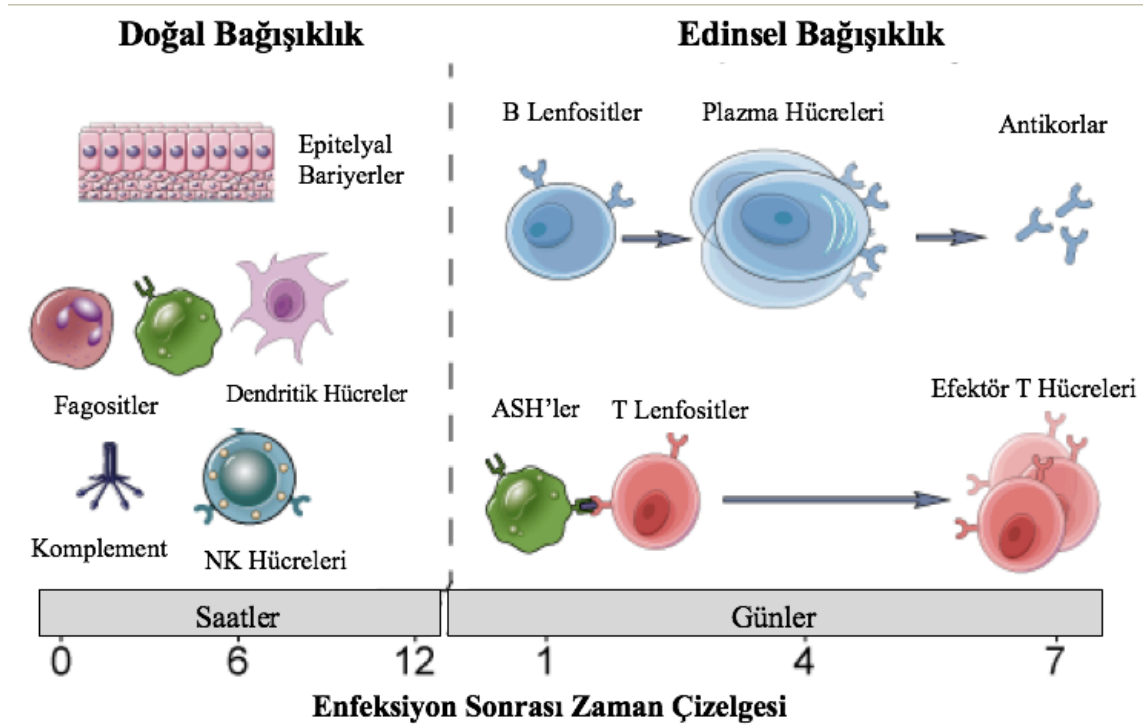
İmmünite terimi latince askerlikten veya vergiden muaf anlamına gelen “immunis” kelimesinden türemiştir [1]. İmmün (bağışıklık) sistem, vücudumuzu virüs, bakteri, mantar ve parazit gibi yabancı mikroorganizmalara ve onların toksik ürünlerine karşı savunur. İmmün sistem, patojen organizmalara karşı ilk savunmayı oluşturan doğal immün sistem ile uzun süreli ve etkin korumayı sağlayan edinsel immün sisteminden oluşur [1, 2].

Doğal immün sistem, edinsel immün sisteme göre patojenlere daha hızlı yanıt oluşturarak patojeni saatler içerisinde elimine eder [3]. Ancak hafıza yanıt geliştiremediği ve doğal bağışıklık reseptörleri klonal farklılaşma göstermediği için enfeksiyonlara karşı spesifik olmayan bir savunma sağlar [4, 5]. Bu nedenle doğal bağışıklık hücreleri antijen ile daha önce karşılaşmış olsa dahi ilk karşılaşma ile aynı süre ve etkide yanıt oluşturur [1]. Edinsel immün sistemi, doğal immün sistemden ayıran en önemli özellik, patojeni tanımada gösterdikleri özgünlüktür [3, 4]. Edinsel immün sistem hücre reseptörleri tek bir antijene spesifiktir ve antijen ile karşılaşmada sadece o antijene özgü lenfositler klonal olarak çoğalır [3]. Ayrıca edinsel immün sistem hücreleri antijene karşı hafıza yanıt geliştirerek hızlı, uzun süreli ve daha etkin bir immün yanıt oluşumunu sağlar [1, 5]. Doğal ve edinsel immün sistem arasındaki farklar Tablo 2-1’de gösterilmiştir.

Tablo 2-1: Doğal ve edinsel immün sistem arasındaki farklar

	Doğal Bağışıklık	Edinsel Bağışıklık
Özgüllük (Spesifite)	Mikroorganizmalar üzerindeki ortak yapılar ve hasarlı hücre molekülleri tanır	Çok sayıda farklı mikrobiyal ve mikrobiyal olmayan antijeni tanır
Çeşitlilik	Sınırlı	Çok daha geniş: reseptörler somatik rekombinasyon ile oluşur.
İmmünolojik Yanıt	Daha hızlı (Saatler)	Günler
Hafıza	Yok	Var
Klonal Genişleme	Yok	Var
Self-tolerans	Var	Var

Doğal immün sistem fiziksel ve kimyasal bariyerler, kompleman ve diğer enflamatuvar mediatörler gibi kan proteinlerinden ve doğal öldürücü (NK) hücreler, dendritik hücre, granülositler, makrofaj gibi çeşitli immün sistem hücrelerinden oluşmaktadır [2, 5]. T ve B lenfositler edinsel immün sistemin iki önemli hücre grubudur ve vücudu patojenlere karşı koruyan ikinci savunma hattıdır. (Şekil 2-1).



Şekil 2-1: Doğal ve edinsel bağışıklık sistemi hücreleri ve mediatörleri (1)

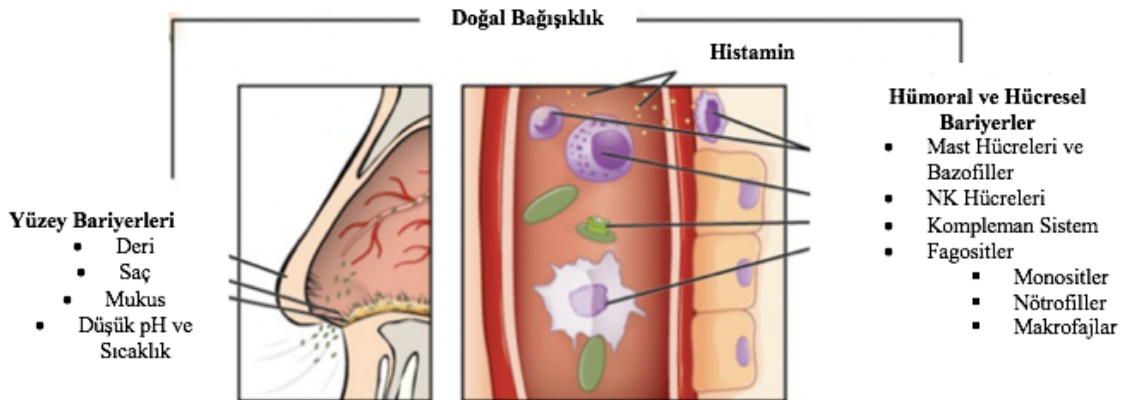
2.1. Doğal İmmün Sistem

Doğal immün sistem hücreleri, mikroorganizma üzerinde bulunan ortak örgüleri tanıyan (pattern recognition receptors, PRR) reseptörlere sahiptir [4]. Bu reseptörler aracılığı ile hücreler, patojenle ilişkili moleküler örgüler (PAMP) olarak bilinen ortak yapıları paylaşan patojenleri ve patojenle enfekte hücreleri tanıyarak yok edilmesini sağlarlar [2, 4].

Deri ve muköz membranlar fiziksel bariyer oluşturarak patojenlerin organizmaya girişini engellerken, düşük pH, sıcaklık ve kimyasal mediatörler fizyolojik bariyerler olarak görev alır [2]. Bununla birlikte derinin epitel hücrelerinden salgılanan defensin, katelisidin gibi doğal antibiyotikler deri üzerinde patojenlerin çoğalmasını engeller [6]. Biyokimyasal bir kaskad yolunun aktifleşmesi sonucu etkin hale gelen kompleman sistemi de doğal immün sistemin önemli savunma mekanizmalarındandır ve enfekte

hücrelerin doğrudan lizisinde, diğer immün sistem hücrelerinin kemotaksisinin uyarılmasında ve patojenlerin opsonizasyonda rol alır [7].

Doğal öldürücü (NK) hücreler, nötrofiller, bazofiller, eozinofiller, mast hücreleri, dendritik hücreler, monositler ve makrofajlar doğal immün sistemin hücrelerini oluşturur [8]. Nötrofiller enfeksiyon bölgesine ilk giden hücrelerdir. Reseptörleri aracılığı ile tanıdığı patojeni fagozom kompleksi içine aldıktan sonra fagosite ederek çeşitli enzimatik yollar ve reaktif oksijen ürünleri ile patojeni lizis eder [5]. Nötrofil sonrasında enfeksiyon bölgesine göç eden ve enfeksiyon ile mücadelede en etkili hücre grubu makrofajlardır. Antikora bağlı hücresel sitotoksitite, antijen aracılı fagositoz ve sitokin sekresyonu gibi yollarla immün yanıtlarda rol alırlar [9]. Fagositik olmayan eozinofiller alerjik rahatsızlıklarda enflamatuvar yanıtların başlamasında ve parazitik enfeksiyonlara karşı konağın savunmasında görevlidir [5]. Bazofiller ise alerjik reaksiyonlar sırasında histamin salgılayarak iltihabı indükler ve kanın hızlı pıhtılaşmasını engeller. Aynı zamanda viral enfeksiyonlara karşı savunmada da rol oynar [10]. NK hücreleri, edinsel immün sistem hücreleri gibi tümör hücrelerini ve virüs ile enfekte hücreleri salgıladıkları perforin ve granzim aracılığı ile lizise uğratırlar [5]. Enfeksiyon bölgesine giden makrofajlar, antijen sunucu hücreler olarak tanımlanan dendritik hücrelerin olgunlaşmasına ve göçüne yardım eder. Olgunlaşmış dendritik hücreler lenf noduna giderek T lenfositlerin aktivasyonundan sorumludur ve bu sebeple doğal ve edinsel immünite arasında bir bağlantı oluşturur [11, 12]. Aynı zamanda makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından salgılanan interlökin 12 (IL-12) sitokini, Th1 hücrelerinin farklılaşmasını uyarak edinsel immün sistem aktivasyonuna katkı sağlar [13].



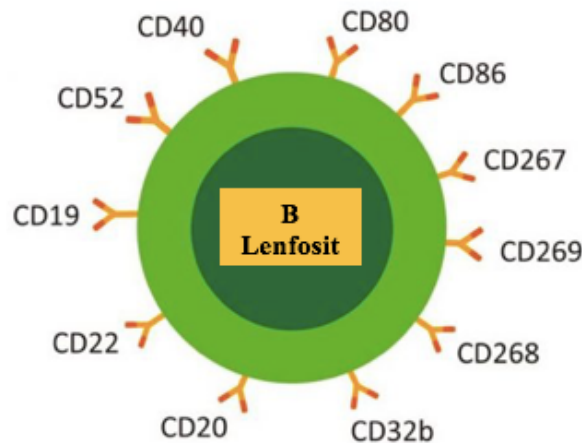
Şekil 2-2: Doğal immün sistem elemanları [14]

2.2. Edinsel İmmün Sistem

Edinsel immün sistem hüморal (antikor aracılı) ve hücreyel olmak üzere iki tip immün yanıt oluşturur. Hüморal immün yanıtta B lenfositler ve salgıladıkları antikorlar, hücreyel immün yanıtta T lenfositler etkilidir [15]. Hüморal immün sistem, hücre dışı patojenlere karşı koruma sağlar. B lenfositler tarafından üretilen antikorlar, opsonizasyon, antikor aracılı hücreyel sitotoksitite (ADCC), nötralizasyon, kompleman sisteminin aktivasyonu gibi çeşitli fizyolojik olaylarda rol alır [15, 16]. Hücreyel immün sistem, $CD8^+$ T lenfositler aracılığı ile hücre içi patojenle enfekte hücrelerin ve tümör hücrelerinin yok edilmesinde rol alırken, $CD4^+$ T lenfositler salgıladıkları sitokinler aracılığıyla diğer immün sistem hücrelerini aktif hale getirerek patojenlere karşı savunmada görevlidir [17, 18].

2.2.1. B Lenfosit

Hüморal immüniteden sorumlu B lenfositler gebeliğin 8. haftasında fetal karaciğerde gelişimine başlar [19]. 15. haftadan itibaren kemik iliği, fetal karaciğer ile birlikte B lenfositlerin gelişiminde rol alır [19]. Doğum sonrasında B lenfositler sadece kemik iliğinde hematopoetik kök hücrelerden gelişmeye devam eder [20]. B lenfositler $CD45^+CD19^+CD20^+CD22^+$ fenotipine sahip hücrelerdir. Şekil 2-3'de B lenfosit yüzey belirteçleri gösterilmiştir.



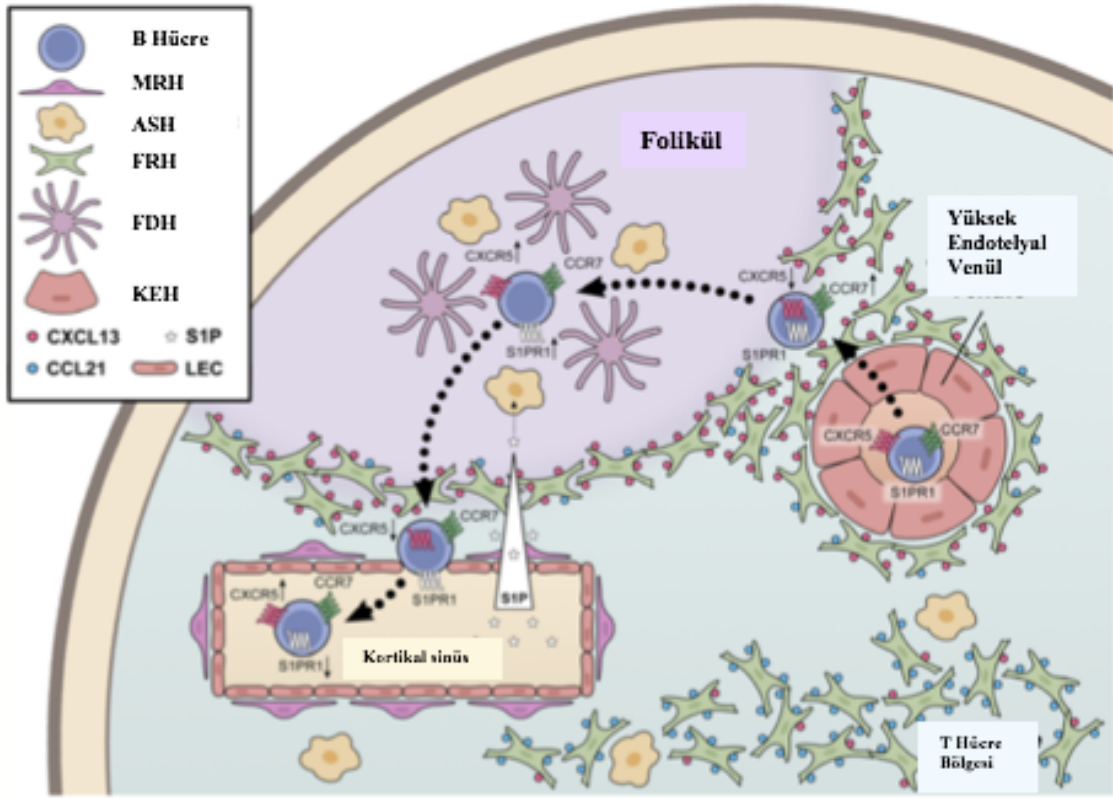
Şekil 2-3: B lenfosit yüzey belirteçleri [21]

B lenfositler lenfoid dokulardaki konumlarına ve yüzey belirteçlerindeki farklılıklara göre 2 ana gruba ayrılmaktadır. Bunlar klasik B lenfositler ve B-1 hücreleridir [22]. Klasik B lenfositler olarak tanımlanan foliküler B hücreleri kemik

iliğinden gelişir ve kan, dalak, lenf düğümleri gibi lenfoid dokularda en sık rastlanan B hücre grubunu oluşturur. $CD19^+IgM^{soluk}IgD^{yüksek}CD23^+$ yüzey fenotipine sahip hücrelerdir. Plazma hücrelerine veya aynı patojen ile ikinci karşılaşma sonrası spesifik antikor üretme kabiliyetindeki hafıza hücrelerine farklılaşırlar [23]. Fetal karaciğer hücrelerinden gelişen B lenfositler çoğunlukla B-1 hücreleridir. Bu hücreler özellikle mukozal dokularda, dalakta, peritoneal ve plevral boşluklarda lokalize olup $CD19^+IgM^{yüksek}IgD^{soluk}CD11b^+CD5^+$ fenotipe sahip hücrelerdir [23, 24]. B-1 hücreleri, T lenfosit yardımı olmadan protein yapıda olmayan antijenlere yanıt oluşturarak IgM izotipinde antikorlar üretir [23].

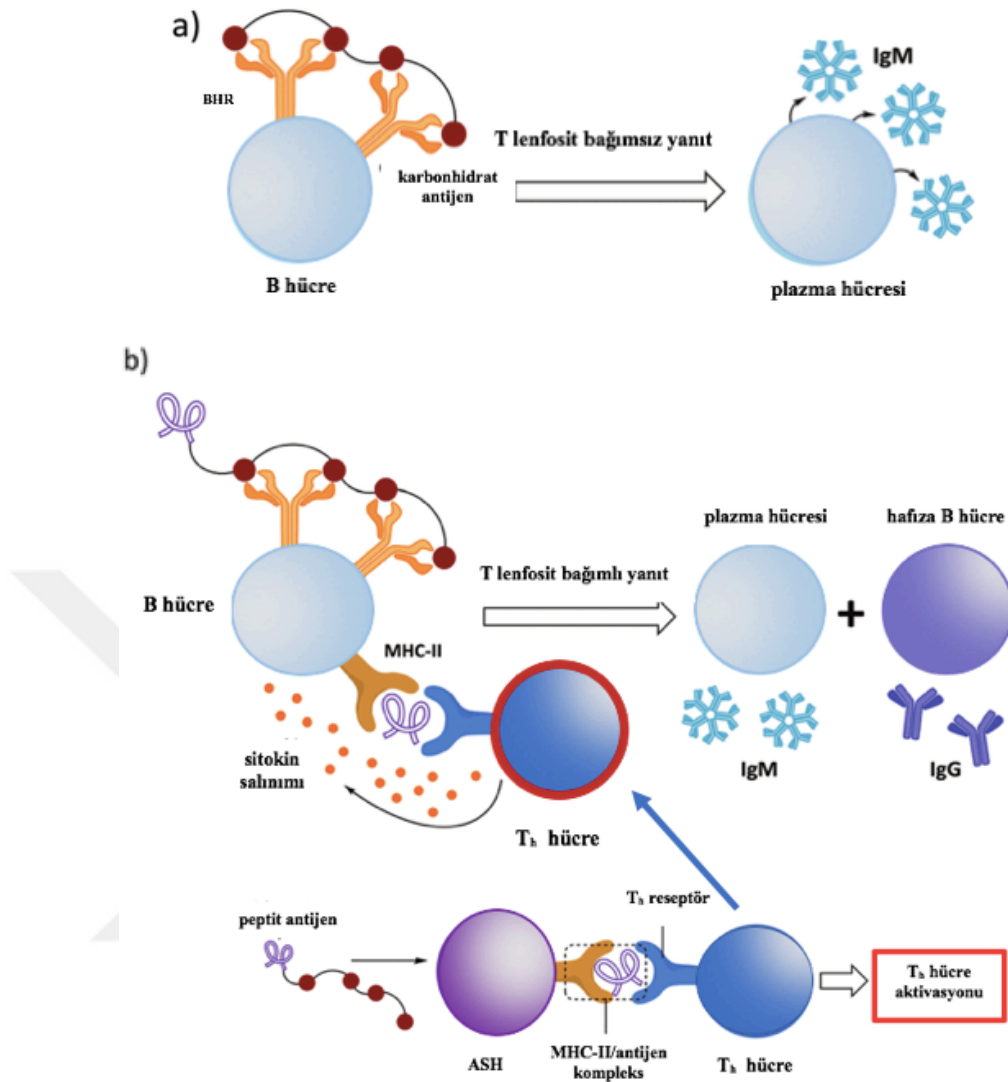
2.2.1.1. B Lenfosit Aktivasyonu

Kemik iliğinde oluşan ve gelişimini tamamlayarak periferik kana geçen ancak antijen ile henüz karşılaşmamış naif B lenfositler, $CD19^+IgM^+IgD^+$ fenotipine sahiptirler ve yüksek endotelial venüller (HEV) yoluyla lenf noduna göç ederler [25-27]. Çoğunlukla bu hücreler lenf düğümü korteksinde yer alan primer lenfoid foliküllerinde, dalakta ise beyaz pulpa içerisindeki foliküllerde lokalize olurlar [26, 28]. C-C kemokin reseptör tip 7 (CCR7) ve C-X-C kemokin reseptör tip 4 (CXCR4) HEV yoluyla göç için naif B lenfositlere yol gösterir. Foliküler dendritik hücreler (FDH) tarafından eksprese edilen C-X-C kemokin ligand 13'e (CXCL13) spesifik CXCR5 ekspresyon seviyesini artırarak folikül içine doğru ilerler [25]. Lenf nodlarında antijen ile karşılaşmayan naif B lenfositler yüzeylerinde sfingosin-1-fosfat reseptörü (S1PR1) ekspresyonunu artırarak kortikal sinüslerde bulunan sfingosin-1-fosfat (S1P) ligandı vasıtasıyla dolaşıma geri döner [25]. Tekrar dolaşıma katılan naif B lenfositler spesifik antijenleri ile karşılaşmadıkları takdirde 1-3 ay içinde apoptoza uğrarlar [25]. B lenfositlerin lenf nodlarındaki göç yolları Şekil 2.4'de gösterilmiştir.



Şekil 2-4: Naif B lenfosit göç yolu (MRH, marjinal retiküler hücre; ASH, antijen sunucu hücre; FDH, foliküler dendritik hücre; FRH, fibroblastik retiküler hücre; KEH, kan endotelial hücre) [25]

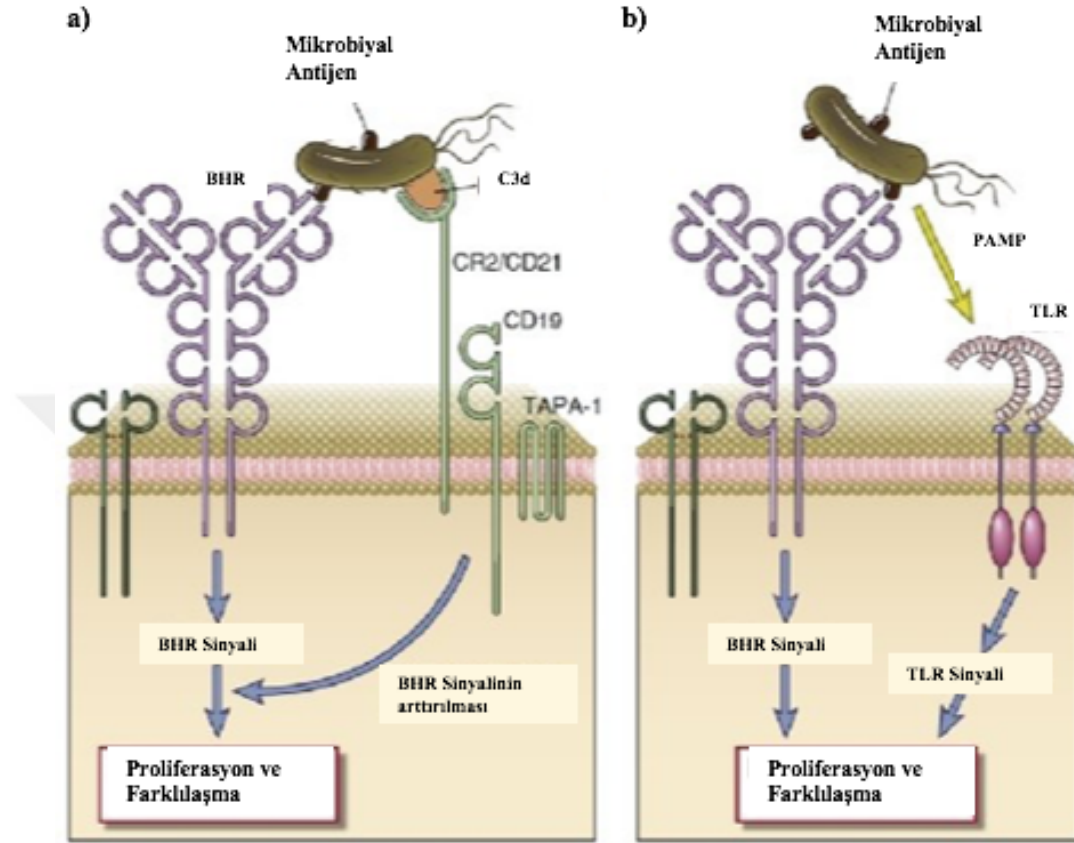
Naif B lenfositler aktivasyon için antijenik uyarıya ihtiyaç duyar. Bu antijenik uyarımlar T lenfosit bağımsız ve T lenfosit bağımlı olmak üzere iki gruba ayrılır [5, 29]. T lenfositler sadece protein yapıdaki antijenleri tanır. Polisakkarit, lipid ve diğer protein olmayan antijenlere karşı yanıt geliştirmezler. Bu nedenle polisakkarit, lipid ve diğer protein olmayan antijenlere yanıtta B-1 B lenfositler yardımcı T lenfosit uyarımına ihtiyaç duymazlar. Bu şekilde gelişen immün yanıtlara ‘T bağımsız yanıt’ adı verilir. B lenfositler aktivasyon sonrası sadece IgM tipinde antikor oluştururlar [29, 30]. Dalak ve lenfoid foliküllerde bulunan olgun B lenfositleri ise protein yapıları antijenlere karşı oluşan yanıtlardan sorumludur. Protein yapıdaki antijen ile aktif olan B lenfositler, bu antijeni T lenfositlerine sunarak afinite olgunlaşması ve izotip dönüşümü için gerekli sinyalleri alırlar. Bu immün yanıtlar ‘T lenfosit bağımlı yanıtlar’ olarak adlandırılır [29, 30]. Bu aktivasyon sonrasında ise antijenin tipine ve ortamda bulunan sitokin çeşidine uygun olarak B lenfositler immünoglobülin (Ig) G, IgA ve IgE izotipinde antikor sekrete eder [24, 27]. T lenfosit bağımlı ve T lenfosit bağımsız B lenfosit aktivasyonu Şekil 2-5’de gösterilmiştir.



Şekil 2-5: T bağımlı ve bağımsız B lenfosit aktivasyonu: a) T lenfosit bağımsız yanıt b) T lenfosit bağımlı yanıt (ASH, Antijen Sunucu Hücre; BHR, B Hücre Reseptörü; IgM, İmmünoglobulin M; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II; T_h, yardımcı T lenfosit) [25]

Naif B lenfositler lenf nodu foliküllerinde bulunan çözünür (solübl) antijeni veya FDH tarafından sunulan antijeni tanıyarak aktif hale gelir [31]. B lenfositler yüzeylerinde B hücre reseptörleri (BHR) dışında aynı zamanda kompleman reseptör 2 (CR2; CD21) ve Toll benzeri reseptör (Toll-like receptors-TLR) eksprese eder. Çözünür antijenin iki veya daha fazla BHR'e çapraz bağlanması sonucu hem BHR sinyali hem de B lenfositler üzerinde Ig α (CD79a) ve Ig β (CD79b) reseptör aracılı hücre içi sinyal iletim yolları aktifleşir. Aynı zamanda mikrobiyal antijen üzerini kaplayan kompleman C3d proteininin B lenfosit yüzeyinde CD21 tarafından veya mikrobiyal antijenin TLR'ler tarafından direkt olarak tanınması da hücre içi sinyal yollarını aktifler [31, 32]. Myc, NFAT, NF- κ B ve AP-1 gibi transkripsiyon faktörleri aktif hale gelerek ilgili genlerin ekspresyonunu

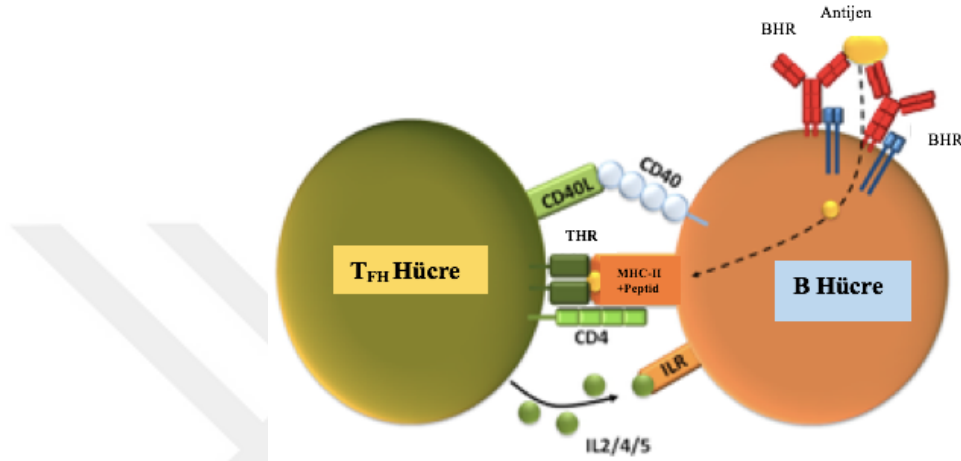
uyararak B lenfositlerin aktifleşmesini, çoğalmasını, farklılaşmasını ve sitokin salınımını sağlar (Şekil 2-6) [33, 34].



Şekil 2-6: Solübl antijen ile B lenfosit aktivasyonu a) Kompleman C3d proteini ve b) TLR aracılığı ile B lenfosit proliferasyonu ve farklılaşması (BHR, B Hücre Reseptörü; CR2-CD21, Kompleman reseptör 2; PAMP, Patojenle ilişkili moleküler örgü; TLR, Toll benzeri reseptör; TAPA-1, Antiproliferatif antikorun hedefi) [1]

Antijen ile karşılaşma sonrası aktif hale gelen B lenfositler $CD19^+IgM^+IgD^{yüksek}$ fenotipe sahiptir ve aktivasyon sonrası yüzeylerinde CXCR5 ekspresyonunu azaltıp CCR7 ekspresyonunu artırır [35]. Lenf nodunda T lenfosit bölgesi olarak bilinen parakortikal bölgeden eksprese edilen ve CCR7 kemokin reseptörünün ligandı olan C-C kemokin ligand 19 (CCL19) ve CCL21 ile etkileşime giren B lenfositler, T lenfosit bölgesine doğru göç eder [35, 36]. Aynı antijen ile aktif hale gelen yardımcı T lenfositler de CCR7 ekspresyonu yerine CXCR5 ekspresyonunu artırarak foliküle doğru göç eder. Bu hücreler $CD3^+CD4^+CXCR5^+$ T foliküler yardımcı (T_{FH}) hücreler olarak isimlendirilir [37]. Birbirleri ile etkileşime girebilmek için yüzey kemokin reseptörlerinde değişim geçiren T ve B lenfositler lenf nodunun parakortikal ve folikül bölgesi sınırında bir araya gelir. Sınır bölgesinde B lenfositler majör doku uygunluk kompleksi II (MHC-sınıf II)

aracılığı ile T_{FH} hücrelerine protein yapıları antijenleri sunar [38]. T lenfosit yüzeyinde eksprese edilen CD40 Ligand (CD40L) B lenfosit yüzeyinde bulunan CD40 ile etkileşime girerek T lenfositler ile B lenfositler arasındaki etkileşimi fiziksel açıdan destekler [39]. Ayrıca T lenfositler tarafından salgılanan IL-21 ve IL-4 gibi çeşitli sitokinler B lenfosit proliferasyonunu, izotip değişimini ve afinite olgunlaşmasını uyarır (Şekil 2-7) [38, 40].



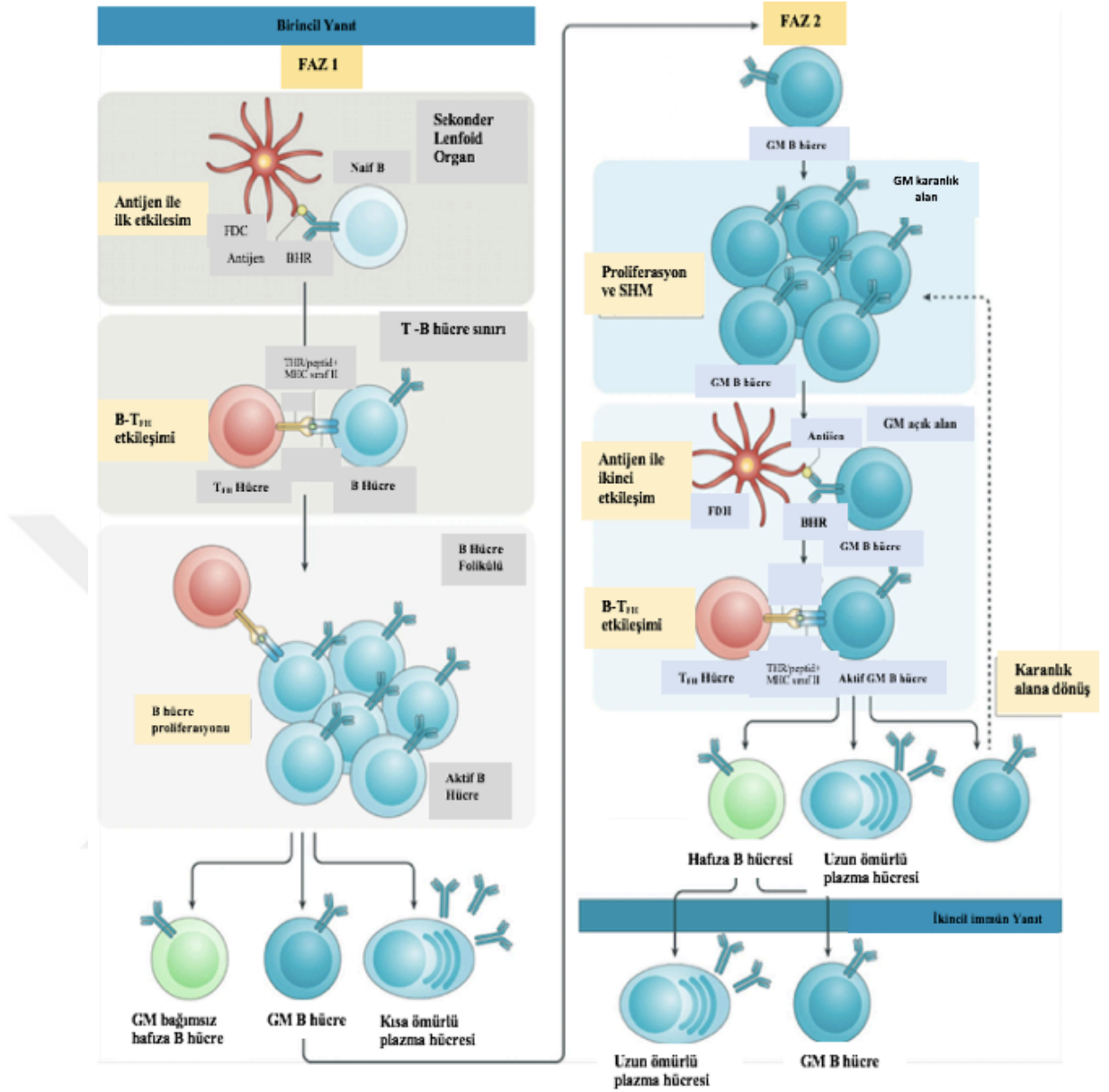
Şekil 2-7: B lenfosit ve yardımcı T lenfosit etkileşimi (BHR, B Hücre Reseptörü; THR, T Hücre Reseptörü; ILR, İnterlökin Reseptörü; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II; T_{FH} : Foliküler yardımcı T hücre) [41]

Lenf nodunun T-B sınırında gerçekleşen bu karşılaşma sonrası B lenfositler kısa ömürlü plazma hücrelerine, germinal merkez (GM) B hücrelerine ve efektör hücrelere farklılaşır. Kısa ömürlü plazma hücreleri $CD19^{düşük}CD20-CD27^{yüksek}CD38^{yüksek}$ fenotipe sahip hücreler olup IgM tipi antikor sekrete ederler [42]. GM B hücreleri ise ikincil lenfoid organlarda B hücre foliküllerinde iki bölge olarak gözlenen GM'lere göç eder. Bu göç sırasında S1P2 ekspresyonu hücrelerin GM'de tutunmalarına destek verir [43]. GM'de tanımlanmış iki bölge, karanlık bölge (dark zone) ve açık bölge (light zone) olarak isimlendirilir [44]. Karanlık bölgede yoğun olarak CXCR4 eksprese eden B lenfositler proliferasyon olarak kolonize olur. Eş zamanlı olarak CD40-CD40L etkileşimi sonrası B lenfositlerin aktivasyonu ile indüklenen sitidin deaminaz (AID) enzimi aktive olur. AID, Ig genlerinin değişken (V) bölgelerinde nokta mutasyonları oluşturarak somatik hipermutasyon (SHM) oluşumunu gerçekleştirir. Böylece antijene daha güçlü afinite ile bağlanan B lenfosit klonlarının oluşumu sağlanır. Bu olaya afinite olgunlaşması adı verilir [38]. Afinite olgunlaşması sonrası, B lenfositler CXCR4 ekspresyon seviyesini düşürerek GM'de açık bölgeye geçer [40]. Bu hücrelerde henüz izotip dönüşümü gerçekleşmediği için dönüşmemiş hafıza hücreleri olarak isimlendirilir ve $CD19^{+}CD20^{+}IgM^{-/+}IgD^{+}CD27^{+}$

fenotipine sahiptirler. Açık bölgede foliküler dendritik hücrelerin sunduğu antijeni tanıyan B lenfositler apoptozdan kurtulur ve CXCR5^{yüksek} T_{FH} hücreleri ile ikinci kez karşılaşır [43]. B lenfositlerin MHC sınıf II molekülleri ile sunmuş oldukları antijeni, T_{FH} hücreleri THR'leri aracılığıyla tanır [38, 40]. T_{FH} hücreleri CD40L ve ICOS yüzey belirteçleri ile B lenfositler üzerinde bulunan CD40 ve ICOSL molekülleri ile etkileşime girer [28]. Etkileşim sonrası B lenfositlerde AID enzimi tekrar aktive olur ve Ig genlerinin sabit (C) bölgelerinde DNA kırıklarının oluşumuna neden olarak izotip dönüşümünün (class switched recombination-CSR) gerçekleşmesini sağlar. Böylece IgM tipi antikorlardan IgA, IgE veya IgG tipi antikorlar oluşur [45]. İmmünglobulin sınıf değişimi geçirmiş hücreler CD19⁺CD20⁺IgM⁻IgD⁻CD27⁺ fenotipe sahip hücrelerdir ve dönüşmüş hafıza hücreleri olarak isimlendirilir.

GM açık bölgede ikinci kez T_{FH} hücreleri karşılaşmaları sonrası B lenfositler uzun ömürlü plazma hücresi olarak bilinen efektör hücrelere dönüşür. Blimp-1, plazma hücre farklılaşması için gerekli en önemli transkripsiyon faktörüdür. Plazma hücreleri antikor üretiminde ve salgılanmasında görevli hücrelerdir ve CD19^{düşük}CD20⁻CD27^{yüksek}CD38^{yüksek}CD138⁺ fenotipine sahiptir [46]. Aynı zamanda bu hücrelerin Blimp-1 aracılığı ile T_{FH} hücre oluşumunu negatif olarak regüle ettiği de yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [47].

GM'de gelişen bir diğer hücre grubu hafıza hücreleridir. Bu hücreler aynı patojenin vücuda ikinci kez girişinde hızlı koruma sağlar. Hafıza B hücreleri CD27⁺ fenotipe sahiptirler ve naif B lenfositlerden farklı olarak IgG, IgA ve IgE sekrete ederler [48]. B lenfositlerin lenf nodlarında antijen ile karşılaştıktan sonra gerçekleşen mekanizmalar Şekil 2-8'de gösterilmiştir.



Şekil 2-8: B lenfosit aktivasyon yolağı ve Germinal Merkez reaksiyonları (BHR, B Hücre Reseptörü; FDH; Foliküler Dendritik Hücre; GM; Germinal Merkez; SHM; Somatik Hipermutasyon; THR, T Hücre Reseptörü; ILR, İnterlökin Reseptörü; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II; T_{FH}; Foliküler yardımcı T hücre) [43]

2.2.1.2. Antikor çeşitleri ve fonksiyonları

B lenfositlerden gelişen plazma hücrelerinin ürettiği antikorlar ve çeşitli sitokinler humoral immün yanıtta sorumludur [49]. Antijene karşı spesifik olarak üretilen antikorlar, hücre dışı patojenlere karşı savunmada rol alır [50]. Bu antikorlar toksinlerin nötralizasyonunda, eliminasyonunda, patojenlerin yüzeyini kaplayarak opsonizasyon yoluyla fagosit edilmesinde, kompleman yolunun aktive edilmesinde (IgG ve IgM kompleman sistemini klasik yoldan, IgA ise alternatif yoldan aktif hale getirir) görevlidir [51, 52].

IgM tipi antikorlar pentamer yapısı sebebiyle yüksek aviditeye sahiptir, ancak afinitesi düşüktür. Aynı zamanda naif B lenfositlerin yüzeyinde BHR olarak işlev görür. Birçok patojen ile ilişkili polisakkarite bağlanarak bakteriyel enfeksiyonlara karşı ilk savunmayı sağlar [50]. IgD bir yüzey antikorudur ve antijen için reseptör görevi görür ve hücre içi sinyal iletiminde rol oynar. IgA tipi antikorlar mukozal immün yanıtta görevlidir [53]. IgE, bazofil ve mast hücrelerine bağlanarak alerjik reaksiyonlarda ve parazitik hastalıklarda rol alır [54]. Ayrıca helmintlere karşı antikor aracılı sitotoksitite (ADCC)'den sorumludur [55]. IgG serumda en fazla bulunan antikor tipidir ve antijenlerin makrofaj, monosit, nötrofil gibi hücreler tarafından kolayca fagosite edilmeleri için opsonize hale gelmelerine neden olur [56]. Fetüse ve anne sütü ile bebeğe geçerek immün koruma sağlar [19].

2.2.1.3. Hastalıklarda B Lenfositlerin Rolü

B lenfositlerde meydana gelen moleküler kusurlar, T lenfositler ile etkileşimde görülen aksaklıklar, aşırı antikor üretimi veya fonksiyon kaybı otoimmün hastalıklara ve primer immün yetersizliklere neden olmaktadır [57, 58].

Bruton's Tirozin Kinaz (BTK) enzimi B lenfositlerin olgunlaşması için gerekli hücre içi sinyal molekülüdür [59]. *BTK* geninde meydana gelen mutasyonlar sonucu oluşan BTK eksikliği, B hücrelerinde ve tüm immünglobulin izotiplerinde azalmaya neden olarak, X'e bağlı Agammaglobulinemi (XLA) hastalığının oluşmasına neden olur [59, 60].

Yaygın değişken immün yetersizlik (YDİY) hastalarının dolaşımında T ve B lenfosit oranlarında bir değişkenlik gözlenmemesine rağmen özellikle dönüşmemiş ($CD19^+CD27^+IgD^+IgM^{-/+}$) ve dönüşmüş ($CD19^+CD27^+IgD^-IgM^-$) hafıza B lenfosit seviyelerinde azalma gözlenir [61, 62]. Aynı zamanda hastaların serum IgG, IgA ve IgM seviyeleri de düşüktür [62].

Güncel çalışmalar periodontitis hastalarında $CD27^+$ hücreler arasında özellikle dönüşmüş hafıza B lenfositlerde artış olduğunu bildirmektedir [63]. SLE hastalarında hem dönüşmüş hem de dönüşmemiş hafıza B lenfositlerinde azalma olduğu tespit edilmiş ve hücre sayısındaki bu azalma ile birlikte yüksek SLE otoantikor seviyeleri rapor edilmiştir [64]. Enflamatuvar hastalıklarda ve ateroskleroz hastalarında da her iki hafıza hücresinde azalma olduğu tespit edilmiş ve ateroskleroz hastalarında ikincil kardiyovasküler olayları önlenmede bu hücrelerin önemli olduğu tespit edilmiştir [65]. $CD27-IgD^-$ B lenfositler sınıf değişimi geçirmelerine rağmen IgD ve CD27 eksprese

etmeyerek çift negatif hücreler olarak isimlendirilirler. Rotavirüste, HIV enfeksiyonunda, obezitede, MS hastaların beyin omurilik sıvısında, SLE, RA gibi otoimmün hastalıklarda, alzhemier hastalarında ve yaşla birlikte, CD27-IgD⁺ B lenfositlerin sağlıklı bireylere göre sayıca artığı gözlenmiştir [66-69]. SLE hastalarında gözlenen bu değişim hastalık şiddeti ve otoantikor titrelerinde artış ile otoimmün hastalık patolojisini desteklemektedir [69].

B lenfositlerin antijen ile uyarım sonrası yüzeylelerinde ilk ifade ettikleri antikor IgM'dir. IgM'ler vücutta farklı görevlere sahip faklı antikor izotiplerine (IgA, IgE, IgG ve IgD) dönüşmektedir. İzotip dönüşüm sırasında yardımcı T lenfositler ile B lenfositler arasında CD40-CD40L ve sitokin etkileşimleri oldukça önemlidir. Ancak X kromozomu üzerindeki *CD40L* geninde meydana gelen mutasyonlar IgM izotip dönüşümüne engel olarak serumda yüksek düzeyde IgM görülmesine yol açar [70]. Bu durum hiper IgM sendromuna (HIGM) neden olur. Aynı zamanda *CD40*, *AID* ve *Urasil DNA glikozilaz (Uracil DNA Glicosylase-UNG)* genlerinde meydana gelen mutasyonlar da HIGM sendromuna neden olmaktadır [24, 57, 70]. Bu hastaların serumunda gözlenen artmış veya normal seviye IgM'in yanı sıra IgA, IgE ve IgG antikorlarında tespit edilen belirgin azalma da hastalık teşhisi için önemlidir [24, 70].

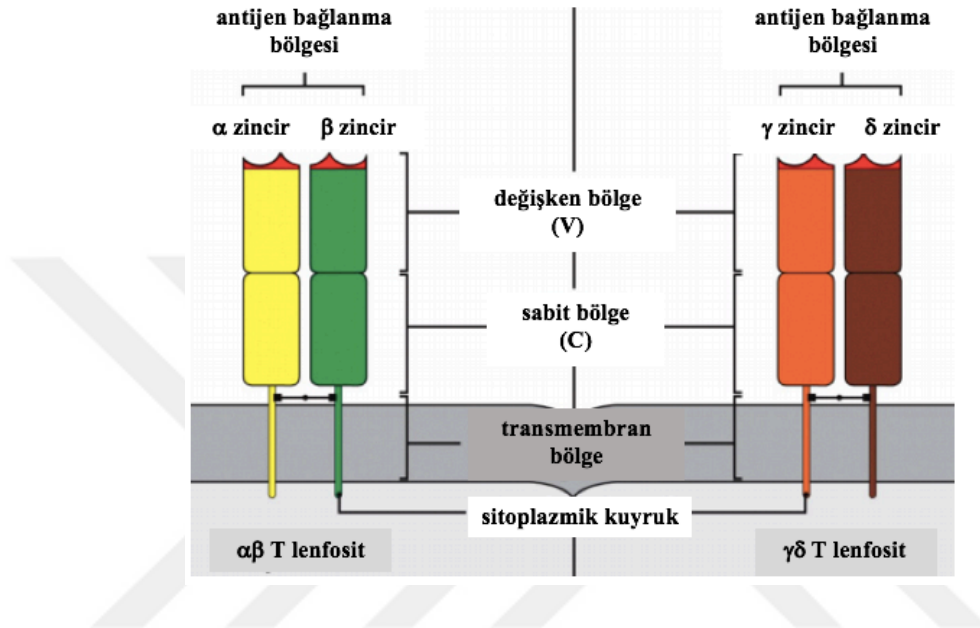
B lenfosit oluşumu ve gelişimi aşamasında meydana gelen inhibisyonlar veya yüksek düzeyde proliferasyonlar lenfoma gelişiminin ana sebebi olarak gösterilmektedir [71]. GM'de gelişim aşamasında meydana gelen mutasyonlar sonucu CD19⁺CD20⁺CD22⁺ fenotipe sahip hücreler birikerek foliküler lenfoma, Burkitt lenfoma, difüz büyük B hücreli lenfoma ve Hodgkin lenfomaya neden olabilir [71, 72]. Kanda ve kemik iliğinde ise CD19⁺CD5⁺CD23⁺ fenotipli hücreler birikerek kronik lenfositik lösemi (KLL) gelişimini destekler [73].

2.2.2. T Lenfositler

T lenfositler kemik iliğinde hematopoetik kök hücrelerden gelişir. B lenfositlerden farklı olarak gelişimlerini ve olgunlaşmalarını timusta tamamlar [74, 75]. Timik gelişim gebeliğin 8. haftasında başlarken, T lenfosit oluşumu 14. haftadan itibaren gözlenmektedir [76].

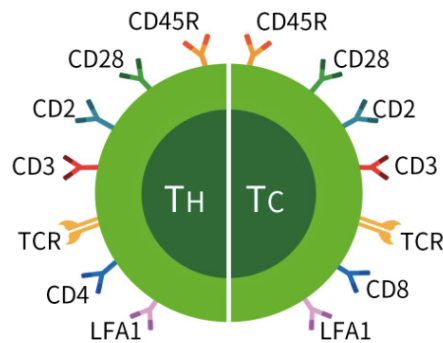
T lenfositler, T hücre antijen reseptörlerinin (THR) zincir yapısına göre iki gruba ayrılmaktadır. Bunlar THR'ü alfa (α) ve beta (β) zincirden oluşan klasik T lenfositler ve THR'ü gamma (γ) ve delta (δ) zincirden oluşan doğal immün sistemin bir hücresi olan $\gamma\delta$ T hücreleridir (Şekil 2-9). Her iki T hücre grubu da timusta gelişir. Periferik dokularda efektör hücre özellikleri kazanan $\alpha\beta$ T lenfositlerinin aksine, $\gamma\delta$ T lenfositleri timus

gelişimi sırasında efektör hücrelere farklılaşır [77]. Deri epidermisinde ve mukozal epitelyal tabakada bulunan intraepitelyal T lenfositleri $\gamma\delta$ THR'ü eksprese eder [78]. Bu reseptörler sınırlı çeşitliliğe sahiptir. Öz veya mikroorganizma kaynaklı proteinleri ve lipopeptit antijenleri tanıyabilmektedir [77, 79, 80]. Dokuda ve dolaşımda bulunan T lenfositlerin büyük çoğunluğu ise $\alpha\beta$ THR'lerine sahiptir.



Şekil 2-9: T hücre reseptör çeşitleri (α , alfa; β , beta; γ , gamma; δ , delta) [81]

$\alpha\beta$ THR eksprese eden T lenfositler, $CD3^+$ hücrelerdir ve hücrel immüniteden sorumludur [75]. $CD3^+CD4^+$ ve $CD3^+CD8^+$ fenotipine sahip 2 alt gruptan oluşur (Şekil 2-10). $CD3^+CD8^+$ T lenfositler hücre içi patojenlere ve tümöre karşı yanıt oluştururken, $CD3^+CD4^+$ T lenfositler salgıladıkları IFN- γ , IL-4, IL17 gibi çeşitli sitokinler ile immün sistem hücrelerini (B lenfosit, makrofaj ve NK hücreleri gibi) uyararak immün yanıtların düzenlenmesinde rol alır [75, 82].

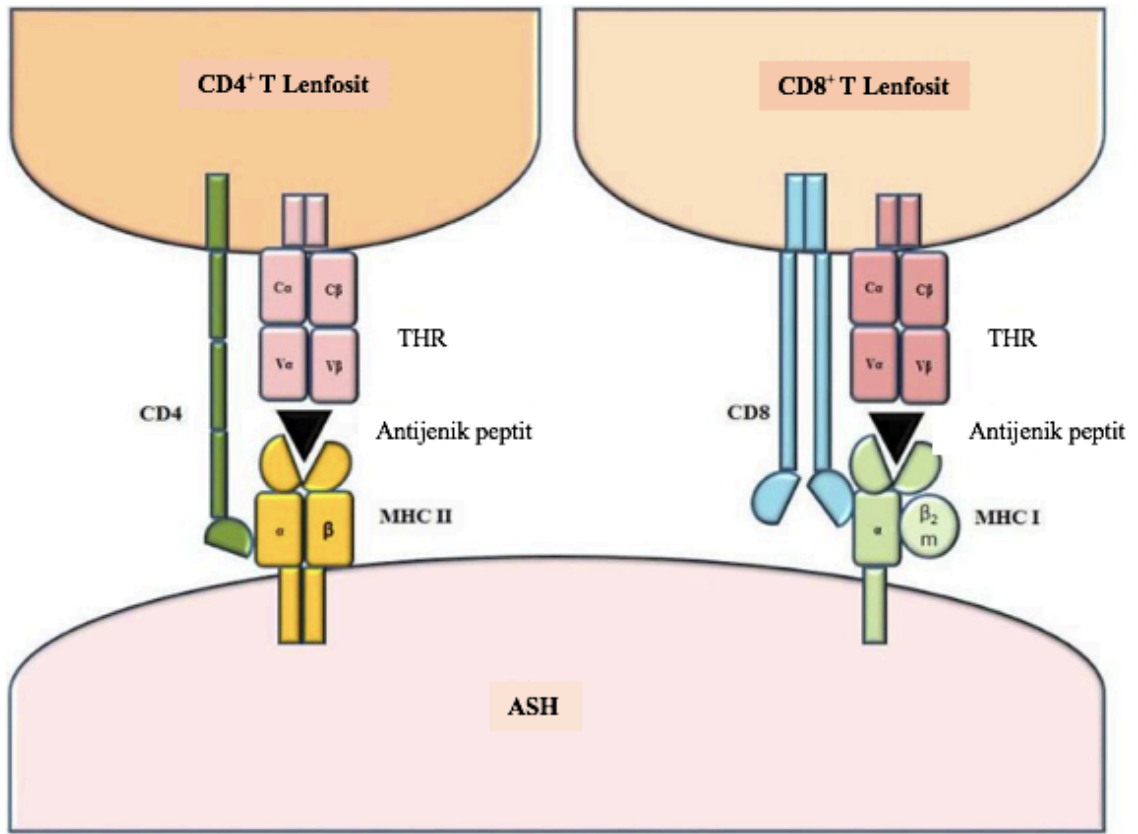


Şekil 2-10: T lenfosit yüzey belirteçleri (Tc: Sitotoksik T hücre; TH: Yardımcı T hücre) [83]

2.2.2.1. T Lenfosit Aktivasyonu

Kemik iliğinde oluşup timusta olgunlaşma sürecini tamamlayan naif $\alpha\beta$ T lenfositler $CD3^+CD45RA^+CCR7^+$ fenotipine sahip hücrelerdir [84]. Aynı zamanda yüzeylerinde $CD62L$, $CD28$ ve $CD27$ eksprese ederler. Naif T lenfositler HEV yolu ile lenfoid dokulara göç edebilmek için yüzeylerinde $CCR7$ ve L -selektin eksprese ederler [85, 86]. $CCR7$ reseptörü ikincil lenfoid organların parakorteksinde (T hücre bölgesi) fibroblastik retiküler hücreler (FRH) tarafından üretilen $CCL19$ ve $CCL21$ moleküllerine spesifiktir ve naif T lenfositleri ile ASH hücrelerin parakorteks bölgesine göç edip etkileşime girebilmesi için gerekli moleküllerdir [86]. Antijen ile karşılaşmayan T lenfositler de B lenfositler gibi lenf nodundan çıkıp spesifik antijenini aramak için tekrar dolaşıma katılır. Bu sebeple yüzeylerinde $S1PR1$ ekspresyonu artan hücreler, lenf nodunda efferent lenfatik damarlar boyunca artan $S1P$ konsantrasyon yoğunluğunu takip ederek lenf nodunu terk eder ve dolaşıma tekrar katılır [85]. Dolaşıma katılan T lenfositler antijen ile karşılaşmaz ise B lenfositlerde olduğu gibi 1-3 ay içerisinde apoptoza uğrar.

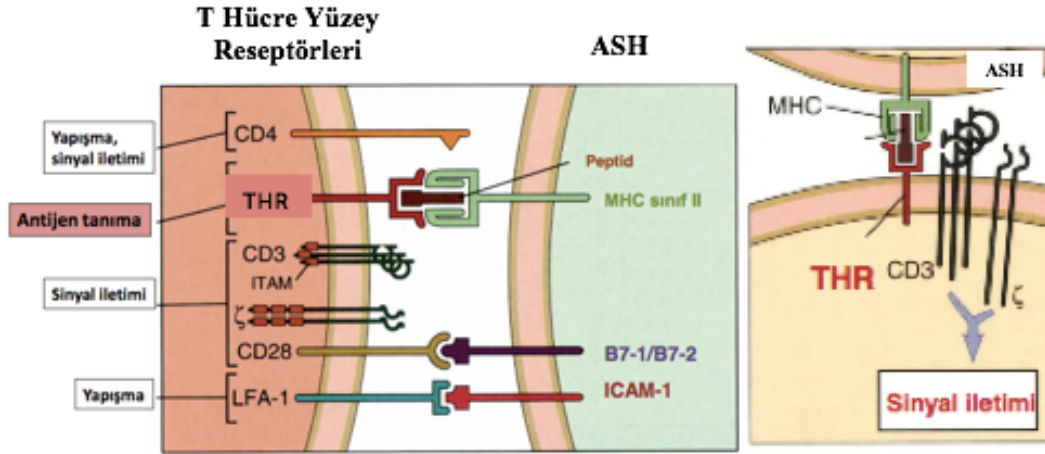
ASH'ler içerisinde en güçlü T lenfosit uyarıcılar dendritik hücrelerdir. Reseptörleri aracılığıyla tanıdığı patojeni fagosite eden dendritik hücre, antijen sunumu için $CCR7$ kemokin reseptörünü eksprese etmeye başlar ve lenf noduna doğru göç eder. Dendritik hücreler tarafından yakalanan protein yapıdaki antijenler işlenerek peptit-MHC sınıf I veya MHC sınıf II kompleksi ile lenf nodunda T lenfositlere sunulur. Dendritik hücreler, hücre içi patojenlere ait antijenleri MHC sınıf I molekülü ile $CD3^+CD8^+$ sitotoksik T (T_c) lenfositlere, hücre dışı patojenlere ait antijenleri MHC sınıf II molekülü ile $CD3^+CD4^+$ yardımcı T (T_h) lenfositlere sunar (Şekil 2-11) [87, 88]. T lenfositler yüzeylerindeki THR ile MHC'ye sunulan özgül antijenlerini tanırlar. MHC-peptit+ THR kompleksi T lenfosit aktivasyonu için birinci sinyali oluşturur [89].



Şekil 2-11: CD4 ve CD8 lenfosit ASH etkileşimi (THR, T Hücre Reseptörü; ILR, İnterlökin Reseptörü; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II) [90]

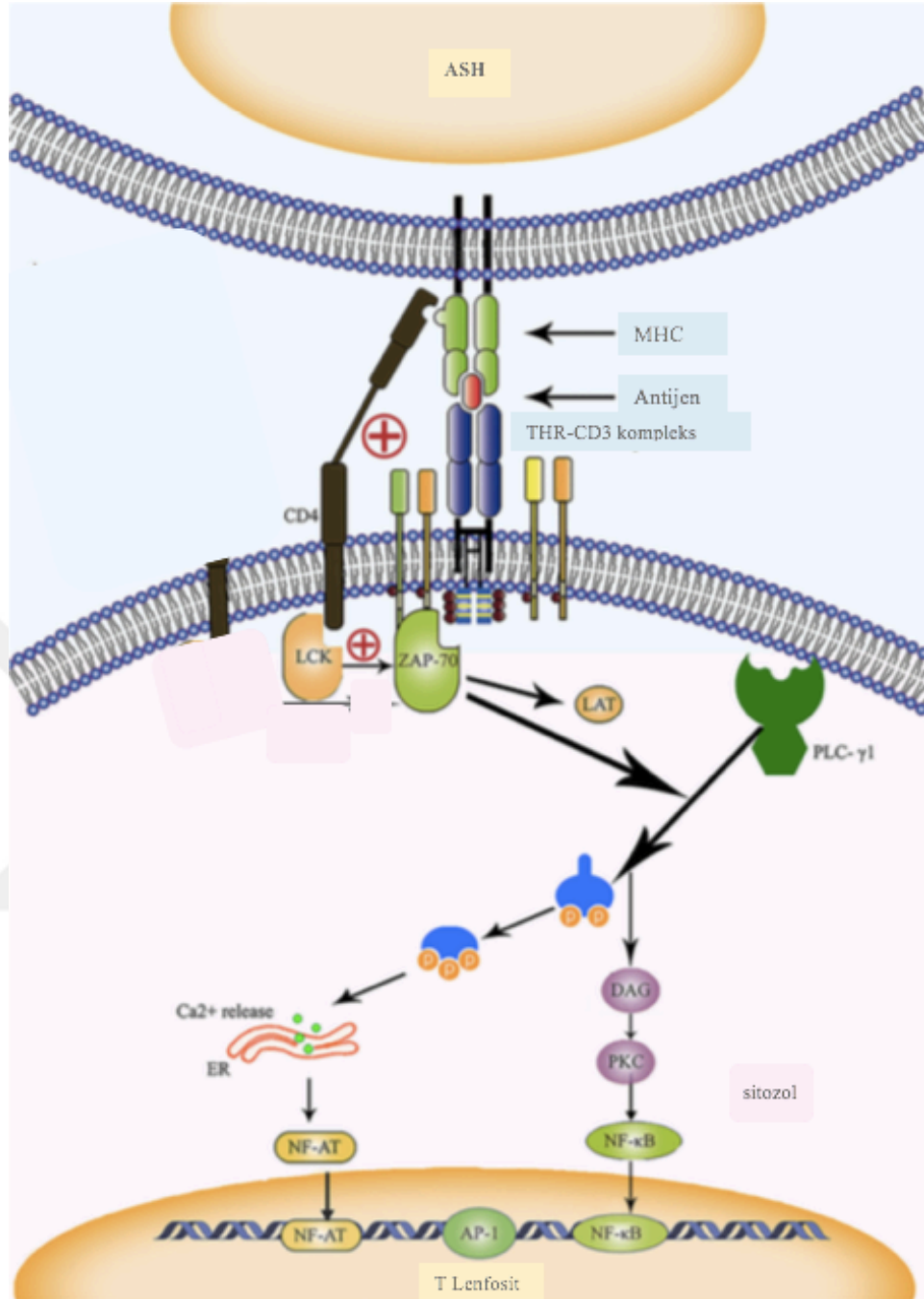
THR'leri tarafından tanınan protein yapıdaki antijen, T lenfositlerin aktivasyonu için tek başına yeterli değildir. δε ve γε çiftleri halinde üç polipeptid zincirinden oluşan CD3, THR ve ζ zinciri birlikte hücre yüzeyinde sinyal iletiminden sorumludur [91]. Aynı zamanda T lenfosit yüzeyinde bulunan lökosit fonksiyon ilişkili antijen-1 (LFA-1) ve ASH yüzeyindeki hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1) iki hücre arasındaki bağlantıyı güçlendirir [92] (Şekil 2-12).

ASH'ler tarafından sunulan antijeni tanıyarak aktif hale gelen T lenfositler, aynı zamanda yüzeyinde eksprese olan CD40L ile ASH üzerinde bulunan CD40 molekülüne bağlanır ve ASH yüzeyinde B7 ve ICOS-L ekspresyonunu artırır [93]. B7 ve ICOS-L ko-stimülatörleri aktif T lenfosit yüzeyinde eksprese edilen CD28 ve ICOS reseptörleri ile etkileşime girerek T lenfosit aktivasyonunu indüklemektedir [93]. B7-CD28 etkileşimi sonrası salgılanan IL-2, T lenfositlerin çoğalmasını ve farklılaşmasını destekler [94]. Bu ko-stimülatörler ve ko-reseptörler aktivasyonun ikinci sinyalini oluşturur [89]. Öte yandan PD-1-PD-1L ve B7-CTLA-4 etkileşimi T lenfositlerin aktivasyonunu inhibe eder [95, 96] (Şekil 2-12).



Şekil 2-12: ASH ve T lenfosit yüzey reseptörlerinin etkileşimi (ASH, Antijen Sunucu Hücre; THR, T Hücre Reseptörü; ITAM, immünoresptör tirozin bazlı aktivasyon motif; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II; LFA-1, lökosit fonksiyon ilişkili antijen-1; ICAM-1, hücreler arası adezyon molekülü-1)[1]

THR ve ASH'lerin birbirini tanıması sonucu T lenfosit içerisinde birçok biyokimyasal aktivasyon yolağı da harekete geçer. CD3 zincirinin sitoplazmik uzantıları immünoresptör tirozin bazlı aktivasyon motifleri (ITAM) adı verilen motifler içerir [91]. CD4 ve CD8 hücre içi sitoplazmik uzantılarında Lck olarak isimlendirilen reseptör ile ilişkili protein kinazlar bulunur ve bunlar ITAM'ları fosforile ederek zeta zincir ile ilişkili protein 70 (ZAP-70) ile birlikte birçok aktivasyon kaskadını başlatır [91]. Bu aktivasyon kaskadı sonucu T lenfositlerin proliferasyonu ve farklılaşması için gerekli olan transkripsiyon faktörleri eksprese olur. NFAT, NF- κ B ve AP-1 bu transkripsiyon faktörlerindendir ve bunlar IL-2 sekresyonunu, IL-2R ve CD40L gibi moleküllerin hücre yüzeyinde ifadesini uyarır [91] (Şekil 2-13).



Şekil 2-13: ASH ile etkileşim sonrası T lenfosit aktivasyonu (ASH, Antijen Sunucu Hücre; THR, T Hücre Reseptörü; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II; ZAP-70, zeta zincir ile ilişkili protein 70) [97]

Antijen ile karşılaşma sonrası aktif hale gelen T lenfositlerin bir kısmı ikincil lenfoid organlarda merkezi hafıza T lenfositlere (T_{CM}) ya da kan ve periferik dokular arasında sirkülasyona katılan efektör hafıza T lenfositlere (T_{EM}) farklılaşır. İşlevsel olarak farklı bu iki hafıza hücre grubu CCR7 kemokin reseptörünün ekspresyonuna bağlı olarak sınıflandırılır [98].

T_{EM} lenfositleri $CD45RA^+CCR7^-$ fenotipindedir ve IL-4, IL-5 (sadece $CD4^+$ T lenfositler) ve IFN- γ (hem $CD4^+$ hem de $CD8^+$ T lenfositler) salgılayarak patojene hızlı yanıt verip koruma sağlar [98, 99]. Bu hücreler iltihaplı dokulara göç için yüksek düzeyde $\beta 1$ ve $\beta 2$ integrinleri, CD103 ve kutanöz lenfosit ilişkili antijen (CLA) gibi dokuya özgü reseptörleri yüzeylerinde eksprese etmektedir [98]. Ayrıca CCR1, CCR3 ve CCR5 gibi enflamatuvar kemokin reseptörleri de eksprese ederler [98].

T_{CM} lenfositleri $CD45RA^+CCR7^+$ fenotipe sahip hücrelerdir. Sekrete ettikleri ana sitokin IL-2'dir. T_{CM} lenfositleri yüzeylerinde eksprese ettikleri CD62L sayesinde ikincil lenfoid dokulara göç eder ve CCR7 kemokin reseptörü vasıtasıyla bu organlarda tutunur [100]. Burada lenfatik sistem yoluyla periferik dokulardan toplanan antijenleri gözetim altında tutar. Aynı antijen ile ikinci uyarım sonrası yüksek düzeyde CD40L eksprese ederek dendritik hücreler ile kuvvetli etkileşim sağlar ve hızlı bir şekilde çoğalıp efektör hücrelere dönüşme potansiyeline sahiptirler [98]. T_{EM} lenfositlerine dönüşen T_{CM} lenfositleri CCR7 ekspresyonunu azaltarak iltihaplı dokulara göç için gerekli olan adezyon molekülleri sergilemeye başlar [98].

İnsanlarda bulunan bir diğer hafıza T lenfosit grubu T_{EMRA} lenfosit olarak isimlendirilir. Bu hücreler CD45RA ekspresyonu yapan ancak CCR7 eksprese etmeyen $CD45RA^+CCR7^-$ fenotipine sahiptirler. T_{EM} lenfositlerde olduğu gibi CCR3 eksprese ederler ve böylece iltihaplı periferik dokulara göç ederler [100].

2.2.2.2. T Lenfosit Alt Grupları

2.2.2.2.1. Yardımcı ($CD4^+$) T Lenfositler

$CD3^+CD4^+$ yardımcı T lenfositler antijen uyarımı sonrasında sekrete ettikleri çeşitli sitokinler ile NK hücreleri, monosit ve makrofajların aktive edilmesinde, ayrıca B lenfositlerde afinite olgunlaşması ve izotip dönüşümünde rol oynarlar [75, 101]. Bununla birlikte sekrete ettikleri IL-10, TGF- β gibi çeşitli anti-enflamatuvar sitokinler aracılığı ile immün yanıtların baskılanmasını sağlarlar [102].

ASH hücreler tarafından sekrete edilen indükleyici sitokinler $CD4^+$ T lenfositlerin farklı alt gruplara farklılaşmasını sağlar. Sitokin uyarımını takiben hücre içinde farklı transkripsiyon faktörleri bu farklılaşmayı destekler. Transkripsiyon faktörleri hücre içinde farklı genlerin aktive olmasına neden olarak hücrelerin salgıladığı sitokin profilini ve yüzey belirteçlerini değiştirerek alt grupların tanımlanmasında rol alır [75, 103, 104].

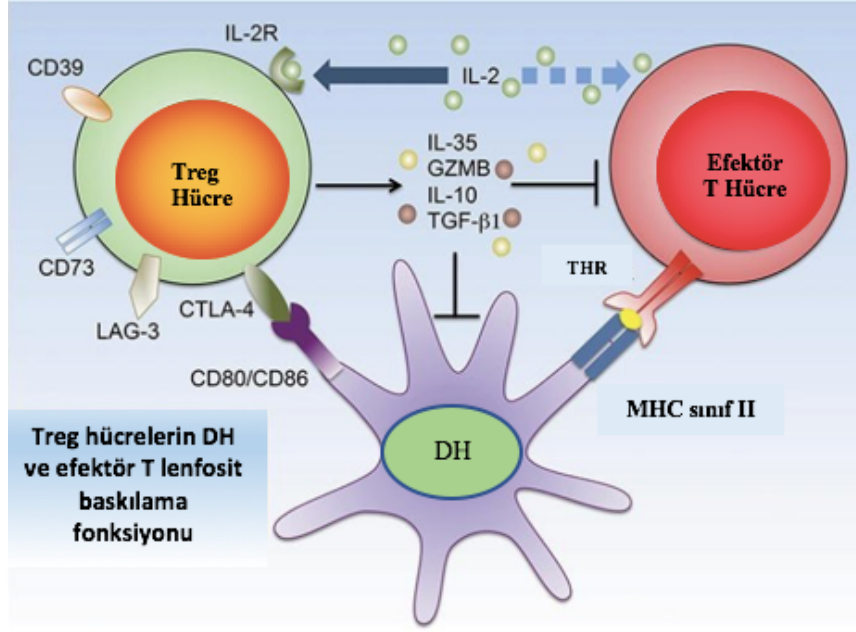
IL-12 ve IFN- γ Th1 farklılaşmasını indükleyen ana sitokinlerdir. Bu sitokinlerin uyarımı sonucu Th1'e farklılaşma ve fonksiyonları ile ilişkili anahtar transkripsiyon

faktörü olan T-bet aktive olur [75]. Th1 hücreler fenotipik olarak yüzeylerinde taşıdıkları CXCR3 (CD183) yüzey belirteci ile ayırt edilir [104]. Th1 hücreleri sekrete ettikleri IFN- γ , IL-2 ve TNF- α ile makrofaj ve NK hücre aktivasyonunu sağlar. Ayrıca inflamasyonu uyararak hücre içi patojenlere karşı yanıtta rol alır [75, 103, 105]. B lenfositlerde izotip dönüşümü ile IgG tipi antikorların üretimini sağlar [106].

Th2 hücreler IL-4 sitokini aracılığıyla farklılaşır ve farklılaşmada rol oynayan ana transkripsiyon faktörü GATA3'dür [75]. Th2 hücreleri yüzeylerinde CCR4 (CD194) ve CD294 (CRTH2) belirteçlerini taşırlar [104]. Sekrete ettikleri IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi sitokinler ile B lenfositlerde IgE antikor üretimini ve helmantik parazitlere karşı yanıtta eozinofilleri aktive ederek, hücre dışı patojenlere karşı konakçı savunmasında ve alerjik reaksiyonlarda önemli rol oynar [75, 105, 107].

Th17 hücrelerinin farklılaşmasında rol alan ana sitokinler TGF- β , IL-23 ve IL-6 ve ana transkripsiyon faktörü ROR γ t'dir [75]. Th17 hücreler yüzeylerinde CCR6 (CD196) veya CD161 (KLRB1) eksprese ederler [104]. Salgıladıkları IL-17, IL-21, IL-22, IL-25 ve IL-26 gibi çeşitli sitokinler ile enfeksiyon bölgesine nötrofil ve monosit göçünü sağlar [108]. Enflamasyonu tetikleyerek vücudu hücre dışı bakteri ve mantarlara karşı korur [108-110].

TGF- β ve IL-2 sitokinleri aracılığı ile farklılaşan Treg hücreler CD3⁺CD4⁺CD25^{yüksek}CD127^{düşük}/FoxP3⁺ hücrelerdir ve ana transkripsiyon faktörü FoxP3'dür [105]. Yüzeylerinde yüksek miktarda IL-2R (CD25) ve CTLA4 (CD152) eksprese ederler [111]. Treg hücreler sekrete ettikleri granzim-B, IL-10, IL-35 ve TGF- β gibi anti-enflamatuv ar sitokinler aracılığıyla ya da yüzeylerinde eksprese ettikleri CTLA-4 ile immün sistem hücrelerini baskılayarak immün yanıtların düzenlemesinde ve homeostazın sağlanmasında rol alır [111] (Şekil 2-14). Ayrıca yüzeylerinde eksprese ettikleri yüksek miktardaki CD25 molekülü aracılığıyla ortamdaki IL-2'yi daha fazla bağlayarak, diğer T hücrelerinin aktivasyonunu baskılar [111]. Otoimmün hastalıklara karşı vücudu korumada görevlidir [104, 105, 108]. Güncel çalışmalar Treg hücrelerinin tümöre spesifik efektör T hücrelerinin aktivasyonunu ve proliferasyonunu baskılayarak anti-tümör bağışıklık yanıtlarını da etkisiz kılabildiğini göstermektedir [112].



Şekil 2-14: Treg hücrelerin dendritik hücre ve T lenfositleri baskılama fonksiyonu [113]

T_{FH} hücreleri IL-6, IL-23 ve TGF- β sitokinleri varlığında farklılaşırlar [114]. Fenotipik olarak $CD3^+CD4^+CXCR5^{yüksek}CCR7^{düşük}ICOS^{yüksek}PD-1^{yüksek}$ hücrelerdir [37]. Ana transkripsiyon faktörü bcl-6'dır. T_{FH} hücreler hem yüzeylerinde eksprese ettikleri CD40L aracılığıyla hem de sekrete ettikleri IL-21 ve IL-6 gibi çeşitli sitokinler aracılığıyla B lenfositlerde afinite olgunlaşmasını ve izotip dönüşümünü uyarır. Böylece yüksek afiniteli plazma hücrelerinin oluşumunu ve hafıza B lenfosit farklılaşmasını sağlar [114]. Ayrıca uzun ömürlü plazma hücre oluşumunu destekleyerek antikor üretiminin artmasına katkı sağlar [115].

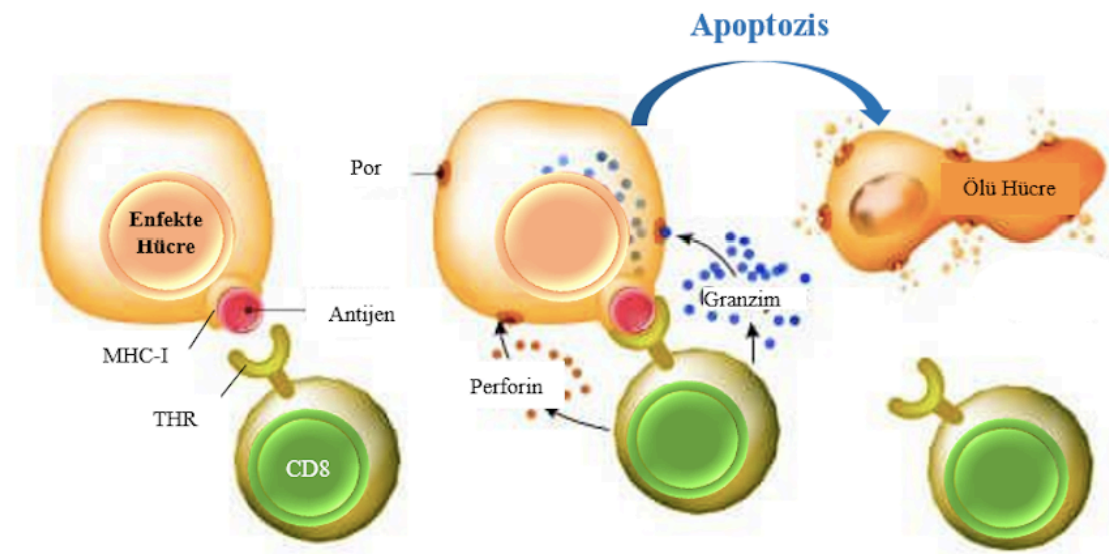
Güncel çalışmalarda Treg hücreler içinde CXCR5 eksprese eden yeni bir alt grup tanımlamıştır. T_{FR} hücreler olarak tanımlanan bu yeni hücre grubu T_{FH} ve Treg hücrelerinin hibrit fenotipine sahiptir. PD-1, CXCR5 ve ICOS gibi T_{FH} hücre yüzey belirteçlerini ve CTLA-4 gibi Treg yüzey belirteçlerini eksprese ederler [101]. Ayrıca hem Foxp3 gibi Treg transkripsiyon faktörüne hem de Bcl6 gibi T_{FH} hücreleri için gerekli transkripsiyon faktörüne sahiptir [101, 116]. GM reaksiyonlarının düzenlenmesinden, antikor salgılayan hücrelerin ve antikor yanıtların baskılanmasından, T_{FH} hücrelerinin ve GM'de B lenfositlerin proliferasyonunun sınırlandırılmasından sorumlu oldukları gösterilmiştir [117]. Tablo 2-2'de $CD4^+$ T lenfosit alt gruplarının özellikleri gösterilmiştir.

Tablo 2-2: CD4+ T Lenfosit Alt Grupları

CD4+ T Hücre Alt Grupları	T _H 1 Hücreleri	T _H 2 Hücreleri	T _H 17 Hücreleri	T _{reg} Hücreleri	T _{FH} Hücreleri	T _{FR} Hücreleri
Farklılaşmayı İndükleyen Sitokinler	IL-12 IFN- γ	IL-4	IL-23 IL-6 IL-21	TGF- β	IL-6 IL-23 TGF- β	TGF- β
Transkripsiyon Faktörleri	T-bet	GATA3	ROR γ t	FoxP3	Bcl-6	FoxP3 Bcl-6
Sekrete Ettiği Sitokinler	IL-2 IFN- γ	IL-4 IL-5 IL-13	IL-17	TGF- β IL-10	IL-21	TGF- β IL-10
Yüzey Belirteçleri	CXCR3	CCR4 CD294	CCR6 CD161	IL2R(CD25) CTLA-4 PD-1	CXCR5 ICOS PD-1	CXCR5 ICOS PD-1 CD25 CTLA-4
Fonksiyonları	Makrofaj aktivasyonu	IgE ve eozinofil/mast hücre aracılı immün reaksiyonların uyarılması, Alerjik reaksiyonlar	Bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara karşı koruyucu yanıtın sağlanması	Diğer efektör hücrelerin baskılanması	B hücre aktivasyonunun ve antikor yanıtının uyarılması	GM B hücre proliferasyonunun ve antikor üretiminin sınırlandırılması

2.2.2.2.2. Sitotoksik (CD8⁺) T Lenfositler

CD8⁺ sitotoksik T lenfositleri hem hücre içi virüs ve bakteriler ile enfekte olmuş hücrelerin hem de tümör hücrelerinin lizisinde görevli hücrelerdir [82]. CD8⁺ sitotoksik T lenfositler MHC sınıf I ile kendisine sunulan protein yapıdaki antijenleri THR'ü ile tanıyarak perforin ve granzim gibi sitotoksik enzimler salgılar [82]. Perforin ile hedef hücre zarında porlar açarak osmotik basınç değişimlerine neden olur. Granzim ile hedef hücrede kaspaz yolağını aktive ederek apoptozu indükler ve böylece enfekte veya tümör hücreleri apoptoza yönlendirir (Şekil 2-15) [118].



Şekil 2-15: Perforin ve granzim ile CD8 sitotoksik aktivitesi [119]

2.2.3. Hastalıklarda T Lenfositlerin Rolü

Yapılan çalışmalar T lenfosit alt gruplarının vücuttaki dağılım farklılıklarının veya fonksiyonel kusurlarının insanlarda PİY, otoimmünite ya da kansere neden olduğunu göstermektedir [58].

Organizmanın oto-antijenlere karşı yanıtsızlık durumu immüntolerans olarak adlandırılmaktadır. Bu toleransın bozulması otoimmün hastalıkların oluşmasındaki temel mekanizmadır. Otoimmün hastalıklarda otoantikorların yanı sıra oto-reaktif T lenfosit varlığı söz konusudur [120]. Özellikle CD4⁺ T lenfositlerin hastalığın patogenezinde veya klinik gidişinde rol oynadıkları bildirilmektedir [121]. Yapılan çalışmalar, Hashimoto tiroiditi, Tip-1 diyabet, MS gibi çeşitli otoimmün hastalıklarda CD4⁺ T lenfositlerin IFN- γ üreten Th1 yönünde farklılaştığını ve bu hastalarda baskın bir Th1 yanıtın olduğunu göstermektedir [121]. MS, RA, SLE ve psöriazis gibi otoimmün ve enflamatuvar

hastalıkların başlamasında ve ilerlemesinde Th17 yönünde farklılaşmanın ve Th17'den salgılanan IL-17, IL-22 gibi sitokinlerin potansiyel rolü olduğu bildirilmektedir [110]. Behçet hastalarında dolaşımdaki Th17 sıklığının ve serum IL-17 düzeyinin arttığı ve bunun hastalığın aktivitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [122].

Toleransın korunmasında ve otoreaktif hücrelerin baskılanmasında Treg hücreleri önemli rol oynamaktadır. Treg hücrelerinde meydana gelen işlevsel düzensizliklerin ve sayıca azalmanın otoimmün hastalıklarda etkili olduğu gösterilmiştir [105]. *FoxP3* geninde meydana gelen mutasyonlar Treg hücrelerinde sayıca azalmaya veya fonksiyon kayıplarına neden olarak insülin bağımlı diyabet veya troidit gibi klinik özelliklere sahip IPEX (bağışıklık düzensizliği, poliendokrinopati, enteropati ve X'e bağlı) sendromuna neden olmaktadır [123]. Güncel çalışmalar, T_{FR} hücre sayı ve fonksiyonundaki değişimlerin, otoantikor birikimine katkıda bulunduğunu ve otoimmün hastalıkların gelişimini destekleyen düzensiz bir germinal merkez reaksiyonuna yol açtığını göstermektedir [101]. SLE hastalarında T_{FR} hücreleri ile ilgili yapılan çalışmalar birbiri ile çelişmektedir. Bazı çalışmalarda dolaşımdaki T_{FR} hücrelerinin arttığı, bazı çalışmalarda ise hücre sayılarının azaldığı gösterilmiştir [124, 125]. Ayrıca myastenia gravis (MG) hastalarında T_{FR} hücrelerinin azaldığı, buna karşın Ankilozan spondilit (AS) hastalarında ise sağlıklı kontrollere kıyasla arttığı bildirilmiştir [126, 127]. Tüm bu çalışmalardan elde edilen ortak sonuç hastaların kanında gözlenen T_{FH}/T_{FR} oranında ki dengesizliğin otoimmün hastalıkların gelişimi açısından oldukça önemli bir belirteç olduğudur [128].

GM reaksiyonlarının oluşumunu ve B lenfositleri aktive ederek yüksek afiniteli antikor üretimini destekleyen T_{FH} hücrelerinde gözlenen sayıca artış ve aşırı aktivasyon, patojenik boyutta oto-antikor üretimine neden olarak otoimmün hastalıkların gelişimini tetikler [128]. Güncel çalışmalar SLE, RA, MS, MG ve Sjögren sendromlu hastaların periferik kanında $CD4^+PD-1^+ICOS^+CXCR5^+$ fenotipine sahip hücre seviyesinin ve serumda IL-21 düzeyinin arttığını göstermektedir [128]. T_{FH} ve IL-21 düzeyinde görülen bu artış B hücre aktivasyonunu ve oto-antikor üretimini destekleyerek otoimmün hastalık oluşumunu tetiklediği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [114, 128]. Hafıza T lenfositlerin otoimmün hastalıklarla olan ilişkisi incelendiğinde özellikle MS ve SLE hastalarının periferik kanında $CD4^+ T_{EM}$ hücre sayısında artış gözlenirken $CD4^+ T_{CM}$ hücre sıklığında azalma bulunmuştur [115, 129].

Otoimmün hastalıklarda otoreaktif CD8⁺ T lenfositler tarafından lizis edilen hedef hücreler otoantijen sekrete ederek aşırı oto-antikör üretimini indükleyebilir ve bu bölgelerde inflamasyona sebep olabilir [130]. Lenfositlerin otoimmünite patogeneziindeki rolünü inceleyen çalışmalarda MS, RA, SLE, Sjögren sendromu, tip 1 diyabet, hashimoto tiroiditi, Crohn hastalığı, MG gibi otoimmün hastaların kanında CD8⁺ T lenfosit oranında ve sayısında azalma; bunun yanında CD4/CD8 oranında ise artış gözlenmiştir [131]. Ayrıca güneş ışığı ve D vitaminin eksikliği de CD8⁺ eksikliğini arttırarak özellikle MS, otoimmün ensefalomyelit (EAE) ve diyabet gibi hastalıklarda Tc17 hücrelerinin sayısında artış olduğu saptanmıştır [130].

CD8⁺ sitotoksik T lenfositler, NK hücreleri ile birlikte tümör hücrelerinin lizisinde görevli öncelikli hücre grubudur. CD4⁺ yardımcı T lenfositler ise çeşitli sitokinler salgılayarak anti-tümör görev üstlenmektedir. Tümör mikro çevresinde, T lenfositler sürekli antijen maruziyeti nedeniyle işlevselliğini kaybederek tükenmiş (exhausted) T lenfositlere farklılaşır. Bu hücrelerin proliferasyon kabiliyeti ve efektör fonksiyonları düşüktür. Bununla birlikte, PD-1, CTLA-4 gibi inhibitör reseptörlerin ekspresyonlarındaki artış da fonksiyonel kayba uğramış exhausted T lenfositlerin bir diğer özelliğidir [132]. Th1 hücre grubu sekrete ettikleri IL-2 gibi sitokinlerle sitotoksik T lenfosit aktivasyonunu ve makrofaj sitotoksitesini arttırarak tümör hücrelerinin hücre aracılı öldürülmesini destekler [133]. Bazı tümör türlerinde Th17 hücrelerinin IL-17 ve IFN- γ salgılayarak lokal inflamasyonu ve inflamasyona bağlı tümör büyümesini teşvik ettiği, bu nedenle Th17 hücre yoğunluğunun artmasının bazı kanser türlerinde sağkalımı arttırdığı, bazılarında kötü prognoza neden olduğu bildirilmektedir [133]. Güncel çalışmalar Th17 hücrelerin Th1 hücre tipine farklılaşmasının tümör büyümesini engellemede etkili olabileceğini göstermektedir [133]. Buna karşın tümör mikro çevresinde Treg hücrelerinin Th1 ve Th17 hücre yanıtlarını baskılayarak tümör büyümesini desteklediği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [134].

2.2.3.1. Primer İmmün Yetersizlikler (PİY)

PİY'ler nötrofil, makrofaj, dendritik hücreler, kompleman proteinleri, NK hücreleri gibi pek çok doğal bağışıklık hücre ve molekülleri ile birlikte edinsel bağışıklık sistemine ait T ve B lenfositleri etkileyen genetik geçişli hastalıklardır [135]. Hastalara genel olarak erken çocukluk döneminde tanı konulmaktadır. Dünya genelindeki son verilere göre görülme sıklığı ortalama 1/10.000 iken, ülkemizde akraba evlilik oranlarının

yüksek olması nedeniyle hastalığın görülme sıklığı 30,5/100.000'dir [136]. Benzer şekilde, akraba evliliklerinin yaygın olduğu Orta-Doğu ve Kuzey Afrika ülkelerinde de hastalığın görülme sıklığı ülkemizdekine benzer oranda yüksektir [136].

Bu hastalıklarda klinik belirtiler farklılık gösterse de çoğunlukla patojenitesi düşük mikroorganizmalara karşı savunmada zayıflıklar içermektedir. Bu sebeple bireyler enfeksiyonlara karşı oldukça duyarlıdırlar ve sık tekrarlayan enfeksiyon şikayetleri ile hastaneye başvururlar [57]. Ayrıca hastaların otoimmün hastalıklara ve kansere yatkınlıkları da oldukça yüksektir [136]. PİY tanısı için 10 uyarıcı belirti bulunmaktadır. Bunlar;

1. 1 yıl içinde dört veya daha fazla kulak enfeksiyonu
2. 1 yıl içinde iki veya daha fazla ciddi sinüs enfeksiyonu
3. 2 aydan uzun süre etkili olmayan antibiyotik tedavisi
4. 1 yıl içinde iki veya daha fazla pnömoni
5. Büyüme ve gelişme yetersizliği
6. Tekrarlayan, derin cilt veya organ apseleri
7. Ağızda kalıcı pamukçuk veya ciltte mantar enfeksiyonu
8. Enfeksiyonları temizlemek için intravenöz (I.V.) antibiyotik ihtiyacı
9. Septisemi dahil olmak üzere iki veya daha fazla derin yerleşimli enfeksiyon
10. Geçmişte ailede PİY öyküsünün olması şeklinde sıralanmıştır [137].

Bu işaretlerden iki veya daha fazlası mevcut ise immün yetersizlik şüphesi ile hastaların enfeksiyon tipi, sıklığı, şiddeti, tedaviye cevap verip vermediği ve hastalığa sebep olan mikroorganizma cinsi araştırılmalıdır [138] Tam kan sayımı, idrar analizi, biyokimyasal testler, akciğer, karaciğer, dalak gibi organ tutulum tayin testleri ve eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), C-reaktif protein gibi genel testler değerlendirmede önemlidir [138]. İmmün yetersizlik hastalıkları içinde yüksek oranda antikor eksiklikleri gözlenmesi sebebiyle hastaların serum IgG, IgA ve IgM gibi antikor seviyelerinin ölçümü serum protein elektroforezi ile yapılmaktadır [138]. Tam kan sayımı, lökosit formülü ve periferik yayma ile hücresel immünitinin değerlendirilmesinin yapılması ağır viral veya bakteriyel rahatsızlık geçiren hastalarda mutlaka önerilmektedir [58]. Sitotoksikite testleri, sitokin ölçümü, gen mutasyon analizi, kromozom analizi ve T hücre reseptör analizi gibi ileri seviye testler ile de immün yetersizlik tanısı için kullanılan diğer testlerdir [138].

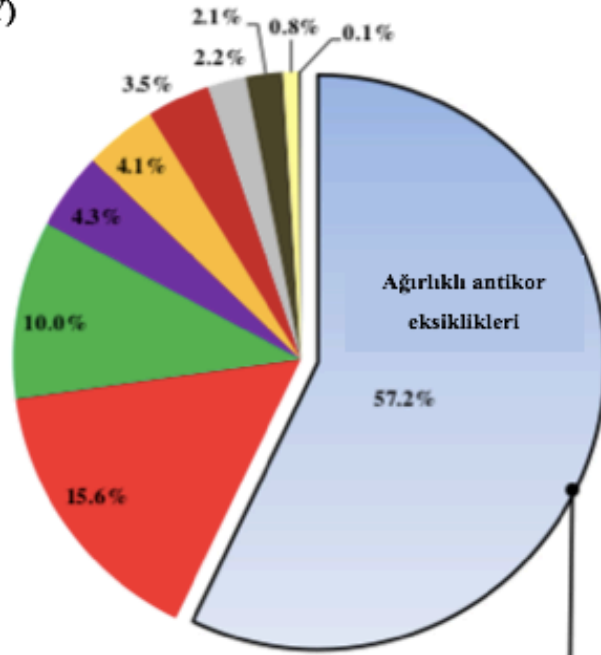
Genetik analiz maliyetlerinin yüksek olması ve sonuçların uzun zamanda alınması sebebiyle son yıllarda PİY'lerin tanısında akan hücre ölçerin kullanımı artmaktadır. Akan hücre ölçer ile hücre yüzey ve sitokinler, sitotoksik enzimler, transkripsiyon faktörleri vb. hücre içi proteinlerin varlığı kolaylıkla tespit edilebilmektedir. Böylelikle hücreleri hem fenotipik hem de fonksiyonel olarak değerlendirmek mümkündür. Bu değerlendirmelere ek olarak PİY'lerin sınıflandırmasında da akan hücre ölçer analizleri kullanılmaktadır [57].

Uluslararası İmmünolojik Dernekler Birliği'nin 2019 güncellemesine göre PİY hastalıkları 10 alt gruba ayrılmaktadır.

- 1- Kombine immün yetersizlikleri
 - 2- Sendromik özelliklere sahip kombine immün yetersizlikler
 - 3- Antikor eksiklikleri
 - 4- İmmün disregülasyon hastalıkları
 - 5- Fagositlerin konjenital defektleri
 - 6- İçsel ve doğuştan gelen bağışıklık kusurları
 - 7- Otoenflamatuvar hastalıklar
 - 8- Kompleman eksiklikleri
 - 9- Kemik iliği yetersizliği
 - 10- Doğuştan gelen bağışıklık hatalarının fenokopileri olarak sınıflandırılmıştır [139]
- (Şekil 2-16).

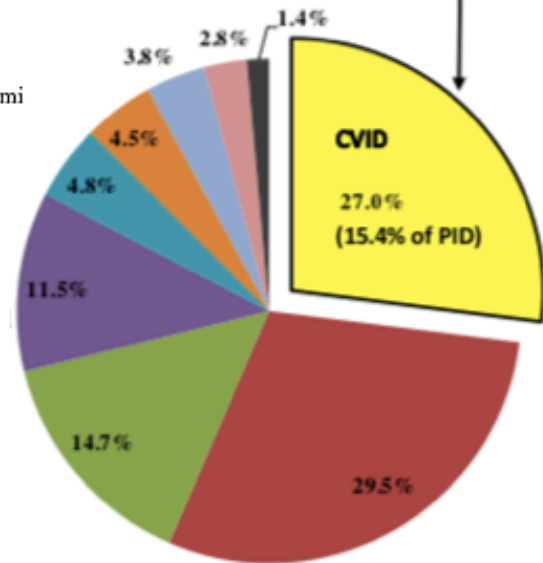
Primer immün yetersizlikler (PİY)

- Ağırlıklı antikor eksiklikleri
- Sendromik özelliklere sahip kombine immün yetmezlikler
- Belirtilmemiş veya diğer
- Hüresel ve hüresel bağışıklığı etkileyen immün yetmezlikler
- Fagosit sayısı, fonksiyonu veya her ikisinin konienital defektleri.
- Bağışıklık düzensizliği hastalıkları
- Otoenflamatuvar bozukluklar
- Kompleman eksiklikler
- İçsel ve doğal bağışıklıkta kusurlar
- Primer immün yetersizlik fenokopisi



Ağırlıklı Antikor Eksiklikleri (PAD)

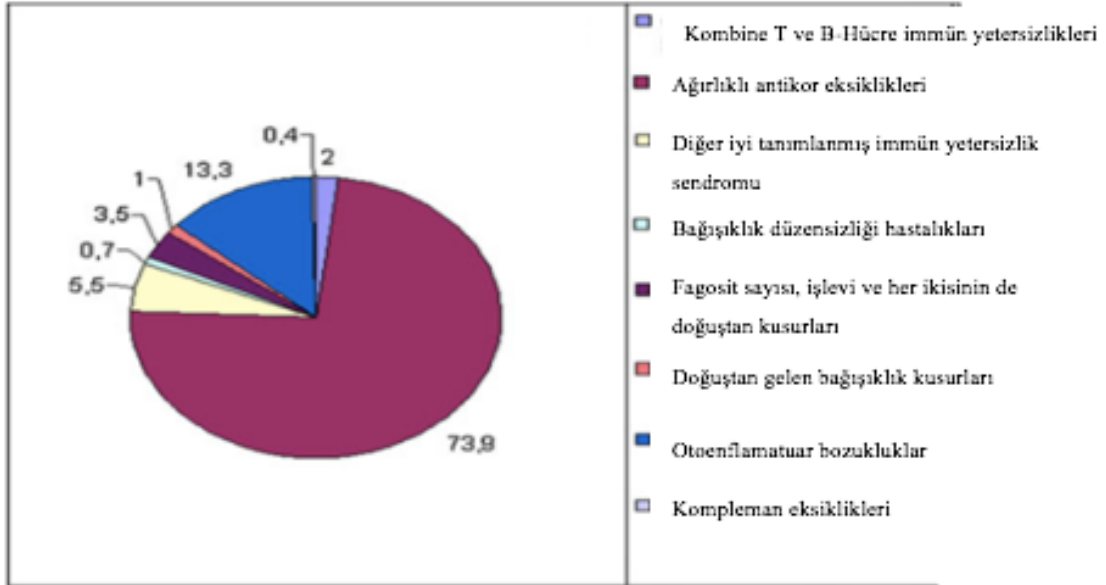
- Ortak Değişken İmmün Yetersizlik (CVID)
- Seçici IgA eksikliği, tanımlanmamış hipogamaglobulinemi ve hiper-IgM sendromu
- Spesifik antikor eksikliği (normal Ig ve B hücreleri)
- TACI eksikliği
- Bebeklik döneminde hipogamaglobulinemi, geçici (normal B hücreleri), AR
- IgG alt sınıf eksikliği
- BTK eksikliği, (X'e bağlı agammaglobulinemi) (XLA)
- IgG alt sınıf eksikliği olan IgA
- Diğer



Şekil 2-16: Uluslararası İmmünolojik Dernekler Birliği tarafından immün yetersizliklerin sınıflandırılması [139]

Antikor eksiklikleri, PİY hastalarının %65-%70'ini oluşturarak PİY hastalıkları içinde en sık gözlenen hastalık grubunu oluşturmaktadır [136]. Toplumda en sık rastlanan immün yetersizlik 1/300-500 görülme sıklığı ile selektif IgA eksikliğidir [136]. Bunu otoenflamatuvar hastalıklar, kombine T ve B lenfosit yetersizlikleri, fagosit defektleri ve kompleman eksiklikleri izlemektedir [140]. PİY hastalıkları, otozomal dominant,

otozomal resesif veya X'e bağılı kalıtılmaktadır [136]. Ülkemizde PİY hastalıklarının dağılımı Şekil 2-17'de gösterilmiştir [140].



Şekil 2-17: Ülkemizde primer immün yetersizlik dağılımı[140]

T lenfosit kusurlarında en yaygın gözlenen primer immün yetersizlik DiGeorge sendromudur. Bu hastalarda timus gelişimi sırasında 22. kromozomda (22q11) meydana gelen delesyonlar sonucu *TBX1* geni etkilenerek T lenfosit immün yetersizliği görülmektedir [141]. Hastalarda enfeksiyonlara karşı yatkınlık sık görülmektedir. Timusta T lenfosit gelişiminde ki kusur nedeniyle ortaya çıkan ve PİY'ler içerisinde en sık karşılaşılan bir diğer hastalık grubu ağır kombine immün yetersizlik (AKİY)'dir. Yaşamın erken dönemlerinde ortaya çıkan bu yetersizlik nedeniyle hastalarda tam bir T lenfosit yoksunluğu söz konusudur [142]. Bu hastalarda yapılan akan hücre ölçer çalışmaları sonucu immünofenotipik özelliklerine göre farklı sınıflara ayrılmıştır. T⁺B⁺NK⁻ fenotipli AKİY hastalarında ADA eksikliği gözlenirken, T⁺B⁺NK⁺ AKİY'de *RAG1* ve *RAG2* genlerinde mutasyonlar bulunmuştur [142]. T⁺B⁺NK⁻ fenotipine sahip hastalar ise *JAK3* gen mutasyonu olan hastalardır. Bu fenotipe sahip hastalar X'e bağılı AKİY (X-AKİY)'li hastalar olarak tanımlanır ve bu hastalarda CD132 ekspresyonu yeterli değildir [142]. T⁺B⁺NK⁺ fenotipine sahip olanlar ise CD3 alt birimlerinde eksiklikler gözlenmiş hastalardır. CD4⁺CD45RA⁺CD31⁺ fenotipine sahip residual timik emigrant (RTE - yeni timik göçmenler) hücrelerinin de AKİY'li hastalarda azaldığı gözlenmiştir ve bu sebeple RTE hücreleri yeni doğanlarda AKİY taraması için kullanılan parametreler arasında yer

almaktadır. Yeni doğanlarda gözlenen ve timusta T lenfosit gelişimi sırasında *RAG1* ve *RAG2* geninde meydana gelen mutasyonlar sonucu gelişen Omenn sendromlu hastalarda ise Th2 hücrelerinde sayıca artış olduğu gösterilmiştir [102, 143]. Bunun yanı sıra bu hastalarda aşırı IL-4 ve IL-5 üretimi ve serumda IgE artışı gözlenmiştir [102]. T lenfosit fonksiyonunda meydana gelen kusurlar sonucu yeni doğanlarda sık tekrarlayan enfeksiyonlar ile Wiskott-Aldrich sendromu ortaya çıkar. Bu hastalık WAS proteinini kodlayan (*WASP*) genlerdeki mutasyonlar nedeniyle oluşan X'e bağlı resesif geçişli nadir görülen bir hastalıktır [144]. Naif T lenfosit sayısında azalma ilerleyen yaşlarda lenfopeni ile sonuçlanmaktadır [145]. Hastaların IgM seviyeleri düşük, IgA ve IgE seviyeleri ise yüksek olarak gözlenmiştir. YDIY, aktif T hücrelerinin *ICOS* geninde meydana gelen delesyonlar sonucu azalmış ICOS ekspresyonu ile kendini göstermektedir. Bu durum hastalarının periferik kanında $CD4^+CXCR5^+$ T_{FH} hücrelerinde ve B lenfositlerde sayıca azalmaya neden olarak, hafıza B hücre ve GM'de gelişim kusurları oluşmasına ve B hücrelerinde afinite olgunlaşmasının bozulmasına neden olmaktadır [146]. Ayrıca YDIY hastalarında yapılan bir çok araştırmada çoğunlukla $CD8^+$ T lenfosit seviyesinin normal ve $CD4^+$ T lenfosit seviyelerinde ise azalma gözlenmiştir [128]. Bunun yanı sıra bu hastalarda merkezi ve efektör hafıza hücreleri açısından anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Treg ve RTE hücrelerinde ise sayıca azalma saptanmıştır [147].

2.2.3.2. İmmün Yaşlanma

Yaşlanma, organizmada birçok sistem ile birlikte bağışıklık sistemini de etkilemektedir. Yaşanan bu değişiklikler yaşlı bireyleri enfeksiyonlara ve tümörlere karşı duyarlı hale getirmektedir [148]. Güncel çalışmalar yaşlı bireylerde naif $CD4^+$ T lenfositlerin proliferasyonunda azalma olduğu, Th1 ve Th2 hücre farklılaşmasının azaldığı, Th17 proliferasyonunun ise arttığını göstermektedir [148]. Yaş ile birlikte $CD8^+$ T lenfositlerde gözlenen sayıca azalmanın yanı sıra Treg hücre sayılarında bir artış olduğunu ortaya koymaktadır [148]. Bu hücrelerde görülen sayıca artış, enfeksiyöz ajanlara ve tümör hücrelerine karşı efektör hücreleri baskılayarak homeostazın bozulmasına neden olduğu bildirilmektedir [148].

Çalışma öncesi yapmış olduğumuz araştırmalar sonucu sağlıklı erişkin bireylerde B ve T lenfosit alt gruplarının analiz edildiği rutin tetkiklerde kullanılmak üzere güncel ulusal referans değerleri bulunmadığı gözlemlenmiştir. Bu sebeple, klinisyenler ve temel bilimciler, PIY hastaları için yapılan rutin tetkikler sonrası analiz sonuçlarını yorumlamakta ve doğru değerlendirmeleri yapmakta zorlanmaktadır. Referans

değerlerinin olmaması, rutin tetkikler sırasında hastadan elde edilen sonuçların yorumlanması için sağlıklı olduğu kabul edilen bir kişiden alınan örnekte aynı çalışmaların yapılmasına neden olmaktadır. Bu durum hem zaman kaybına hem de test maliyetinin artmasına yol açmaktadır. Çoğunlukla hasta yakınları sağlıklı olarak kabul edilerek kan örnekleri bu kişilerden alınmaktadır. Ancak PİY hastalıkları genetik geçişli hastalıklardır ve hasta yakınının taşıyıcı olma durumu söz konusu olabileceğinden sonuçların güvenilirliği de etkilenmektedir.

Özetle; tüm bu sebeplerin ışığında bu çalışmada, hasta sonuçlarını yaşa bağlı olarak daha güvenilir yorumlamak ve test maliyetlerini azaltmak için erişkin sağlıklı kadın ve erkek bireylerde T ve B lenfosit alt gruplarının yaşa özgü referans aralıklarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gönüllülerin Seçimi

Çalışmamıza 18.01.2021 - 31.03.2021 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezine kan bağışı gönüllüsü olan 20 - 60 yaş arası 60 erkek (ortalama yaş $\pm$ SD, $38,44 \pm 11,76$) ve 58 kadın (ortalama yaş $\pm$ SD, $38,87 \pm 10,53$) olmak üzere 118 sağlıklı erişkin birey dahil edildi. Kadın ve erkek gönüllüler yaşlarına göre kendi aralarında 20-29, 30-39, 40-49 ve 50-60 olarak 4 farklı yaş grubuna ayrıldı.

Yaşanan koronavirüs salgını (COVID-19) nedeniyle, COVID-19 geçirmemiş, son 10 gün içinde COVID-19 geçirmiş kişi ile teması olmayan, kendisine ya da birinci derece akrabalarına alerji, otoimmünite, PİY ya da kanser tanısı konulmamış, son bir yıl içerisinde doku, organ ve kan nakli olmayan, hepatit B taşıyıcısı olmayan, herhangi bir ilaç tedavisi almayan, kan örneği alındığı esnada herhangi bir enfeksiyöz hastalık geçirmeyen, hamile olmayan, vücut kitle indeksi (VKİ) 17-31 aralığında olan bireyler çalışmaya gönüllü olarak dahil edildi.

Gönüllülerin çalışmaya dahil edilme/edilmeme kriterleri İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezinin kan bağışı için belirlediği kriterler dikkate alınarak oluşturuldu.

3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Gönüllülerin çalışmaya dahil edilme kriterleri şu şekildedir:

- 20-60 yaş arasında olmak
- Nabızı düzenli ve dakikada 50 ile 100 arasında olmak
- Sistolik basınç (büyük tansiyon) en az 90 mmHg, en çok 180 mmHg ve diastolik basınç (küçük tansiyon) en az 60 mmHg, en çok 100 mmHg olmak
- Hemogloblin değerleri kadınlarda 12,5 - 16,5 g/dL, erkeklerde 13,5 - 18 g/dL aralığında olmak
- Vücut ağırlığı 50 kg'ın üstünde olmak
- Vücut sıcaklığı 37,0°C'nin altında olmak
- COVID-19 geçirmemiş olmak
- Son 10 gün içinde COVID-19 pozitif bireylerle temaslı olmamak
- AIDS (HIV) ve sarılık gibi hastalıklara sahip olmamak

- Ailesinde veya birinci derece akrabalarında alerji, PİY ve otoimmün hastalığı olmamak
- Çalışmaya gönüllü olmak
- VKİ 17 - 31 aralığında olmak
- İlaç kullanmamak
- Hepatit B taşıyıcısı olmamak
- Son 1 yıl içerisinde doku, organ veya kan nakli olmamak
- Hamile olmamak

3.3.2 Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri:

Gönüllülerin çalışmaya dahil edilmeme kriterleri şu şekildedir:

- Sebebi açıklanamayan ateşi, kilo kaybı, gece terlemesi, büyümüş lenf bezi veya kitlesi, deride mor lekeler, ağız ve boğazda beyaz döküntüler, uzun süren ve iyileşmeyen öksürük veya diarezi olmak
- Pıhtılaşma problemi veya hemofili hastası olmak
- COVID-19 geçirmiş olmak
- Son 10 gün içinde COVID-19 pozitif bireylerle temaslı olmak
- İlaç kullanıyor olmak
- Enfeksiyon geçiriyor olmak
- 18 yaşından küçük olmak
- VKİ 17-31 aralığında olmamak
- Çalışmaya gönüllü olmamak
- Uzman hekim tarafından kan bağıışı yapmaya uygun bulunmamak
- Ailesinde ve birinci derece akrabaları arasında PİY hastalığı olmak
- Beyaz kan hücre (WBC) değeri $4 - 11 \times 10^3/\text{mm}^3$ aralığı dışında olmak
- Hamile olmak

3.2. Kan Örneklerinin Temini

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezinin görevli uzman hekimi tarafından kan bağıışı yapabileceği uygun görülen, çalışmanın dahil edilme kriterlerine uyan, çalışmaya gönüllü olup gönüllü onam formunu doldurup imzalayan kişilerin kan sayım analizi için alınan EDTA'lı kan tüpleri, ilgili birimin yapacağı işlem bittikten sonra çalışma için alındı. Çalışma kapsamında gönüllülere ayrıca bir invaziv girişim yapılmadı. Çalışmamız İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik

Kurulunun 21/08/2020 tarih ve 19 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulundu. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi (Proje No: 37095) tarafından desteklenmiştir.

3.3. Kullanılan Malzemeler

3.3.1. Cihazlar ve Kimyasallar

İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü (DETAE) İmmünoloji Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan ve çalışma sırasında kullanılan cihazların ve kimyasalların listesi Tablo 3.2’de verildi.

Tablo 3-2: Çalışma sırasında kullanılan cihazlar ve kimyasallar

Cihaz	Kimyasal	Marka	Model	Menşe
Akan Hücre Ölçer		NovoCyte	3005	Agilent, ABD
Santrifüj		Nüve	NF1200R	Türkiye
Kan Sayım Cihazı		Rayto	RT-7600	Çin
Vorteks		DigitMex		
10 - 200µl’lik Pipet		Axygen		
10 - 100µl’lik Pipet		Eppendorf		Almanya
1 - 10µl’lik Pipet		Gilson		ABD
		Lizis Solüsyonu	BD FACS	ABD
		Flow Sheath	BD FACS	ABD

3.4. Kullanılacak Monoklonal Antikorların Belirlenmesi

Analizi yapılacak hücrelerin ve bu hücrelerin alt gruplarının saptanması için 3 panel (B hücre, T hücre ve Treg hücre paneli) oluşturuldu. B hücre, T hücre ve Treg hücre panellerinde kullanılan antikorlar ve özellikleri ile ilgili detaylı bilgiler Tablo 3.3’de verildi. Kullanılacak olan monoklonal antikorların floresan seçiminde antijen ekspresyon seviyeleri dikkate alındı. Hücre yüzeyinde yüksek düzeyde ifade edilen antijenler için

düşük floresan ışımaya (örneğin; FITC) sahip boyalar, az ifade edilen antijenler için ise PE, APC gibi parlak florokrom özelliğe sahip boyalar seçildi.

Tablo 3-3: Oluşturulan panel ve antikor bilgileri

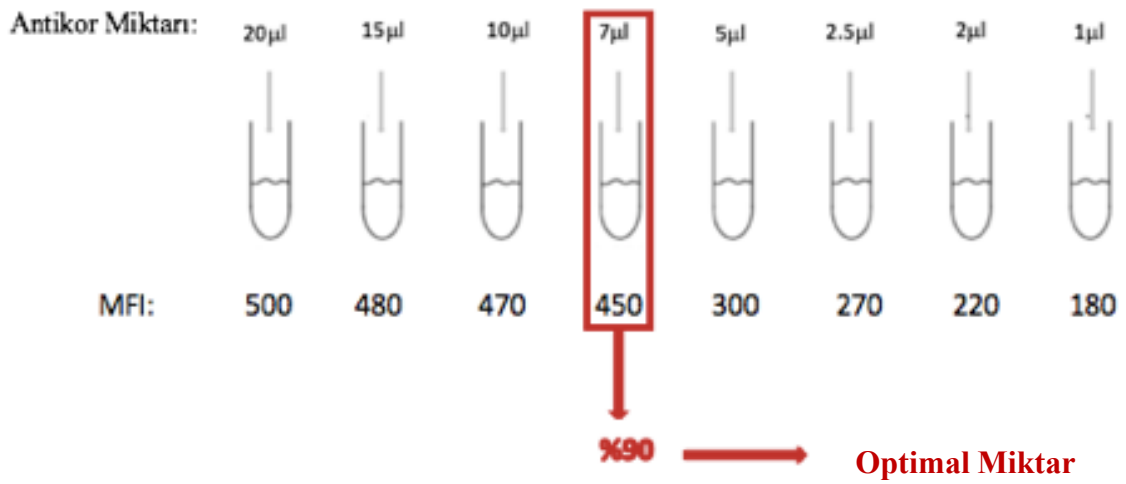
	Antikor	Florokrom	Klon	Marka	Katalog No
T Hücre Panel	CD45RA	FITC	L48	BD	335039
	CCR7 (CD197)	PE	3D12	BD-Pharmingen	552176
	CD31	PE.Cy7	WM59	BD-Pharmingen	563651
	CD4	APC	OKT4	Biolegend	317416
	CD8	APC/Cy7	SK1	BD-Pharmingen	557834
	CD3	AlxF700	OKT3	Biolegend	317340
	CD45	BV510	HI30	BD-Horizon	563204
Treg Hücre Panel	CXCR5 (CD185)	FITC	J252D4	Biolegend	356914
	CD25	PE	2A3	BD	341011
	CCR6 (CD196)	PE.Cy7	11A9	BD-Horizon	560620
	CD4	APC	OKT4	Biolegend	317416
	CD8	APC/Cy7	SK1	BD-Pharmingen	557834
	CD3	AlxF700	OKT3	Biolegend	317340
	CD127	BV421	HIL-7R-M21	BD-Horizon	562436
	CD45	BV510	HI30	BD-Horizon	563204
	CXCR3 (CD183)	BV711	IC6/CXCR3	BD-Horizon	563156
B Hücre Panel	IgD	FITC	IA6-2	Biolegend	348206
	CD5	PE.Cy5	UCHT2	BD-Pharmingen	555354
	CD27	PE.Cy7	M-T271	Biolegend	356412
	CD19	APC	SJ25C1	BD	345791
	CD45	BV510	HI30	BD-Horizon	563204

3.5. Antikor Titrasyonu ve Kompanzasyon Ayarları

3.5.1. Titrasyon Deneyleri

Uygun monoklonal antikor ve floresan boya seçimi sonrası her bir antikor için titrasyon deneyleri yapıldı. Fazla miktarda konulan antikorum, ortamda bulunan düşük afiniteli antijenlere de bağlanma olasılığı artacağı için arka planda kirliliğe sebep

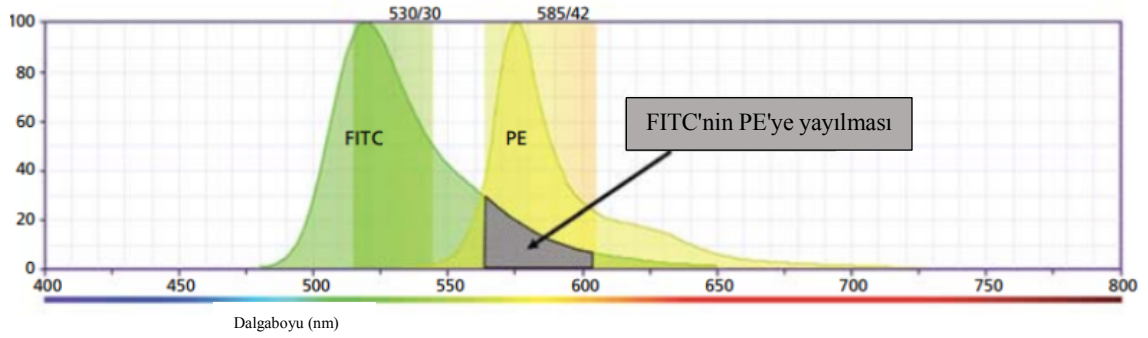
olacağından, küçük popülasyonların görünürlüğü azalacak ve yanlış değerlendirmelere sebep olacaktır. Bu nedenle her antikor için firmanın önermiş olduğu miktardan (örn: 20 μ l) belirli oranlarda daha az miktarda antikor eklenmiş tüpler hazırlandı (Şekil 3-1). 3.7’de tanımlanan işlemler uygulandıktan sonra tüpler akan hücre ölçer cihazında okutuldu. Farklı miktarlarda antikor eklenerek hazırlanmış tüplerin ortalama floresan yoğunluğu (Mean Fluorescence Intensity-MFI) hesaplandı. Firmanın uygun gördüğü antikor miktarının sahip olduğu MFI değerinin %90’ından az olmayan antikor miktarı optimal hacim olarak seçildi.



Şekil 3-1: Antikor titrasyon deneyi

3.5.2. Kompanzasyon Ayarları

Her florokromdan yayılan fotonlar farklı dalga boylarına sahiptir ve akan hücre ölçer analizleri sırasında filtreler birden fazla florokromdan gelen sinyali algılayabilir. Ancak bazı durumlarda aynı panel içerisinde kullanılan (örneğin, FITC ve PE) boyalardan gelen sinyallerde dalga boylarının çakışması (spillover) söz konusudur (Şekil 3-2). Böyle durumlarda farklı florokrom boyalarla işaretlenmiş hücre popülasyonlarını ayırmak ve ‘çift (double) pozitif’ sinyalleri engellemek için PE kanalı boyunca gözlenen FITC ile çakışma bölgesinin çıkarılması ve kompanzasyon ayarlarının yapılması oldukça önemlidir.



Şekil 3-2: FITC ve PE için emisyon spektrumu [149]

Kompanzasyon ayarlarını yapmak için;

- Çalışmada kullanılacak her bir panel için kompanzasyon ayarları ayrı ayrı yapıldı.
- Her panelde yer alan her bir antikor için ayrı ayrı tüpler hazırlandı.
- Her tüpe titrasyon deneyleri sonrası belirlenen uygun hacimlerde antikor eklendi.
- Kullanım öncesi CompBeads Anti-Mouse Igk (BD Biosciences, CA) (Cat. No: 552843) ve CompBeads Negatif kontrol boncukları (BD Biosciences, CA) (Cat. No: 552843) iyice vortekslendi.
- Her antikor tüpüne bir damla CompBeads Anti-Mouse Igk ve bir damla CompBeads Negatif kontrol boncukları eklendi.
- Tüpler vortekslenerek 15 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası her tüpe 2 ml FACS Flow Sheat eklenerek 5 dk 1800 rpm'de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası üst sıvı boşaltıldı.
- Her tüp üzerine 300 µl FACS Flow Sheat ilave edildi.
- Novocyte cihazında kompanzasyon programı açıldı. Her panel için ilgili renkler programdan seçildi.
- Tüm tüpler tek tek akan hücre ölçer cihazında okutuldu.
- Her bir tüpte bulunan negatif ve pozitif popülasyonlar histogram grafiklerinde gözlemlendi.
- Her bir panelin kompanzasyon ayarları cihaz tarafından otomatik olarak yapıldı ve kompanzasyon matriksi elde edildi.
- Tüm örnekler bu kompanzasyon ayarlarında okutuldu.

3.6. Kontrol (Boyasız) Tüp Kullanımı

Kontrol tüpünün kullanım amacı, herhangi bir florokrom ile işaretlenmeyen örnekler akan hücre ölçerde okutularak dot-plot grafiklerinde boyasız (negatif) hücrelerin yerini belirlemektir. Boyasız hücreler Forward Scatter (FSC-ileri saçılım) ve Side Scatter (SSC-yana saçılım) diyagramı üzerinde büyüklük ve granülitesine göre ayrılarak lenfosit popülasyonunun yeri ve bu lenfositler içinde oluşturulan dot-plot grafiklerinde boyasız hücrelerin ve dolayısıyla dot-plot veya histogram grafiklerinde kadranın konulacağı yer belirlenir. Böylece pozitif sinyallerin başlama noktası işaretlenir. Bu çalışmada da her gönüllü için boyasız negatif kontrol tüpü kullanılarak çalışmalar gerçekleştirildi.

3.7. T ve B Lenfosit Alt Gruplarının Değerlendirmesi

- Çalışmaya dahil edilen her gönüllü için 1 negatif kontrol ve 3 panel (B hücre, T hücre ve Treg hücre panel) tüpü olacak şekilde 4 flow tüpü hazırlandı.
- Her tüp üzerine gönüllü isimleri ve panel adı yazıldı.
- B, T ve Treg hücre panel tüplerine Tablo 3.3’de belirtilen antikorlar uygun miktarda eklendi.
- Gönüllü örneklerinin kan sayımı yapıldı.
- Her tüpe, içinde 1×10^6 hücre olacak şekilde uygun miktarda kan eklendi.
- Antikor ve kan eklenen tüpler vortekslenerek oda sıcaklığında karanlıkta 15 dakika (dk) inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon sonrasında hücrelerin üzerine, eritrositlerin patlatılarak ortamdan uzaklaştırılması amacıyla, 2 ml lize edici lysing solüsyon (BD FACS, ABD) eklendi.
- Tüpler tekrar vortekslenerek oda sıcaklığında 15 dk karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon sonunda yıkama için izotonik bir tampon çözelti olan 2 ml Flow Sheat (BD FACS, ABD) sıvısı eklenerek 5 dk 1800 rpm’de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası üst sıvılar uzaklaştırılarak ikinci yıkama için tekrar 2 ml FACS Flow Sheat sıvısı eklendi ve 5 dk 1800 rpm’de santrifüj edildi.

- Tüpler içerisindeki üst sıvı uzaklaştırılarak her tüpe 300µl FACS Flow Sheat sıvısı ilave edildi.
- Tüpler Novocyte (ACEA Biosciences, ABD) akan hücre ölçer cihazında okutuldu.
- Analizler NovoExpres (ACEA Biosciences, ABD) programında yapıldı.

3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için GraphPad Prism versiyon 9 kullanılarak yapıldı. Değerlendirilecek tüm parametrelerin ortalama değerleri, standart sapma ve %2,5-%97,5 persentile değerleri hesaplandı. Normal dağılım gösteren bağımsız ve 2'li gruplara ait test istatistikleri Student-t testi ile, normal dağılım göstermeyen ve grup içi sayıların çok düşük olduğu durumlarda ölçüm değişkenlerine ise Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Yaş grupları ve tüm parametreler Kruskal-Wallis ve iki yönlü varyans analizi (Two way ANOVA) ile karşılaştırılarak değerlendirildi. İstatistiksel olarak anlamlı p değeri ≤ 0.05 kabul edildi.

4. BULGULAR

Erişkin sağlıklı bireylerde T ve B lenfosit alt gruplarının yaşa özgü referans aralıklarının belirlenmesi amacıyla çalışmaya dahil edilen 60 erkek ve 58 kadın olmak üzere toplam 118 sağlıklı bireye ait yaş grupları, yaş ortalaması, VKİ, beyaz kan hücresi (WBC), lenfosit (Lym) bilgileri ve sigara kullanma alışkanlıklarına ait veriler Tablo 4.1’de verildi.



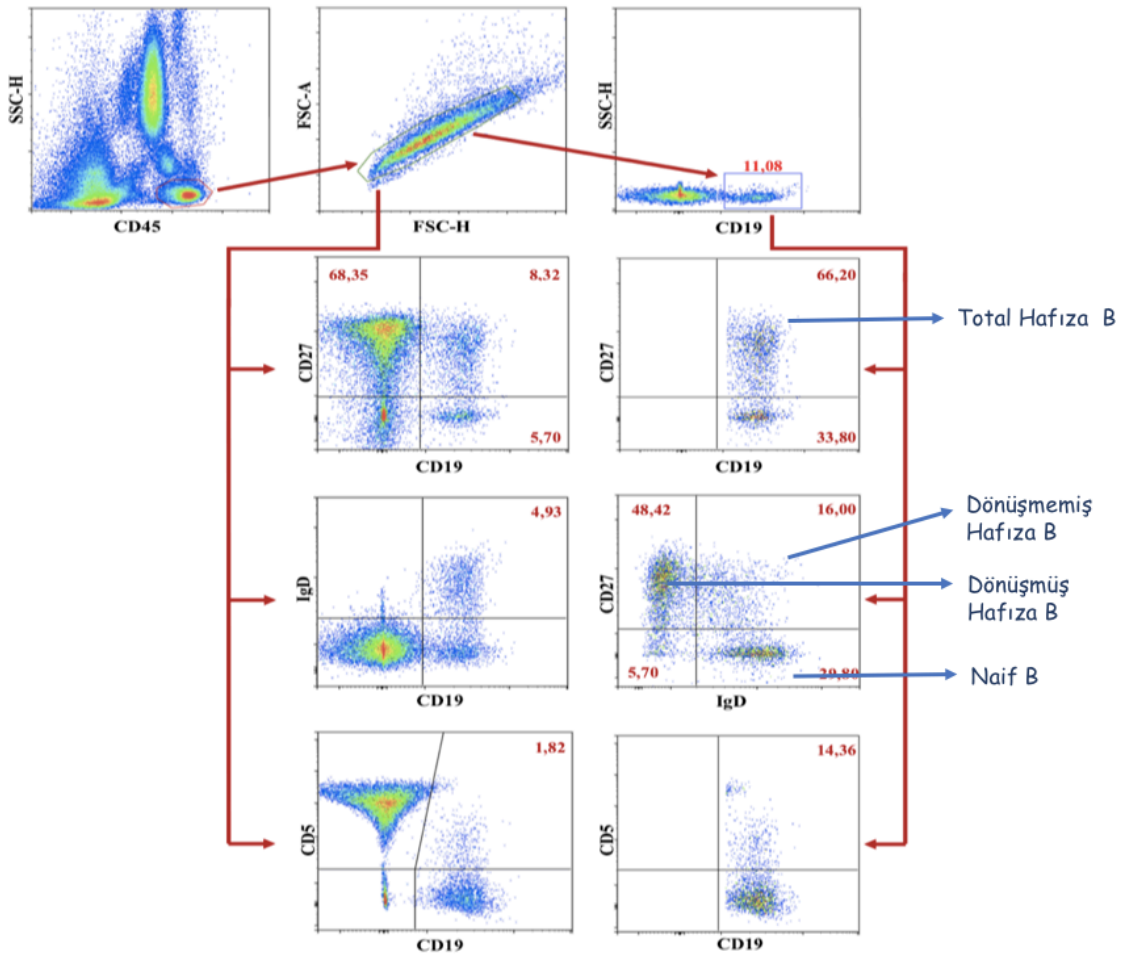
Tablo 4-1: Gönüllü grupları ve gruplara ait bilgiler, VKİ: vücut kitle indeksi, WBC: lökosit, Lym: lenfosit

	<i>Gönüllü Yaş Grupları</i>	<i>Gönüllü sayısı (n)</i>	<i>Gönüllü yüzdesi (%)</i>	<i>Yaş Ort Yaş± SD</i>	<i>VKİ Ort ±SD</i>	<i>WBC Ort±SD (10³/mm³)</i>	<i>Lym Ort±SD (10³/mm³)</i>	<i>Sigara içme yüzdesi (%)</i>
<i>KADIN</i>	20 - 29 yaş	17	14,40	26,23 ± 2,19	21,45 ± 2,60	6,67 ± 1,24	2,16 ± 0,48	11,76
	30 - 39 yaş	15	12,71	36,53 ± 2,61	21,77 ± 3,40	7,68 ± 1,23	2,35 ± 0,58	13,33
	40 - 49 yaş	15	13,55	43,93 ± 2,31	24,71 ± 3,01	6,90 ± 1,69	2,10 ± 0,55	0
	50 - 60 yaş	11	9,32	54,72 ± 3,63	24,42 ± 2,54	5,51 ± 1,79	1,88 ± 0,60	9,09
	Toplam Kadın	58	49,20	38,87 ± 0,53	23,00 ± 3,22	6,78 ± 1,61	2,14 ± 0,55	8,62
<i>ERKEK</i>	20 - 29 yaş	15	12,71	23,80 ± 3,27	24,73 ± 2,79	6,69 ± 1,57	2,45 ± 0,64	13,33
	30 - 39 yaş	15	12,71	33,20 ± 2,14	25,23 ± 2,18	6,94 ± 1,55	2,08 ± 0,63	13,33
	40 - 49 yaş	16	12,71	42,81 ± 2,25	25,22 ± 2,14	6,93 ± 1,46	2,27 ± 0,63	18,75
	50 - 60 yaş	14	11,86	54,85 ± 3,54	25,63 ± 4,29	7,01 ± 1,65	2,29 ± 0,49	0
	Toplam Erkek	60	50,80	38,44 ± 11,76	25,00 ± 2,80	6,89 ± 1,52	2,26 ± 0,61	11,66
<i>GENEL TOPLAM</i>	20 - 60 yaş	118	100	38,66 ± 11,12	24,00 ± 3,23	6,83 ± 1,56	2,20 ± 0,58	10,16

4.1. B Lenfosit Panel Bulguları

Tüm örneklerde SSC/CD45 grafiğinde $CD45^+$ lenfositler kapılanarak lenfositler içinde 100.000 hücre analiz edildi. FSC-A/FSC-H grafiğinde duplike hücreler dışlandı. Lenfositler içinde $CD19^+$, $CD19^+CD27^+$, $CD19^-CD27^+$, $CD19^+CD5^+$ ve $CD19^+IgD^+$ değerleri hem yüzde hem de mutlak değer olarak analiz edildi. Mutlak değer, her bir gönüllüye ait tam kan sayımı testinde elde edilen lenfosit sayısının akan hücre ölçer ile elde edilen parametreye ait yüzde değeri ile çarpılarak hesaplandı.

Lenfositler içinde SSC/CD19 grafiğinde $CD19^+$ hücreler kapılandı. $CD19^+$ B lenfositler içinde $CD27^+$ (total hafıza B), $CD27-IgD^+$ (naif B), $CD27^+IgD^+$ (dönüşmemiş hafıza B), $CD27^+IgD^-$ (dönüşmüş hafıza B), $CD27-IgD^-$ ve $CD5^+$ hücre oranları kadın ve erkek yaş grupları arasında analiz edildi. B lenfosit alt gruplarının kapılama stratejisi Şekil 4-1’de gösterildi.



Şekil 4-1: B lenfosit ve alt gruplarının kapılama stratejisi

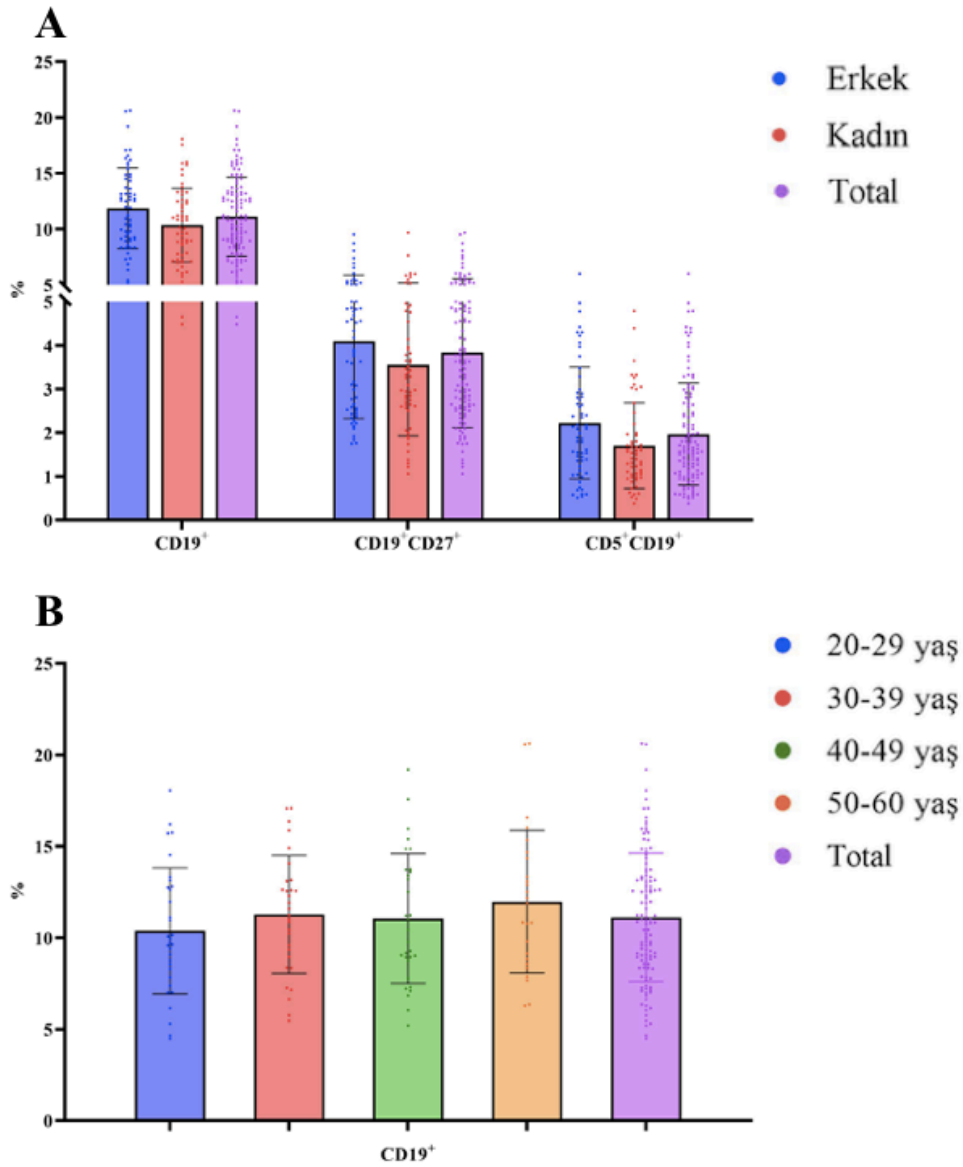
Lenfositler içinde $CD19^+$, $CD19^+CD27^+$, $CD19^-CD27^+$, $CD19^+CD5^+$ ve $CD19^+IgD^+$ hücre oranları ve $CD19^+$ lenfositler içinde B hücre alt grup oranları hem kadın ve erkek grupları hem de yaş grupları arasında analiz edildiğinde anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Bu nedenle her bir parametre için referans değeri kadın ve erkek yaş grupları için ayrı ayrı değil tüm bireyler için verildi.

Lenfosit kapısında referans değerleri $CD19^+$ B lenfositler için **%5,17-%19,23**, $CD19^+CD27^+$ hücreler için **%1,29-%8,78**, $CD19^-CD27^+$ hücreler için **%27,27-%78,43**, $CD19^+CD5^+$ hücreler için **%0,50-%4,79** ve $CD19^+IgD^+$ hücreler için **%2,27-%15,05** olarak hesaplandı. Kadın ve erkek yaş gruplarına ait değerler Tablo 4-2 ve Şekil 4.2’de verildi.



Tablo 4-2: Lenfosit kapısında B lenfosit alt grup dağılımları (MD= mutlak değer)

	20-29 Kadın	20-29 Erkek	30-39 Kadın	30-39 Erkek	40-49 Kadın	40-49 Erkek	50-60 Kadın	50-60 Erkek	Total Kadın	Total Erkek	Total Grup
CD19⁺ (%)											
Ortalama±SD	9,60±3,79	11,25±2,87	10,73±2,91	11,83±3,51	10,55±3,29	11,51±3,81	10,70±3,22	12,98±4,20	10,35±3,29	11,87±3,59	11,12±3,51
%2,5-%97,5 Persentil	4,48-18,06	7,38-16,21	5,77-15,88	5,45-17,09	6,04-17,57	5,19-19,20	6,29-16,02	6,35-20,62	4,56-17,83	5,32-20,59	5,17-19,23
CD19⁺ (MD)											
Ortalama ±SD	200±70	260±110	260±110	250±80	220±100	250±100	200±110	300±120	220±100	260±100	240±100
2,5-97,5	80-310	150-540	80-470	110-460	70-410	100-410	40-420	120-530	50-460	100-530	80-490
CD19⁺CD27⁺ (%)											
Ortalama ±SD	3,48±2,11	4,05±1,80	3,92±1,7	4,22±1,65	3,15±1,27	3,62±1,36	3,71±1,02	4,59±2,31	3,55±1,62	4,09±1,77	3,83±1,716
%2,5-%97,5 Persentil	1,06-9,68	1,76-7,4	1,22-7,65	1,92-8,72	1,30-5,98	1,75-6,02	2,57-5,84	1,84-9,54	1,13-8,76	1,75-9,13	1,29-8,78
CD19⁺CD27⁺ (MD)											
Ortalama ±SD	70±40	100±50	90±40	80±30	60±30	80±40	70±40	100±50	70±40	90±40	80±40
2,5-97,5	20-160	30-230	20-200	30-130	20-120	30-160	10-140	40-220	10-180	30-230	20-200
CD19⁺CD27⁺ (%)											
Ortalama ±SD	67,07±8,71	61,24±10,59	60,02±10,71	52,12±12,71	62,59±9,89	49,29±9,48	49,38±11,47	40,42±15,4	60,75±11,62	51,09±13,85	55,84±13,63
%2,5-%97,5 Persentil	52,98-79,32	42,99-75,64	41,48-74,51	30,33-70,27	40,73-78,65	28,24-63,96	31,62-63,87	7,68-61,53	34,52-79,02	11,50-75,04	27,27-78,43
CD19⁺CD5⁺ (%)											
Ortalama ±SD	1,61±0,63	2,47±1,53	1,70±10	2,15±1,08	1,56±0,91	2,11±1,19	2,01±1,44	2,14±1,37	1,70±0,97	2,22±1,28	1,96±1,16
%2,5-%97,5 Persentil	0,49-3,05	0,51-4,97	0,53-3,33	0,55-4,30	0,38-3,65	0,58-4,78	0,61-4,79	0,69-5,99	0,43-4,60	0,53-5,45	0,50-4,79
CD19⁺IgD⁺ (%)											
Ortalama ±SD	6,51±3,34	7,87±1,61	7,43±2,79	8,87±3,14	7,22±2,99	8,03±3,36	7,55±2,64	9,01±3,60	7,13±2,94	8,43±2,99	7,79±3,02
%2,5-%97,5 Persentil	1,60-12,44	5,16-10,67	3,40-12,91	3,43-15,04	2,28-14,62	3,37-13,73	3,77-12,06	3,40-15,61	1,82-3,81	3,38-15,58	2,27-15,05

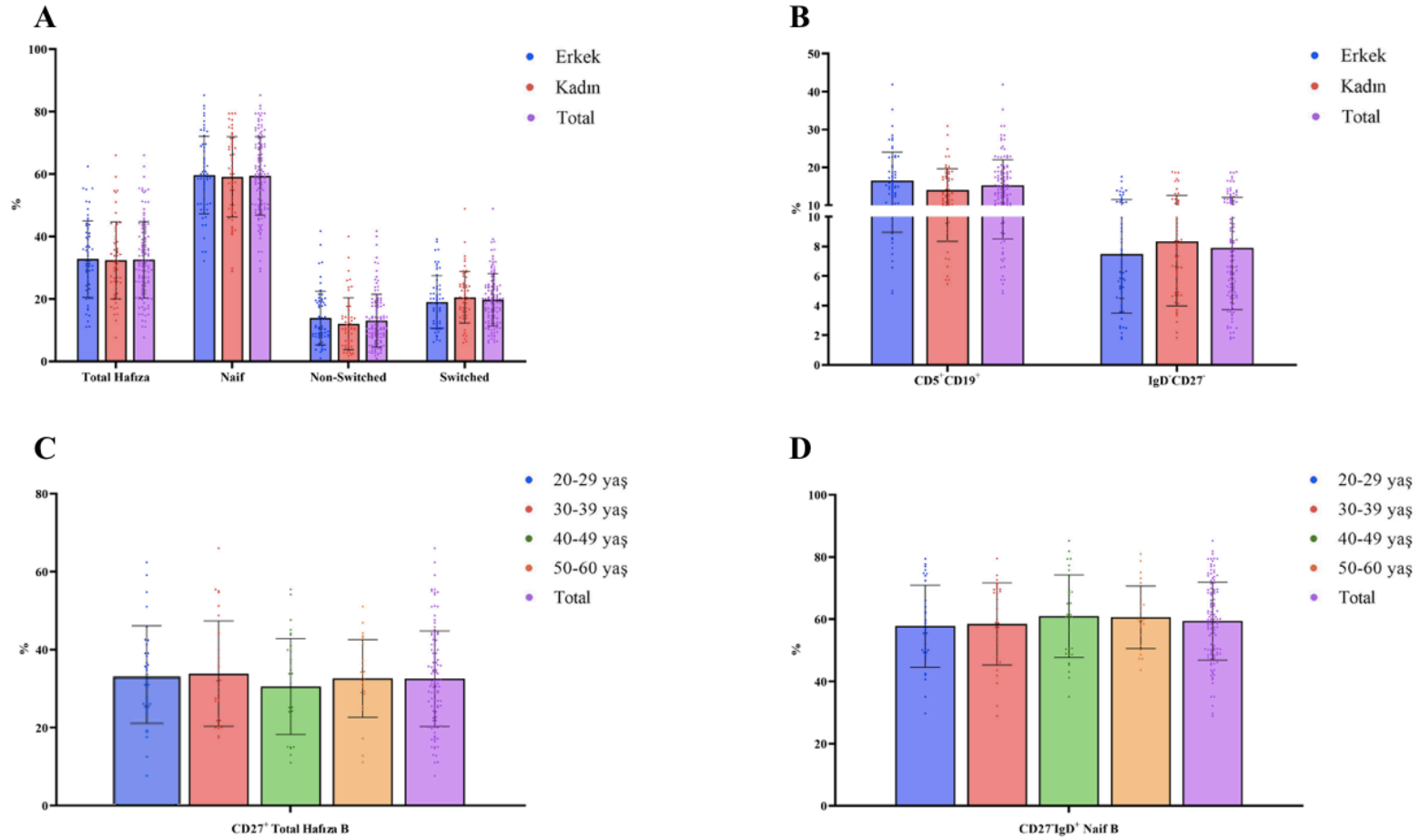


Şekil 4-2: A) Lenfosit kapısı kadın erkek ve total bireylerde CD19⁺, CD19⁺CD27⁺ ve CD5⁺CD19⁺ lenfosit dağılımları B) CD19⁺ lenfositlerin yaşa göre dağılımları

CD19⁺ hücreler içinde referans değerleri CD27⁺ (total hafıza B) hücreleri için %11,17-%59,34, CD27⁻IgD⁺ (naif B) hücreler için %31,96-%81,03, CD27⁺IgD⁺ (dönüşmemiş hafıza B) hücreler için %1,69-%37,57, CD27⁺IgD⁻ (dönüşmüş B) hücreler için %6,37-%38,39, CD27⁻IgD⁻ hücreler için %1,86-%18,56 ve CD5⁺ hücreler için %5,44-%31,06, olarak hesaplandı. Kadın ve erkek yaş gruplarına ait değerler Tablo 4-3 ve Şekil 4.3’de verildi.

Tablo 4-3: CD19⁺ kapısında B lenfosit alt gruplarının dağılımı

	20-29 Kadın	20-29 Erkek	30-39 Kadın	30-39 Erkek	40-49 Kadın	40-49 Erkek	50-60 Kadın	50-60 Erkek	Total Kadın	Total Erkek	TOTAL GRUP
CD27⁺ (Total Hafıza B)											
Ortalama±SD	34,06±13,47	32,38±12,53	32,96±14,59	34,73±12,9	29,31±12,01	31,75±12,84	33,16±7,95	32,13±11,69	32,37±12,34	32,75±12,26	32,56±12,24
%2,5-%97,5 Persentil	7,64-59,09	16,43-62,43	17,44-66,04	17,84-55,43	13,04-54,14	11,03-55,44	17,2-44,22	11,18-51,05	10,07-62,91	11,11-58-94	11,17-59,34
CD27-IgD⁺ (Naif B)											
Ortalama±SD	56,43±14,55	59,24±11,76	57,74±13,26	59,11±13,61	62,19±12,82	59,79±14,00	60,6±9,75	60,63±10,78	59,07±12,85	59,66±12,38	59,37±12,56
%2,5-%97,5 Persentil	29,72-79,46	29,24-79,97	28,85-72,62	35,08-76,97	41,19-79,45	35,07-85,23	47,33-74,99	43,65-80,96	29,24-79,46	33,61-83,55	31,96-81,03
CD27⁺IgD⁺ (Dönüşmemiş Hafıza B)											
Ortalama±SD	12,76±8,98	12,94±9,28	12,08±9,62	17,98±9,56	12,06±8,39	10,77±6,51	11,04±6,01	14,08±7,84	12,08±8,30	13,89±8,59	13,00±8,46
%2,5-%97,5 Persentil	1,75-33,29	3,81-41,76	2,78-40,03	3,51-37,37	0,46-28,96	0,97-22,75	2,69-23,71	3,00-27,06	1,04-37,00	1,98-39,57	1,69-37,57
CD27⁺IgD⁻ (Dönüşmüş Hafıza B)											
Ortalama±SD	22,97±8,57	20,65±7,76	21,35±10,17	16,99±7,87	17,8±5,60	20,59±10,23	19,44±8,05	17,29±7,71	20,53±8,28	18,96±8,48	19,73±8,39
%2,5-%97,5 Persentil	5,95-38,15	10,64-39,16	12,2-48,89	8,29-35,64	6,39-26,95	6,19-38,33	7,23-28,88	6,65-29,6	6,14-44,06	6,42-38,75	6,37-38,39
CD27-IgD⁻											
Ortalama±SD	7,82±4,47	7,16±3,70	8,82±4,47	5,91±3,25	7,95±4,88	8,84±4,51	8,92±3,51	7,99±4,13	8,31±4,33	7,48±3,98	7,89±4,16
%2,5-%97,5 Persentil	2,18-18,81	1,75-13,93	3,56-18,6	1,87-13,49	1,83-18,56	2,48-16,31	4,86-16,92	2,15-17,58	1,98-18,72	1,81-16,95	1,86-18,56
CD5⁺											
Ortalama±SD	14,73±4,64	18,25±10,82	13,13±6,12	15,7±5,60	12,96±5,22	16,72±6,75	15,46±7,21	15,17±6,22	14,00±5,67	16,48±7,53	15,26±6,77
%2,5-%97,5 Persentil	7,16-24,83	4,83-41,91	5,46-28,61	8,86-28,50	5,74-20,21	7,00-30,93	8,33-30,95	7,88-27,23	5,59-29,84	4,91-38,45	5,44-31,06

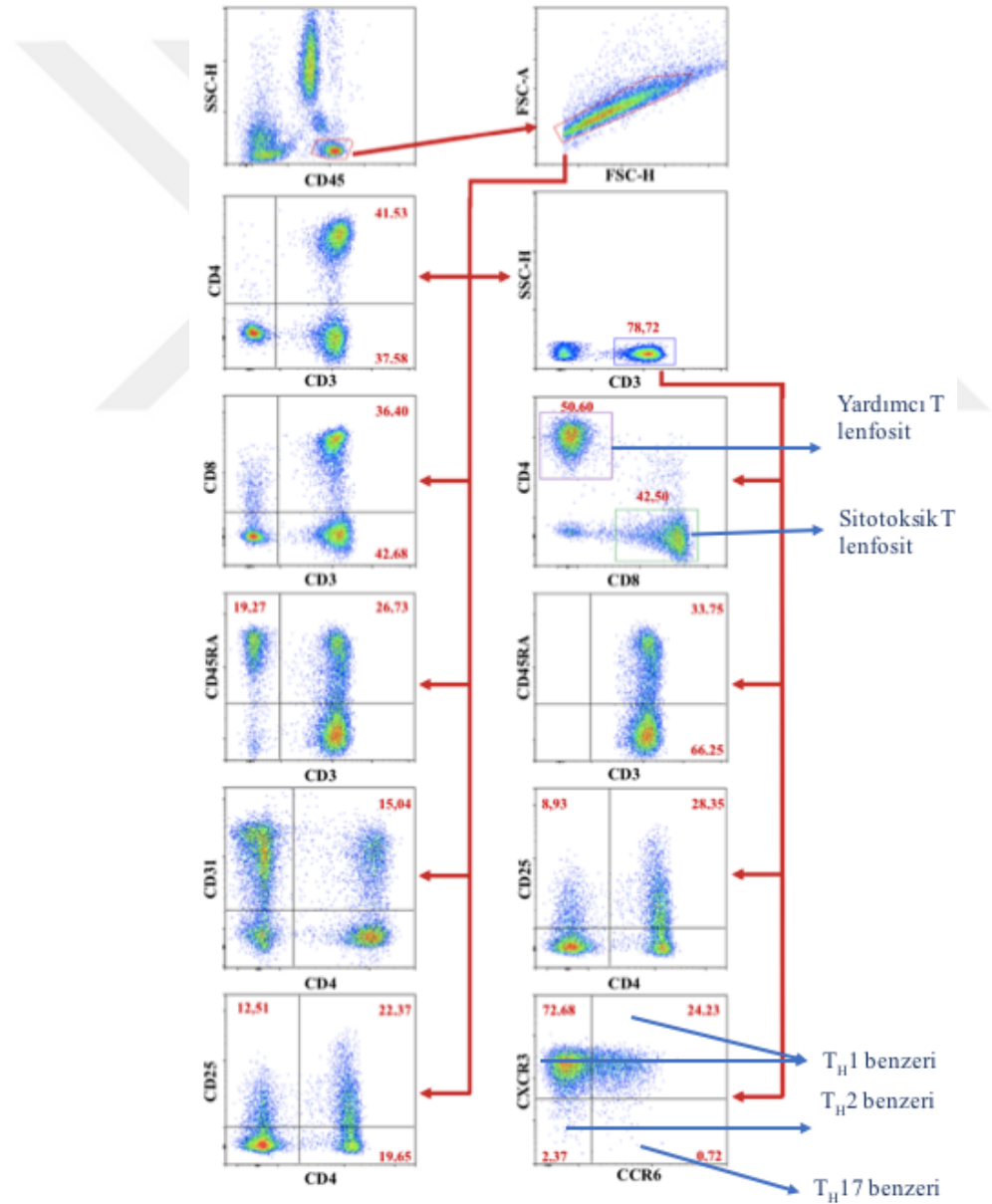


Şekil 4-3: CD19⁺ lenfosit kapısında A) kadın erkek ve total bireylerde total hafıza, naif, dönüşmüşmemiş ve dönüşmüş hafıza B lenfosit dağılımları, B) CD5⁺CD19⁺ ve IgD⁺CD27⁺ B lenfosit dağılımları, C) Yaş gruplarına göre CD27⁺ Total hafıza B lenfosit dağılımları, D) Yaş gruplarına göre CD27⁺IgD⁺ naif B lenfosit dağılımları

4.2. T Lenfosit Panel Bulguları

4.2.1. Lenfosit Kapısı Bulguları

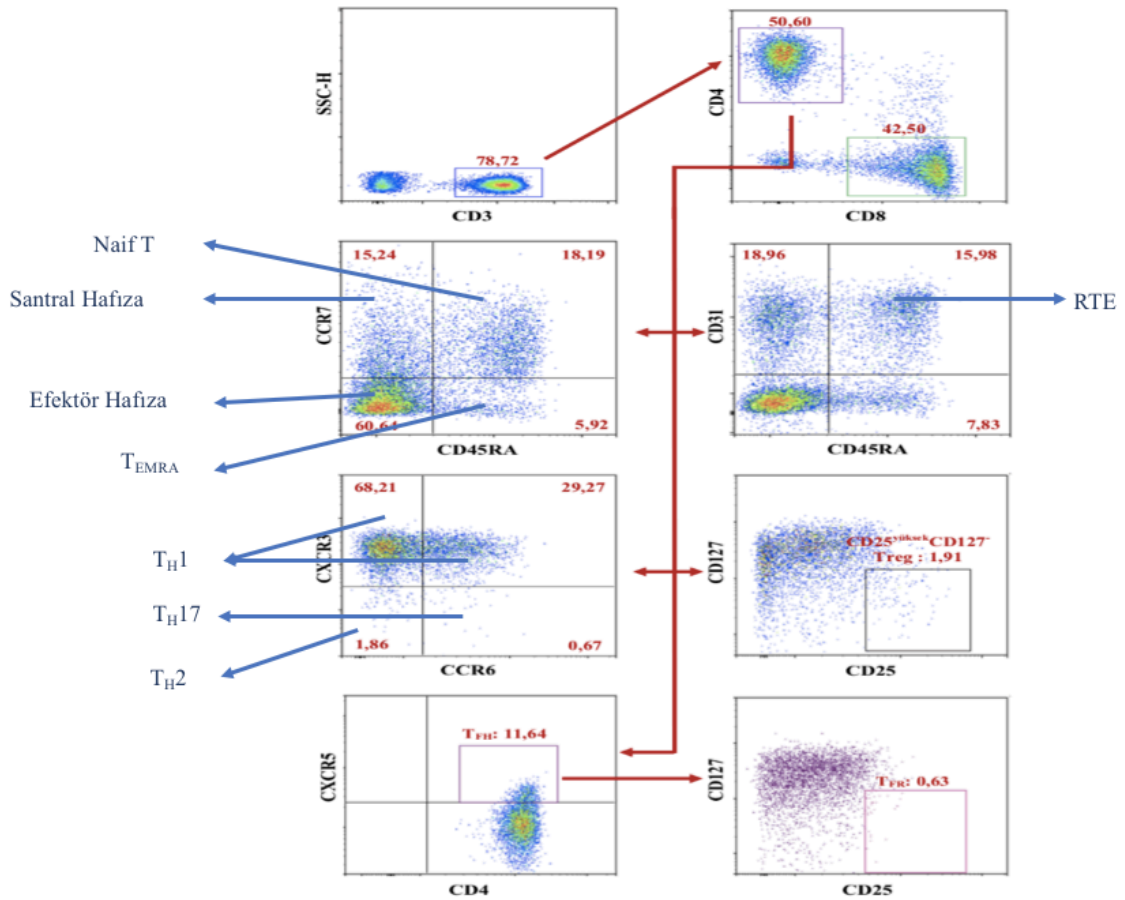
Tüm örneklerde SSC/CD45 grafiğinde CD45⁺ lenfositler kapılanarak lenfositler içinde 100.000 hücre analiz edildi. FSC-A/FSC-H grafiğinde duplike hücreler dışlandı. Lenfositler içinde CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD4⁺CD31⁺, CD4⁺CD25⁺ ve CD45RA⁺ hücre oranları ile CD3⁺, CD3⁺CD4⁺ ve CD3⁺CD8⁺ için mutlak değerler belirlendi. Ayrıca SSC/CD3 grafiğinde CD3⁺ T hücreler kapılandı. CD3⁺ T lenfositler içinde CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺CD25⁺ ve CD45RA⁺ hücre oranları analiz edildi. Lenfosit kapısı ve CD3⁺ T lenfosit kapılama stratejisi Şekil 4-2’de gösterildi.



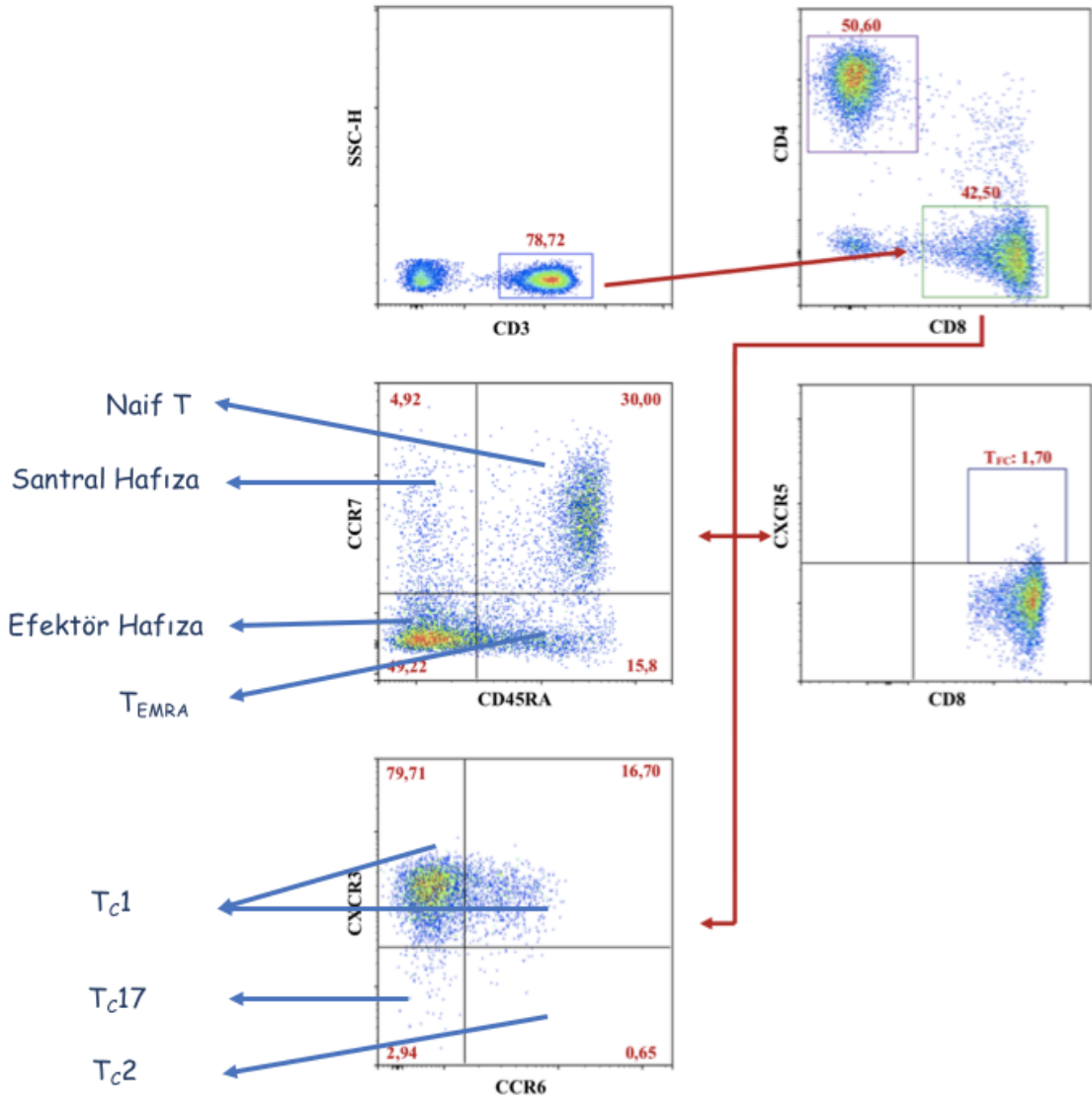
Şekil 4-4: Lenfosit kapısı ve CD3⁺ T lenfosit kapılama stratejisi

CD3⁺ hücreler içinde CD4/CD8 grafiğinde CD4⁺ hücreler, yardımcı T lenfosit olarak ve CD8⁺ T lenfositler ise sitotoksik T lenfositler olarak kapılındı. Naif (CD45RA⁺CCR7⁺), T_{EMRA} (CD45RA⁺CCR7⁻), efektör hafıza (CD45RA⁻CCR7⁻) ve santral hafıza (CD45RA⁻CCR7⁺) T hücre grupları CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositler içinde ayrı ayrı analiz edildi. CD4⁺ hücreler içinde CD25⁺, CD45RA⁺ ve CD45RA⁺CD31⁺ RTE hücre oranları değerlendirildi.

CD4⁺ yardımcı T lenfositler içinde CD25^{yüksek}CD127⁻ hücreler Treg olarak değerlendirildi. CD8⁺ hücreler içinde CXCR5 eksprese eden hücreler T_{FC}, CD4⁺ hücreler içinde CXCR5 eksprese edenler T_{FH} olarak belirlendi. T_{FH} hücreler içinde CD25/CD127 grafiğinde CD25^{yüksek}CD127⁻ hücreler T_{FR} olarak seçildi. CXCR3⁺ Th1, CXCR3⁻CCR6⁻ Th2 ve CXCR3⁻CCR6⁺ Th17 hücre grupları CD3⁺ ve CD4⁺; CXCR3⁺ Tc1, CXCR3⁻CCR6⁻ Tc2 ve CXCR3⁻CCR6⁺ Tc17 hücre grupları CD8⁺ hücreler içerisinde ayrı ayrı analiz edildi. CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit kapılama stratejileri Şekil 4-3 ve Şekil 4-4'de gösterildi.



Şekil 4-5: CD4⁺ T lenfosit kapılama stratejisi



Şekil 4-6: CD8⁺ T lenfosit kapılama stratejisi

4.2.2. Lenfosit Kapısı İçinde T Lenfosit Bulguları

Lenfositler içinde CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD4⁺CD31⁺ ve CD4⁺CD25⁺ T lenfosit hücre oranları analiz edildiğinde kadınlarda erkeklere göre yüksek olduğu saptandı (sırasıyla; $p=0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$ ve $p<0,0001$). Erkek ve kadınlarda yaş grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Bu nedenle referans değerleri kadın ve erkek gruplarında ayrı ayrı analiz edildi. CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺CD31⁺ ve CD4⁺CD25⁺ referans değerleri kadınlarda sırasıyla %62,25-%90,58, %35,57-%60,80, %13,64-%35,10 ve %12,24-%35,65; erkeklerde %57,47-%88,58, %24,76-%51,81, %7,17-%26,85 ve %9,84-%26,42 olarak bulundu. Bununla birlikte, 30-39 ve 40-49 yaş grubu kadınlarda CD4⁺ hücre oranlarının 20-29, 30-39, 40-49, 50-59 ve total erkek gruplarından daha yüksek olduğu gözlemlendi (30-39 yaş grubu kadınlar için

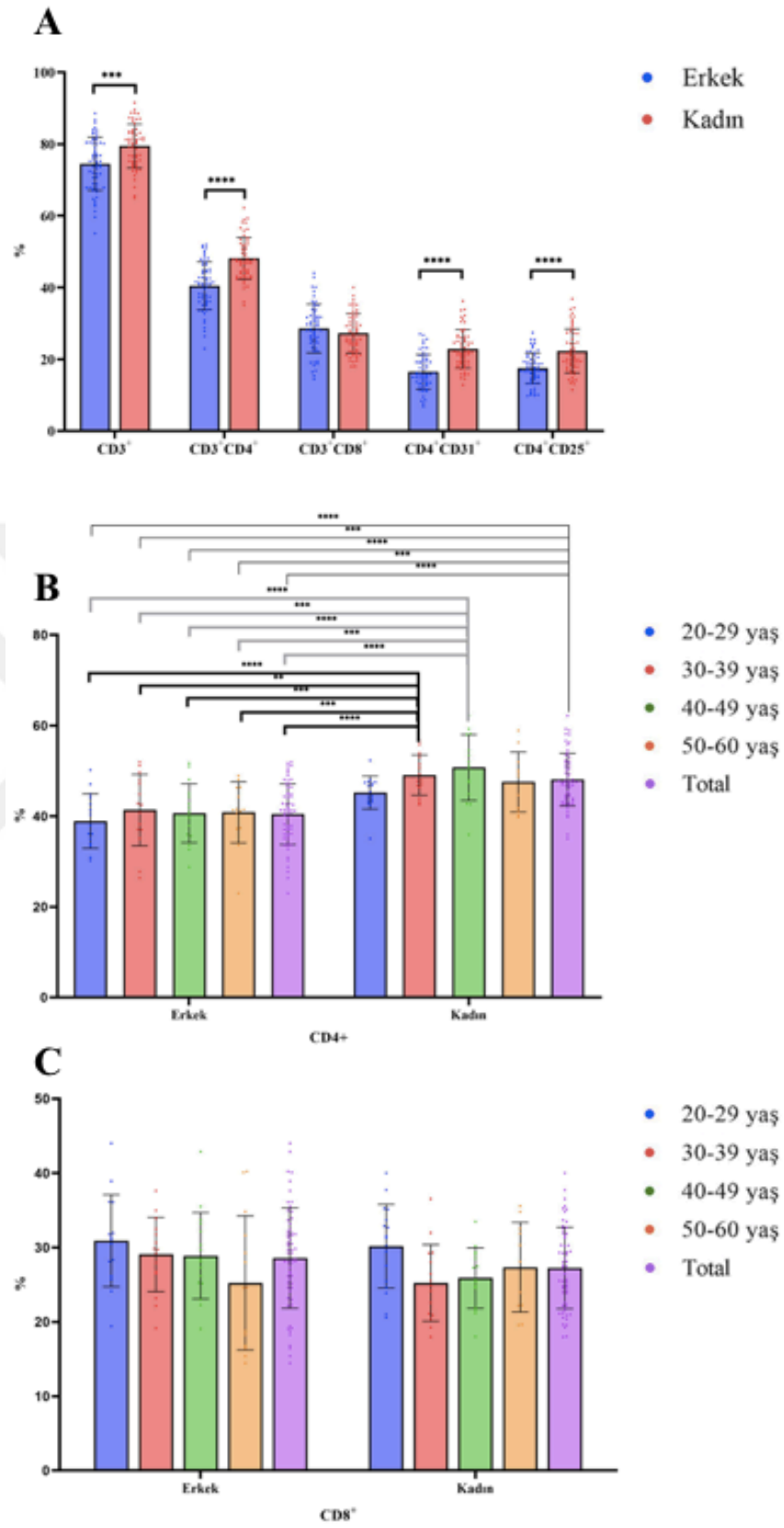
sırasıyla; $p<0,0001$, $p=0,0026$, $p=0,0003$, $p=0,0006$ ve $p<0,0001$; 40-49 yaş grubu kadınlar için sırasıyla; $p<0,0001$, $p=0,0021$, $p=0,0003$, $p=0,0007$ ve $p<0,0001$).

Lenfosit kapısında $CD3^+CD8^+$ ve $CD45RA^+$ hücre grupları cinsiyet ve yaş açısından incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Bu nedenle referans değeri tüm bireyler için değerlendirildi ve sırasıyla **%16,40-%40,30** ve **%42,97-%74,80** olarak bulundu. Kadın ve erkek gruplarının lenfosit kapısında değerlendirilen T lenfosit alt gruplarına ait değerler Tablo 4-4 ve Şekil 4-7’de verildi.



Tablo 4-4: Lenfosit kapısında T lenfosit alt grup dağılımları (MD= mutlak değer)

	20-29 Kadın	19-29 Erkek	30-39 Kadın	30-39 Erkek	40-49 Kadın	40-49 Erkek	50-60 Kadın	50-59 Erkek	Total Kadın	Total Erkek	TOTAL GRUP
CD3⁺ (%)											
Ortalama±SD	81,94±6,22	76,21±5,75	77,86±4,29	75,55±6,15	80,15±6,02	74,93±7,18	76,71±7,10	69,58±8,61	79,43±6,10	74,47±7,40	76,91±7,21
%2,5-%97,5 Persentil	72,51-91,53	66,68-83,75	69,97-83,57	64,07-86,72	67,97-88,73	61,23-85,97	65,01-86,44	55,07-84,56	65,25-90,58	57,47-87,58	61,19-88,75
CD3⁺ (MD)											
Ortalama±SD	1.510±340	1.820±600	1.920±430	1.570±300	1.690±640	1.560±450	1.530±520	1.790±460	1.670±500	1.680±470	1.670±480
2,5-97,5	1.010-2.240	1.170-3.130	1.220-2.580	1.060-2.130	830-2.790	1.000-2.490	450-2.540	1.110-2.800	210-2.690	1.000-2.960	820-2.800
CD3⁺CD4⁺ (%)											
Ortalama±SD	45,21±3,63	38,93±6,00	49,07±4,44	41,36±7,85	50,75±7,26	40,67±6,49	47,54±6,59	40,84±6,73	48,08±5,81	40,45±6,68	44,20±7,32
%2,5-%97,5 Persentil	35,05-52,33	30,20-50,22	42,60-56,61	26,37-51,94	35,93-62,18	28,79-51,69	39,79-58,91	22,97-48,96	35,47-60,80	24,76-51,81	27,74-58,92
CD3⁺CD4⁺ (MD)											
Ortalama±SD	900±220	970±320	1.190±300	840±190	1.000±400	810±240	960±350	1.030±340	1.010±340	910±290	960±310
2,5-97,5	610-1.420	580-1.620	730-1.670	460-1.150	430-1.840	550-1.390	270-1.770	590-1.660	120-1.770	510-1.640	430-1.670
CD3⁺CD8⁺ (%)											
Ortalama±SD	30,18±5,64	30,91±6,17	25,22±5,14	29,06±4,98	25,89±4,06	28,89±5,81	27,35±6,03	25,23±9,01	27,25±5,47	28,59±6,75	27,93±6,16
%2,5-%97,5 Persentil	20,56-40,01	19,41-44,01	17,96-36,53	19,15-37,63	18,03-33,48	19,06-42,89	19,57-35,57	14,45-40,23	17,99-38,93	14,94-43,42	16,40-40,30
CD3⁺CD8⁺ (MD)											
Ortalama±SD	500±130	720±30	630±180	610±160	610±230	590±240	510±180	660±220	560±190	650±240	600±220
2,5-97,5	330-780	300-1.360	430-1.060	320-890	350-960	290-980	160-810	390-1.110	80-1.010	290-1.300	290-1.110
CD4⁺CD31⁺ (%)											
Ortalama±SD	22,32±3,70	18,12±4,94	23,31±6,10	17,87±4,78	24,11±6,09	15,24±4,53	21,51±5,56	14,62±4,41	22,89±5,33	16,47±4,81	19,62±5,99
%2,5-%97,5 Persentil	15,59-28,15	11,01-25,61	12,82-36,23	12,52-27,02	15,85-33,86	7,50-23,25	14,54-31,82	6,82-21,82	13,64-35,10	7,17-26,85	8,38-33,66
CD45RA⁺ (%)											
Ortalama±SD	57,69±6,63	63,47±8,03	56,97±9,01	58,03±7,31	57,62±8,19	62,48±8,57	57,35±5,85	55,36±9,37	57,42±7,4	59,95±8,77	58,71±8,19
%2,5-%97,5 Persentil	46,46-70,51	47,58-73,46	43,05-76,53	45,52-71,36	44,48-73,17	48,11-79,82	51,03-69,26	35,55-68,45	43,73-74,93	37,90-77,16	42,97-74,80
CD4⁺CD25⁺ (%)											
Ortalama±SD	16,58±3,43	15,05±4,73	18,93±6,79	16,92±3,39	21,54±5,16	18,77±2,86	22,66±6,50	19,11±4,98	22,29±6,12	17,46±4,27	19,83±5,77
%2,5-%97,5 Persentil	11,86-25,05	9,78-27,39	3,12-29,77	11,38-24,51	10,04-29,12	14,03-23,33	12,48-31,29	10,08-25,54	12,24-35,65	9,84-26,42	10,08-33,95



Şekil 4-7: Lenfosit kapısında A) CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD4⁺CD31⁺ ve CD4⁺CD25⁺ T lenfosit hücre dağılımları, B) CD4⁺ ve C) CD8⁺ hücrelerde kadın ve erkeklerde yaş grupları dağılımları (****p< 0.0001, *** p< 0.001, ** p< 0.01)

4.2.3. CD3⁺ Kapısı T Lenfosit Bulguları

CD3⁺ T lenfositler içinde CD4⁺ hücre oranının kadınlarda, CD8⁺ hücre oranının ise erkeklerde daha yüksek olduğu gözlemlendi (sırasıyla; $p=0,0001$ ve $p=0,0006$). Erkek ve kadın yaş gruplarının kendi aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Bu nedenle CD4⁺ ve CD8⁺ hücreler için referans değerleri kadınlarda sırasıyla **%45,22-%71,98** ve **%22,68-%45,30**; erkeklerde **%35,16-%71,18** ve **%20,86-%53,59** olarak bulundu. 40-49 yaş grubu kadınlarda CD4⁺ hücre oranlarının 20-29, 30-39, 40-49 ve total erkek gruplarına göre yüksek olduğu gözlemlendi (sırasıyla; $p<0,0001$, $p=0,0036$, $p=0,002$ ve $p=0,0007$). 20-29 yaş erkek grubunda CD8⁺ hücre oranlarının 30-39, 40-49 ve total kadın gruplarına göre arttığı bulundu (sırasıyla; $p=0,0014$, $p=0,0022$ ve $p=0,0002$).

Kadın yaş grupları arasında CD3⁺ T hücreler içinde CD45RA⁺ oranı açısından fark gözlenmezken, 50-60 yaş grubu erkeklerde CD45RA⁺ hücre oranının 20-29 ve 40-49 yaş erkeklere ve 20-29 yaş kadınlara göre düşük olduğu saptandı (sırasıyla; $p=0,0052$, $p=0,0029$ ve $p=0,03$). Bu nedenle 50-60 yaş erkeklerde referans değeri **%15,07-%58,18** olarak hesaplanırken, diğerleri için referans değeri **%31,50-%66,67** olarak saptandı.

CD3⁺ T lenfositler içinde CD4⁺CD25⁺ hücre oranları cinsiyet ve yaş açısından incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Bu nedenle referans değeri **%14,60-%42,43** olarak bulundu. CD3⁺ kapısında CD4⁺ ve CD8⁺ hücrelerde kadın ve erkeklerde yaş gruplarına ait değerler Tablo 4-5 ve Şekil 4-8'de verildi.

Tablo 4-5: CD3⁺ kapısında T lenfosit alt grup dağılımları

	20-29 Kadın	20-29 Erkek	30-39 Kadın	30-39 Erkek	40-49 Kadın	40-49 Erkek	50-60 Kadın	50-60 Erkek	Total Kadın	Total Erkek	TOTAL GRUP
CD3⁺CD4⁺ (%)											
Ortalama±SD											
%2,5-%97,5	53,86±5,66	49,88±6,09	61,41±4,76	52,90±8,57	61,91±6,84	53,01±7,70	59,07±6,04	57,17±11,97	58,88±6,64	53,17±8,91	55,98±8,35
Persentil	44,02-64,88	37,23-61,24	50,54-68,02	35,65-64,30	52,13-71,86	39,30-65,40	50,79-72,08	34,61-72,71	45,22-71,98	35,16-71,18	37,19-71,87
CD3⁺CD8⁺ (%)											
Ortalama±SD											
%2,5-%97,5	34,87±5,81	39,55±8,05	30,51±5,67	36,88±6,31	31,05±5,50	36,97±6,24	32,86±5,67	33,71±9,70	32,37±5,81	36,83±7,72	34,64±7,18
Persentil	27,17-47,24	23,30-54,87	22,40-42,97	22,58-46,27	23,38-41,94	26,00-48,77	22,98-41,31	18,96-52,44	22,68-45,30	20,86-53,59	22,58-49,89
CD3⁺CD45RA⁺ (%)											
Ortalama±SD											
%2,5-%97,5	47,77±8,03	50,48±8,75	45,98±10,67	44,98±8,65	46,32±9,94	51,48±9,44	46,54±6,87	39,24±11,07	46,70±8,89	46,75±10,46	46,72±9,68
Persentil	31,48-65,36	35,89-66,54	27,07-67,95	31,51-62,41	32,70-62,93	35,57-66,89	31,98-57,28	15,07-58,18	29,16-66,72	20,49-66,71	27,03-66,55
CD4⁺CD25⁺ (%)											
Ortalama±SD											
%2,5-%97,5	23,06±5,15	21,16±6,29	26,94±7,48	24,26±4,58	28,80±7,53	27,29±6,36	30,10±7,84	27,50±7,02	26,88±7,30	25,05±6,51	25,95±6,94
Persentil	15,02-32,03	13,38-37,97	16,06-42,42	15,65-32,33	14,61-42,97	20,36-39,14	16,36-43,5	15,08-39,49	14,80-43,25	13,86-39,31	14,60-42,43
CXCR3⁺(Th1 benzeri) (%)											
Ortalama±SD											
%2,5-%97,5	82,93±9,06	87,33±8,95	95,27±3,61	92,24±3,59	93,41±3,72	91,21±4,55	91,98±3,42	88,91±1,68	90,55±7,58	89,96±5,63	90,25±6,64
Persentil	62,34-97,56	71,18-98,22	90,82-99,64	84,57-97,27	86,14-99,84	83,96-99,22	86,52-98,54	87,14-91,70	65,95-99,75	72,17-98,70	71,15-99,52
CXCR3⁺CCR6⁻ (Th2 benzeri) (%)											
Ortalama±SD											
%2,5-%97,5	12,78±8,16	10,74±8,36	3,85±3,00	6,56±3,08	5,11±3,08	7,03±3,70	6,74±3,55	10,22±1,59	7,36±6,22	8,58±5,14	7,98±5,70
Persentil	0,18-32,14	1,48-27,63	0,70-7,88	2,35-12,47	0,13-11,21	0,70-12,97	1,41-11,07	7,80-12,34	0,09-29,58	1,11-26,27	0,17-26,77
CXCR3⁺CCR6⁺ (Th17 benzeri) (%)											
Ortalama±SD											
%2,5-%97,5	3,82±2,94	1,93±1,87	0,87±0,72	1,19±0,72	1,41±0,90	1,75±1,06	1,27±1,01	0,87±0,65	1,95±2,11	1,45±1,23	1,70±1,73
Persentil	0,21-9,89	0,12-7,00	0,03-2,23	0,33-3,25	0,02-3,06	0,08-3,06	0,02-3,06	0,23-2,69	0,02-9,72	0,10-5,50	0,02-7,60

Ortalama $\pm$ SD

%2,5-%97,5

Persentil

Th1/Th2 benzeri**CD3⁺T Oranı**Ortalama $\pm$ SD

%2,5-%97,5

Persentil

Th1/Th17**benzeri CD3⁺T****Oranı**Ortalama $\pm$ SD

%2,5-%97,5

Persentil

38,87 $\pm$ 120,8016,71 $\pm$ 17,45171,20 $\pm$ 361,9018,19 $\pm$ 10,7371,24 $\pm$ 19324,39 $\pm$ 33,1220,59 $\pm$ 17,998,93 $\pm$ 1,6478 $\pm$ 22,1117,32 $\pm$ 20,2447,15 $\pm$ 15,79

1,94-506

2,57-66,36

11,58-1422

6,89-41,39

7,68-768

6,47-141,70

7,81-69,67

7,07-11,76

2,26-1111

2,75-102,20

2,61-512,50

62,78 $\pm$ 109137,9 $\pm$ 204,10399,8 $\pm$ 821,80114 $\pm$ 84,06422 $\pm$ 1267158,10 $\pm$ 302,50517,60 $\pm$ 1323159,80 $\pm$ 107,80329,10 $\pm$ 949,70142,40 $\pm$ 194,30234,20 $\pm$ 683,60

7,20-464,60

11,32-812,50

40,73-3321

26,02-287,50

30,17-4992

27,44-1240

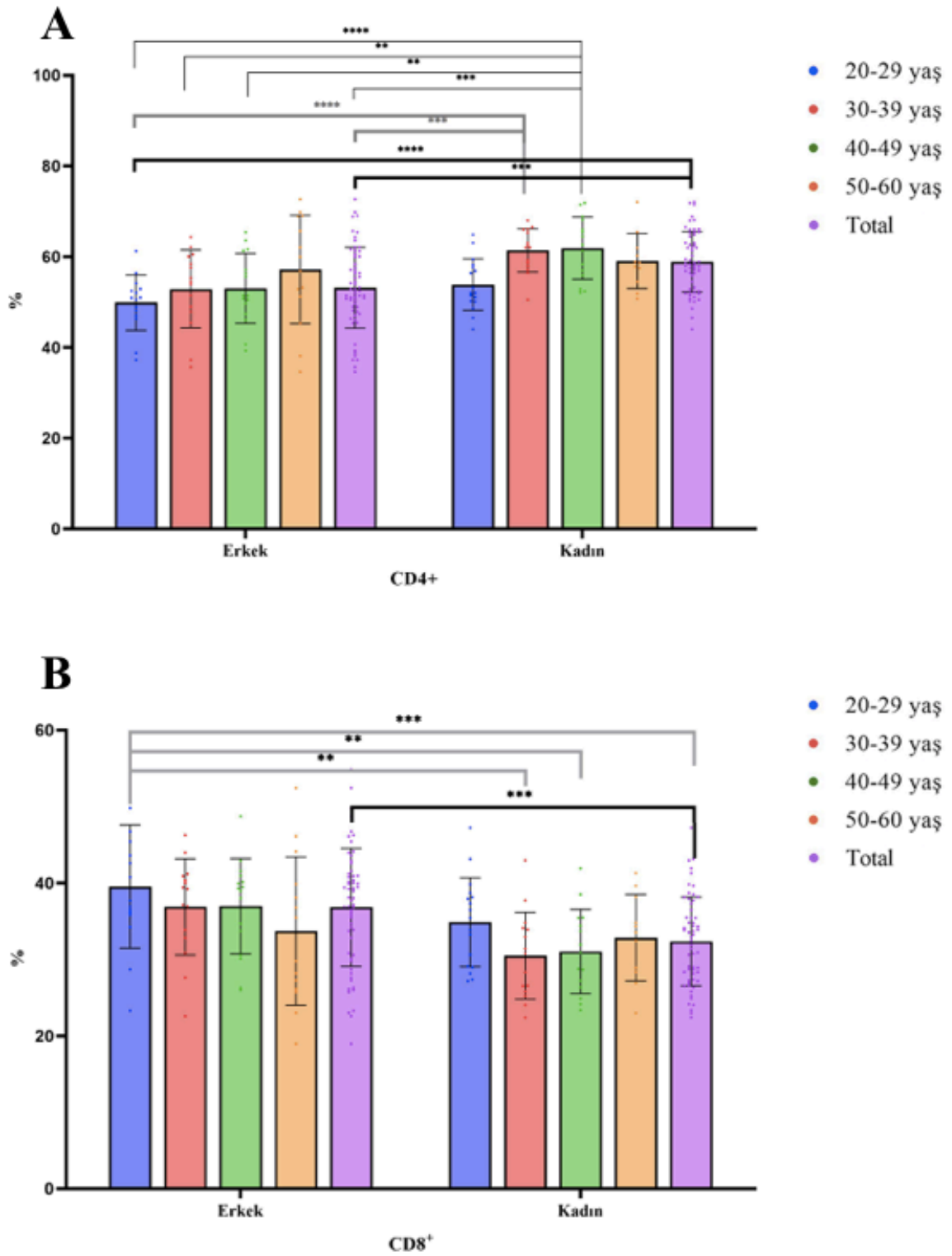
30,65-4493

32,51-380,70

7,57-4755

16,62-1016

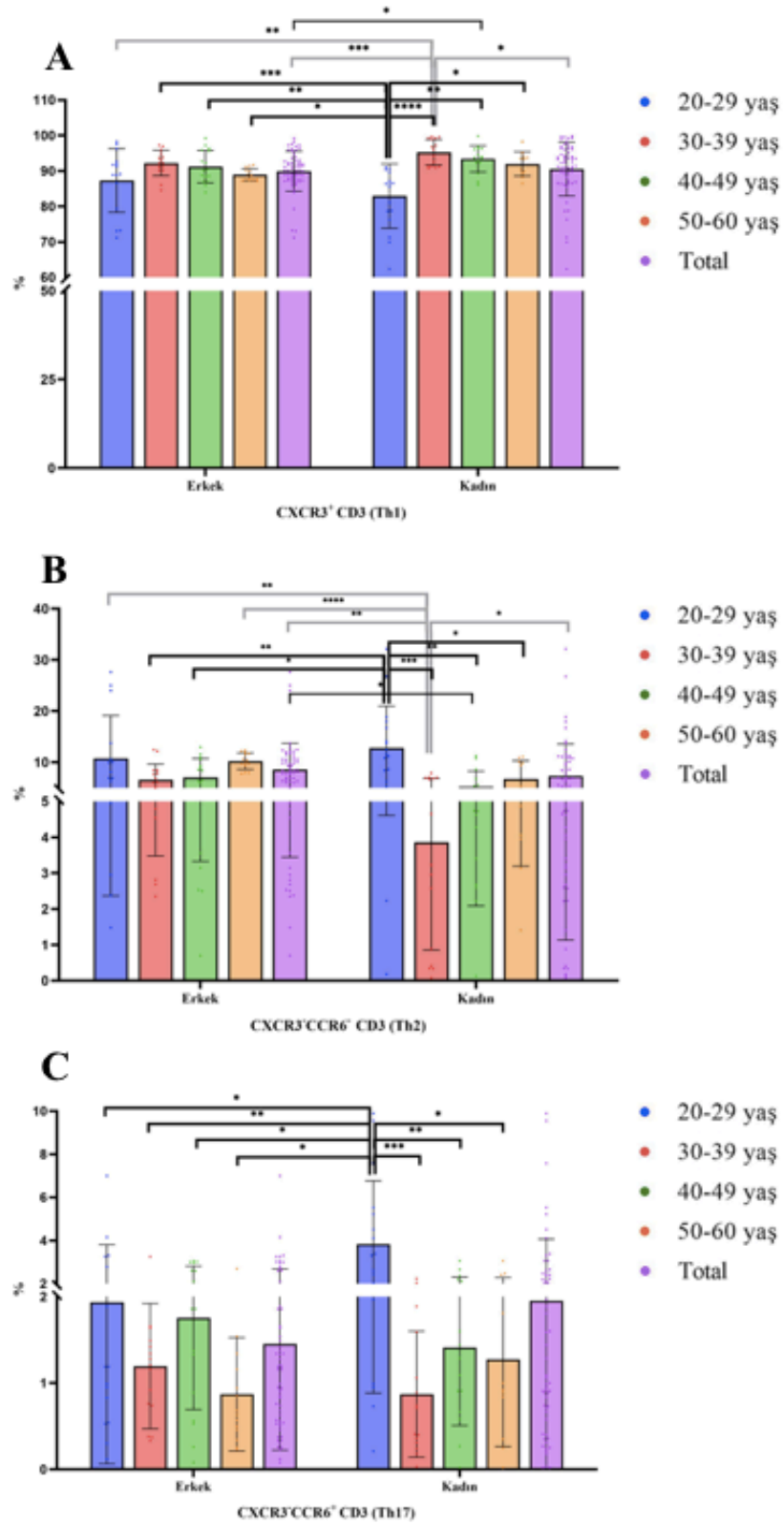
11,19-3351



Şekil 4-8: CD3⁺ kapısında kadın ve erkek yaş gruplarına göre CD4⁺ (A) ve CD8⁺ (B) dağılımları (****p< 0.0001, *** p< 0.001, ** p< 0.01)

CXCR3⁺ Th1 benzeri, CXCR3⁻CCR6⁻ Th2 benzeri ve CXCR3⁻CCR6⁺ Th17 benzeri hücre grupları CD3⁺ T lenfositlerde analiz edildiğinde, kadın ve erkekler arasında anlamlı fark gözlenmedi. Erkeklerde yaş grupları açısından anlamlı fark olmamasına karşın; kadınlarda yaş grupları arasında farklılıklar bulundu. Erkeklerde referans değeri Th1 benzeri CD3⁺ hücreler için **%72,17-%98,70**, Th2 benzeri CD3⁺ hücreler için **%1,11-%26,27** ve Th17 benzeri CD3⁺ hücreler için **%0,10-%5,50** olarak bulundu. 20-29 yaş kadınlarda Th1 benzeri CD3⁺ hücre oranının 30-39, 40-49 ve 50-60 yaş kadınlara göre düşük olduğu (sırasıyla; p<0,0001, p=0,0002 ve p=0,0041); buna karşın Th2 ve Th17 benzeri CD3⁺ hücre gruplarında ise artış olduğu gözlemlendi (sırasıyla; Th2 benzeri CD3⁺ hücreler için p=0,0094, p=0,002 ve p=0,029; Th17 benzeri CD3⁺ hücreler için p=0,0007, p=0,0047 ve p=0,01). Bu farklılıklar nedeniyle kadınlarda 20-29 yaş grubu referans değerleri Th1 benzeri CD3⁺ hücreler için **%62,34-%97,56**, Th2 benzeri CD3⁺ hücreler için **%0,18-%32,14** ve Th17 benzeri CD3⁺ hücreler için **%0,21-%9,89** olarak saptandı. 30-60 yaş grubu için referans değerleri Th1 benzeri CD3⁺ hücreler için **%86,16-%99,83**, Th2 benzeri CD3⁺ hücreler için **%0,07-%11,20** ve Th17 benzeri CD3⁺ hücreler için **%0,02-%3,06** olarak bulundu.

Th1/Th2 ve Th1/Th17 benzeri hücre oranları kıyaslandığında anlamlı bir fark gözlenmedi (p>0.05). Bu nedenle tüm bireylerde referans değerleri Th1/Th2 benzeri hücre oranı için **2,61-512,50** ve Th1/Th17 benzeri hücre oranı için **11,19-3351** olarak saptandı. CD3⁺ kapısında Th1, Th2 ve Th17 benzeri CD3⁺ lenfosit alt gruplarına ait değerler Tablo 4-5 ve Şekil 4-9'de verildi.



Şekil 4-9: CD3⁺ kapısında erkeklerde ve kadınlarda Th1 benzeri CD3 (A), Th2 benzeri CD3 (B) ve Th17 benzeri CD3 hücrelerin (C) yaş gruplarına göre dağılımı (****p<0.0001, *** p<0.001, ** p<0.01, * p<0.05)

4.2.4. CD4⁺ Kapısında T Lenfosit Bulguları

CD4⁺ yardımcı T lenfositler içinde naif (CD45RA⁺CCR7⁺), T_{EMRA} (CD45RA⁺CCR7⁻), efektör hafıza (CD45RA⁻CCR7⁻) ve santral hafıza (CD45RA⁻CCR7⁺) T hücre grupları cinsiyet ve yaş grupları açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Bu hücre grupları için referans değerleri tüm bireyler için değerlendirilerek naif CD4⁺ T lenfositler için **%11,47-%58,34**, T_{EMRA} CD4⁺ T lenfositler için **%0,88-%13,01**, efektör hafıza CD4⁺ T lenfositler için **%19,25-%64,00** ve santral hafıza CD4⁺ T lenfositler için **%7,96-%37,07** olarak analiz edildi.

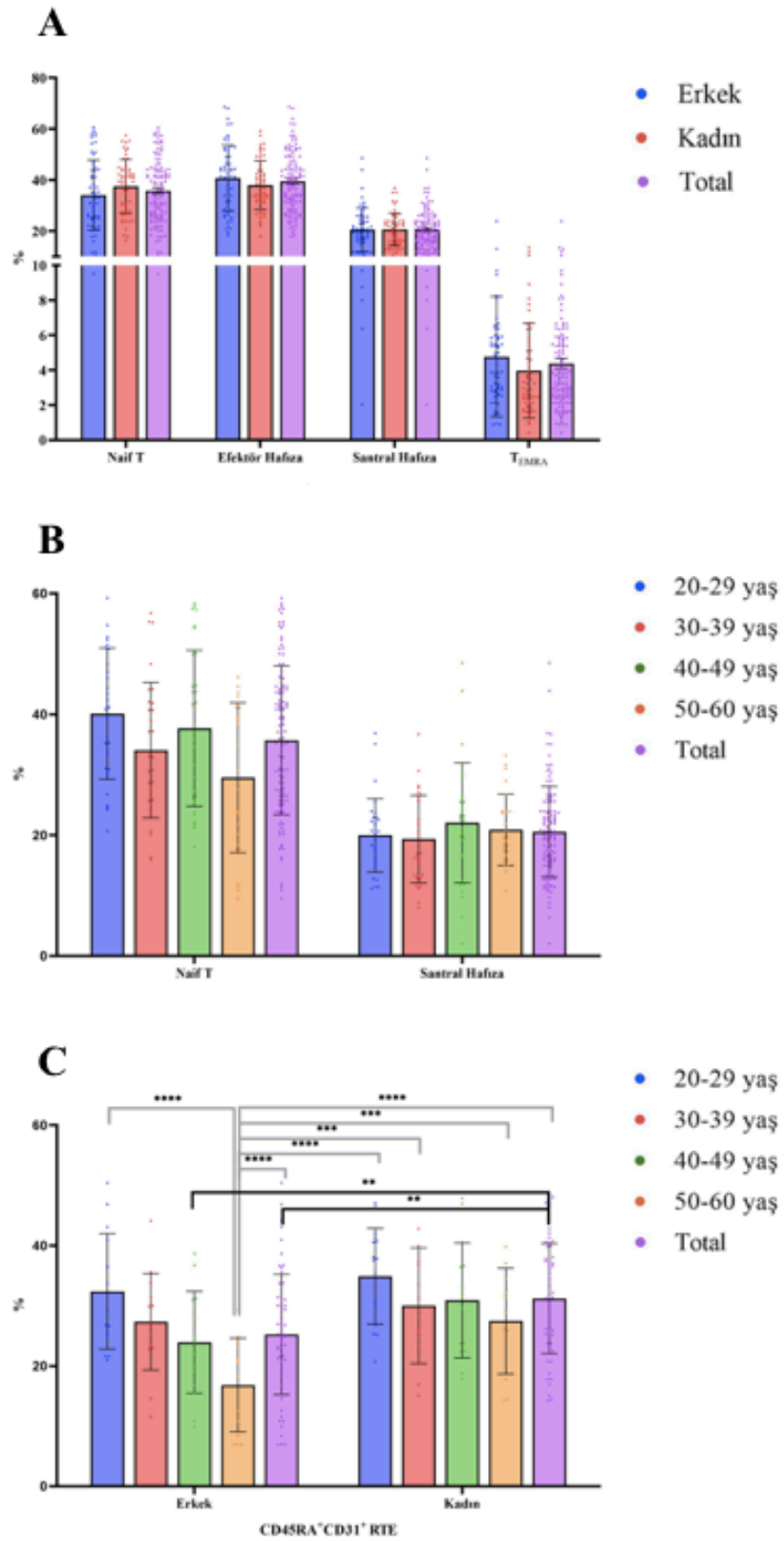
CD45RA⁺ ve CD25⁺ hücre grupları cinsiyet ve yaş açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında fark olmadığı saptandı. Bu nedenle referans değerleri tüm bireyler için birlikte analiz edildi. CD45RA⁺ ve CD25⁺ hücre referans değerleri sırasıyla **%15,51-%63,42** ve **%14,60-%43,53** olarak bulundu.

Kadınlarda CD45RA⁺CD31⁺ RTE hücre oranının erkeklere göre arttığı saptandı ($p=0,001$). Kadın yaş grupları arasında anlamlı fark saptanmadı ve referans değeri **%14,32-%47,95** olarak bulundu. Erkeklerde yaş grupları arasında yapılan değerlendirme sonucu 50-60 yaş erkeklerde hücre oranının 20-29 ve total erkek gruplarına göre daha düşük olduğu gözlemlendi (sırasıyla; $p<0.001$ ve $p=0,0044$). Bu nedenle 50-60 yaş erkeklerde CD45RA⁺CD31⁺ hücre grubu için referans değeri **%6,93-%29,37** ve 20-49 yaş erkeklerde referans değeri **%10,07-%49,80** olarak bulundu. CD4⁺ kapısında erkek ve kadın bireylerde naif, efektör, santral, T_{EMRA} ve RTE'lere ait değerler Tablo 4-6 ve Şekil 4-10'de verildi.

Tablo 4-6: CD3⁺CD4⁺ T lenfosit alt grup dağılımları

	20-29 Kadın	20-29 Erkek	30-39 Kadın	30-39 Erkek	40-49 Kadın	40-49 Erkek	50-60 Kadın	50-60 Erkek	Total Kadın	Total Erkek	TOTAL GRUP
CD45RA⁺CCR7⁺ (%)											
Ortalama±SD	40,04±9,05	40,23±12,95	35,84±12,31	32,31±10,11	38,41±10,80	37,03±14,95	34,28±9,88	25,73±13,20	37,44±10,53	34,01±13,73	35,70±12,33
%2,5-%97,5 Persentil	24,23-52,77	20,69-60,52	16,32-55,32	15,91-56,77	23,38-57,44	18,05-58,32	17,75-43,63	9,53-46,16	17,00-56,43	10,32-59,85	11,47-58,34
CD45RA⁺CCR7⁻ (%)											
Ortalama±SD	2,44±1,22	4,38±2,85	3,97±2,38	4,30±1,98	3,75±2,18	5,77±5,49	6,67±3,59	4,52±2,05	3,98±2,71	4,76±3,44	4,38±3,11
%2,5-%97,5 Persentil	0,41-5,12	1,33-13,00	0,91-10,35	1,46-8,27	1,04-8,10	0,88-23,90	2,47-13,35	1,56-9,70	0,64-12,61	0,88-18,18	0,88-13,01
CD45RA⁻CCR7⁻ (%)											
Ortalama±SD	36,26±7,74	36,89±12,40	41,18±11,02	43,73±12,29	35,40±10,03	35,52±10,45	39,73±9,13	47,64±13,86	37,97±9,58	40,74±12,93	39,38±11,44
%2,5-%97,5 Persentil	22,88-50,37	18,3-61,83	25,67-57,41	20,88-68,60	17,87-52,49	19,27-51,39	30,61-59,21	20,67-68,03	19,84-58,36	18,81-68,30	19,25-64,00
CD45RA⁻CCR7⁺ (%)											
Ortalama±SD	21,26±6,84	18,49±4,88	19,01±6,62	19,65±8,03	22,43±5,53	21,67±12,97	19,31±6,31	22,12±5,47	20,61±6,36	20,48±8,51	20,54±7,50
%2,5-%97,5 Persentil	12,62-36,89	11,15-28,97	11,22-30,67	8,00-36,72	12,36-35,05	2,04-48,52	10,75-31,61	14,91-33,16	10,97-36,04	4,31-46,11	7,96-37,07
CD45RA⁺ (%)											
Ortalama±SD	42,48±9,04	44,61±12,71	39,93±12,73	36,63±9,86	42,03±9,90	43,00±15,02	40,96±11,38	30,26±12,86	41,42±10,52	38,84±13,68	40,11±12,24
%2,5-%97,5 Persentil	26,60-55,96	26,76-63,37	18,24-61,90	19,82-58,38	26,44-58,37	24,42-67,34	24,10-54,45	12,35-51,11	21,02-61,47	13,27-66,33	15,51-63,42
CD45RA⁺CD31⁺ (%)											
Ortalama±SD	34,91±7,97	32,38±9,59	30,01±9,61	27,34±8,01	30,88±9,54	23,92±8,47	27,47±8,80	16,81±7,77	31,19±9,14	25,23±10,00	28,61±10,01
%2,5-%97,5 Persentil	20,74-47,08	20,99-50,42	15,08-48,05	11,59-44,12	17,78-47,83	9,91-38,67	14,21-39,81	6,93-29,37	14,32-47,95	6,95-48,55	6,99-47,84
CD25⁺ (%)											
Ortalama±SD	23,06±5,15	21,16±6,29	26,94±7,48	24,26±4,58	28,80±7,53	27,29±6,36	30,10±7,84	28,40±8,36	26,88±7,30	25,26±6,93	26,75±9,64
%2,5-%97,5 Persentil	15,02-32,03	13,38-37,97	16,06-42,42	15,65-32,33	14,61-42,97	20,36-39,14	16,36-43,50	15,08-44,88	14,80-43,25	13,86-42,05	14,60-43,53
CD25^{hi}CD127⁻Treg (%)											
Ortalama±SD	0,33±0,14	0,47±0,27	0,59±0,31	0,58±0,19	0,64±0,20	0,86±0,29	1,23±0,58	1,72±0,63	0,65±0,44	0,89±0,60	0,77±0,54
%2,5-%97,5 Persentil	0,13-0,61	0,22-1,17	0,22-1,44	0,35-0,92	0,33-1,03	0,31-1,33	0,51-2,32	0,61-2,73	0,13-2,18	0,22-2,63	0,16-2,38
T_{FH} (%)											
Ortalama±SD	4,73±3,00	6,18±5,41	9,65±3,57	10,06±3,01	7,02±3,05	9,91±3,01	7,51±2,98	10,46±2,54	7,30±3,56	9,41±3,70	8,36±3,77
%2,5-%97,5 Persentil	1,54-13,22	0,19-17,34	2,07-15,10	4,97-15,84	2,22-12,59	5,05-18,98	3,77-13,05	4,47-13,84	1,66-14,65	0,07-18,32	1,20-16,22

T_{FR} (%)	1,00±0,57	1,02±0,83	1,08±0,53	1,63±0,78	1,08±0,58	1,13±0,51	1,77±0,94	2,44±1,30	1,20±0,70	1,58±1,03	1,39±0,90
Ortalama±SD	0,34-2,30	0,18-2,95	0,13-2,13	0,28-2,94	0,51-2,32	0,21-1,90	0,87-3,62	0,29-5,40	0,20-3,50	0,07-4,87	0,16-3,79
%2,5-%97,5 Persentil											
CXCR3⁺ (Th1) (%)											
Ortalama±SD	83,63±8,52	88,55±8,18	95,63±3,40	94,08±3,89	94,15±3,39	92,35±3,98	93,10±3,07	90,33±1,73	91,25±7,27	91,36±5,34	91,31±6,34
%2,5-%97,5 Persentil	64,44-97,17	73,17-98,03	90,86-99,90	86,62-98,57	87,14-99,95	86,15-99,20	88,80-98,67	87,05-92,75	67,90-99,93	73,95-98,87	72,16-99,78
CXCR3⁻CCR6⁻ (Th2) (%)											
Ortalama±SD	12,87±7,35	9,10±7,33	3,43±2,76	4,74±3,15	4,42±2,51	5,55±2,83	5,88±2,85	7,91±4,10	6,92±5,96	6,93±4,61	6,92±5,30
%2,5-%97,5 Persentil	2,61-28,99	1,67-25,22	0,02-7,93	1,05-11,13	0,04-9,46	0,72-10,31	1,14-9,20	1,40-17,90	0,02-26,50	0,89-24,28	0,08-23,78
CXCR3⁻CCR6⁺ (Th17) (%)											
Ortalama±SD	3,51±2,11	2,41±2,27	0,92±0,93	1,17±0,86	1,41±1,05	2,09±1,25	1,01±0,76	1,07±0,73	1,82±1,75	1,70±1,50	1,76±1,62
%2,5-%97,5 Persentil	0,22-6,74	0,20-7,56	0,02-3,10	0,24-3,08	0,01-3,37	0,09-3,78	0,20-2,59	0,35-3,15	0,01-6,66	0,14-6,33	0,01-6,50
Th1/Th2 Oranı (%)											
Ortalama±SD	10,07±8,70	18,13±16,01	489,50±1279	30,64±22,49	189±639,10	28,84±33,20	23,46±22,06	11,01±2,373	182,90±735,50	22,45±22,94	101,30±519,90
%2,5-%97,5 Persentil	2,22-37,23	2,90-58,70	489,50-4983	7,786-93,88	9,21-2499	8,35-137,80	9,73-86,55	7,87-15,59	2,60-3803	3,05-114,70	3,01-1145
Th1/Th17 Oranı (%)											
Ortalama±SD	60,20±103,10	112,50±138,10	819,50±1699	142,60±113,50	758,70±2556	133±267,50	141,40±136,90	117,30±65,60	458,10±1577	126,60±163,90	288,10±1114
%2,5-%97,5 Persentil	9,80-441,70	10,82-484,80	29,65-4995	28,12-406,30	25,86-9995	23,48-1102	34,29-493,40	28,31-256,90	11,25-7745	12,89-778	12,90-4989

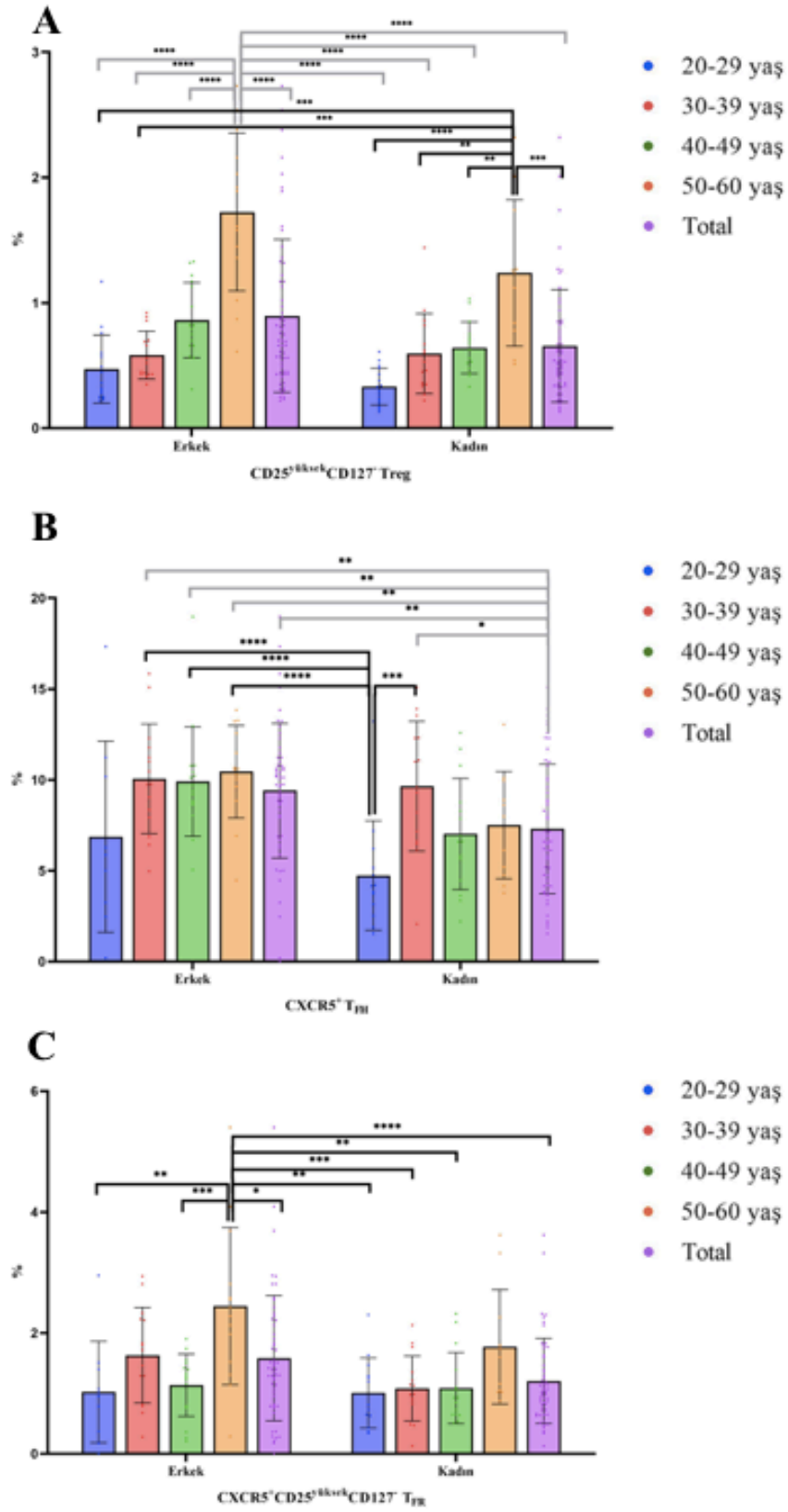


Şekil 4-10: CD4⁺ kapısında A) Kadın, erkek ve total bireylerde naif, efektör hafıza, santral hafıza ve TEMRA hücre gruplarının dağılımları, B) Yaş gruplarına göre naif ve santral hafıza hücre dağılımları C) Kadın ve erkek yaş gruplarında RTE hücre dağılımları (****p<0.0001, *** p<0.001, ** p<0.01)

50-60 yaş grubu kadınlarda CD25^{yüksek}CD127⁻ Treg hücre oranının 20-29, 30-39, 40-49 ve total kadın grupları ile 20-29 ve 30-39 yaş grubu erkeklerle göre arttığı gözlemlendi (sırasıyla; $p<0,0001$, $p=0,0014$, $p=0,0012$, $p=0,0004$, $p=0,0002$ ve $p=0,0004$). Benzer şekilde 50-60 yaş grubu erkeklerde CD25^{yüksek}CD127⁻ Treg hücre oranlarının 20-29, 30-39, 40-49 ve total erkek grupları ile 20-29 ve 30-39, 40-49 yaş grubu kadınlara göre arttığı bulundu (sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,0001$ ve $p<0,0001$). Aynı yaş grubu kadın ve erkekler birbiri ile karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark gözlenmedi. Bu nedenle referans değerleri kadınlarda ve erkeklerde 20-50 yaş grubu ve 50-60 yaş grubu olarak ayrı ayrı değerlendirildi. CD25^{yüksek}CD127⁻ Treg hücre grubuna ait 20-50 yaş referans değeri **%0,15-%1,30**, 50-60 yaş referans değeri **%0,51-%2,70** olarak bulundu.

Kadınlarda CD4⁺ kapısında T_{FH} hücre oranlarının erkeklerle göre azaldığı saptandı ($p=0,0031$). Aynı yaş grubundaki kadın ve erkekler arasında ise anlamlı bir fark bulunmadı. Bu nedenle referans değerleri kadınlarda ve erkeklerde ayrı ayrı değerlendirildi ve sırasıyla **%1,66-%14,65** ve **%0,07-%18,32** olarak değerlendirildi.

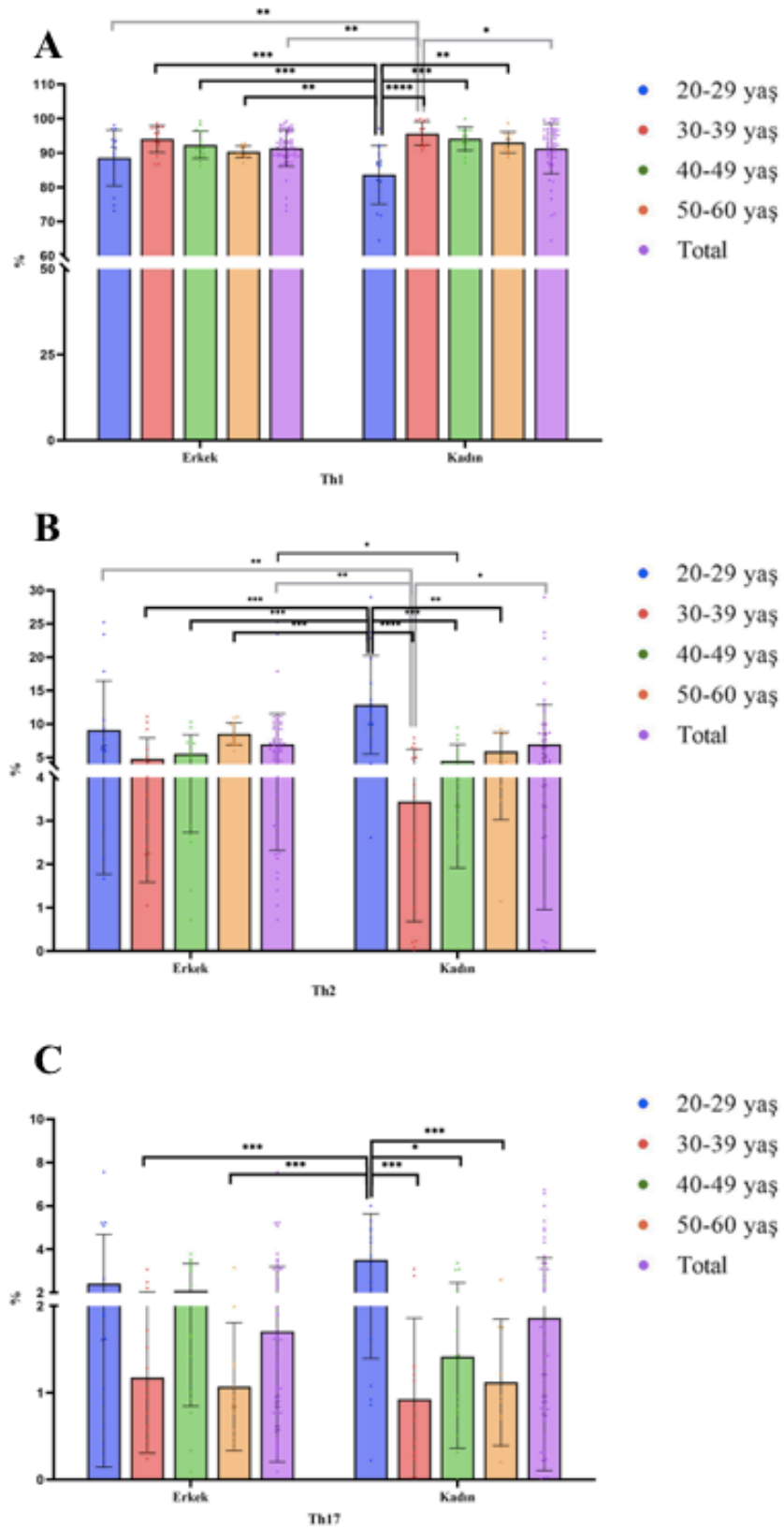
T_{FR} hücre grubu incelendiğinde kadınlarda yaş grupları açısından anlamlı bir fark gözlenmezken, erkeklerde 50-60 yaş grubunda T_{FR} hücre oranının 20-29, 40-49 ve total erkeklerle göre arttığı saptandı (sırasıyla; $p=0,0063$, $p=0,009$ ve $p=0,01$). Bu nedenle kadınlarda referans değeri **%0,20-%3,50** olarak değerlendirilirken, erkeklerde 20-50 yaş için referans değeri **%0,18-%2,95** ve 50-60 yaş için referans değeri **%0,29-%5,40** olarak değerlendirildi. CD4⁺ kapısında Treg, T_{FH} ve T_{FR} hücrelerde kadın ve erkeklerde yaş gruplarına ait değerler Tablo 4-6 ve Şekil 4-11'de verildi.



Şekil 4-11: CD4⁺ kapısında erkek ve kadınlarda yaş gruplarına göre Treg hücre dağılımları (A), TFH hücre dağılımları (B) ve TFR hücre dağılımları (C) (****p<0.0001, *** p<0.001, ** p<0.01, * p<0.05)

CD4⁺ yardımcı T lenfositler içinde CXCR3⁺ Th1, CXCR3⁻CCR6⁻ Th2 ve CXCR3⁻CCR6⁺ Th17 hücre grupları analiz edildiğinde erkeklerde yaş grupları açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Kadınlarda Th1 hücre grubu için 20-29 yaş hücre oranının 30-39, 40-49 ve 50-60 yaş gruplarına göre düşük olduğu saptandı (sırasıyla; $p<0,0001$, $p=0,0001$ ve $p=0,0016$). Buna karşı Th2 ve Th17 hücre gruplarında ise 20-29 yaş kadınlarda hücre oranının diğer yaş gruplarına kıyasla arttığı gözlemlendi (sırasıyla; Th2 için $p<0,0001$, $p=0,0002$ ve $p=0,006$; Th17 için $p=0,0001$, $p=0,0016$ ve $p=0,0009$). Bu nedenle kadınlarda 20-29 yaş grubu referans değerleri Th1 hücreler için **%64,44-%97,17**, Th2 hücreler için **%2,61-%28,99** ve Th17 hücreler için **%0,22-%6,74** olarak saptandı. 30-60 yaş grubu için referans değerleri Th1 hücreler için **%87,21-%99,95**, Th2 hücreler için **%0,02-%9,44** ve Th17 hücreler için **%1,01-%3,36** olarak bulundu. Erkeklerde yaş grupları açısından anlamlı fark olmaması nedeniyle referans değerleri tüm bireyler için değerlendirildi ve Th1 hücreler için **%73,95-%98,87**, Th2 hücreler için **%0,89-%24,28** ve Th17 hücreler için **%0,14-%6,33** olarak bulundu.

Th1/Th2 ve Th1/Th17 hücre oranları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Bu nedenle tüm bireylerde referans değerleri Th1/Th2 hücre oranı için **3,01-1145** ve Th1/Th17 hücre oranı için **12,90-4989** olarak bulundu. CD4⁺ kapısında Th1, Th2 ve Th17 lenfosit alt gruplarına ait değerler Tablo 4-6 ve Şekil 4-12’de verildi.



Şekil 4-12: CD4⁺ kapısında erkek ve kadınlarda yaş gruplarına göre Th1 (A), Th2 (B) ve Th17 (C) hücre dağılımları (****p<0.0001, *** p<0.001, ** p<0.01, * p<0.05)

4.2.5. CD8⁺ Kapısı T Lenfosit Bulguları

CD8⁺ sitotoksik T lenfositler içinde 50-60 yaş kadınlarda naif CD8⁺ T hücre oranı 20-29, 30-39, 40-49 yaş kadın ve total kadın grupları ile 20-29 ve 30-39 yaş erkeklere göre azaldığı gözlemlendi (sırasıyla; $p<0,0001$, $p=0,0013$, $p=0,0118$, $p=0,0026$ $p=0,0006$ ve $p=0,001$). Benzer şekilde 50-59 yaş erkeklerde naif CD8⁺ T hücre oranının 20-29 yaş erkek ile total erkek grubuna (sırasıyla; $p<0,0001$ ve $p=0,0038$) ve 20-29, 30-39, 40-49 yaş kadın ve total kadın gruplarına göre düşük olduğu saptandı (sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p=0,001$ ve $p<0,0001$). 50-60 yaş grubu kadın ve erkekler arasında anlamlı fark saptanmadı. Bu nedenle 20-49 yaş referans değeri **%10,62-%63,57**, 50-60 yaş grubu için referans değeri **%1,65-%35,65** olarak bulundu.

50-60 yaş kadınlarda naif hücrelere benzer şekilde T_{EMRA} hücre oranı 20-29, 30-39, 40-49 yaş kadın ve total kadın grupları ile 20-29 ve 30-39 yaş erkeklere göre arttığı saptandı (sırasıyla; $p=0,0045$, $p=0,038$, $p=0,043$, $p=0,0039$, $p=0,014$ ve $p=0,038$). 50-60 yaş erkeklerde T_{EMRA} hücre oranları ise 20-29 yaş kadın ve total kadınlara göre arttığı bulundu (sırasıyla; $p=0,004$ ve $p=0,003$). 50-60 yaş grubu kadın ve erkekler arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Bu nedenle 20-49 yaş referans değeri **%4,68-%57,83**, 50-60 yaş grubu için referans değeri **%9,66-%66,70** olarak bulundu.

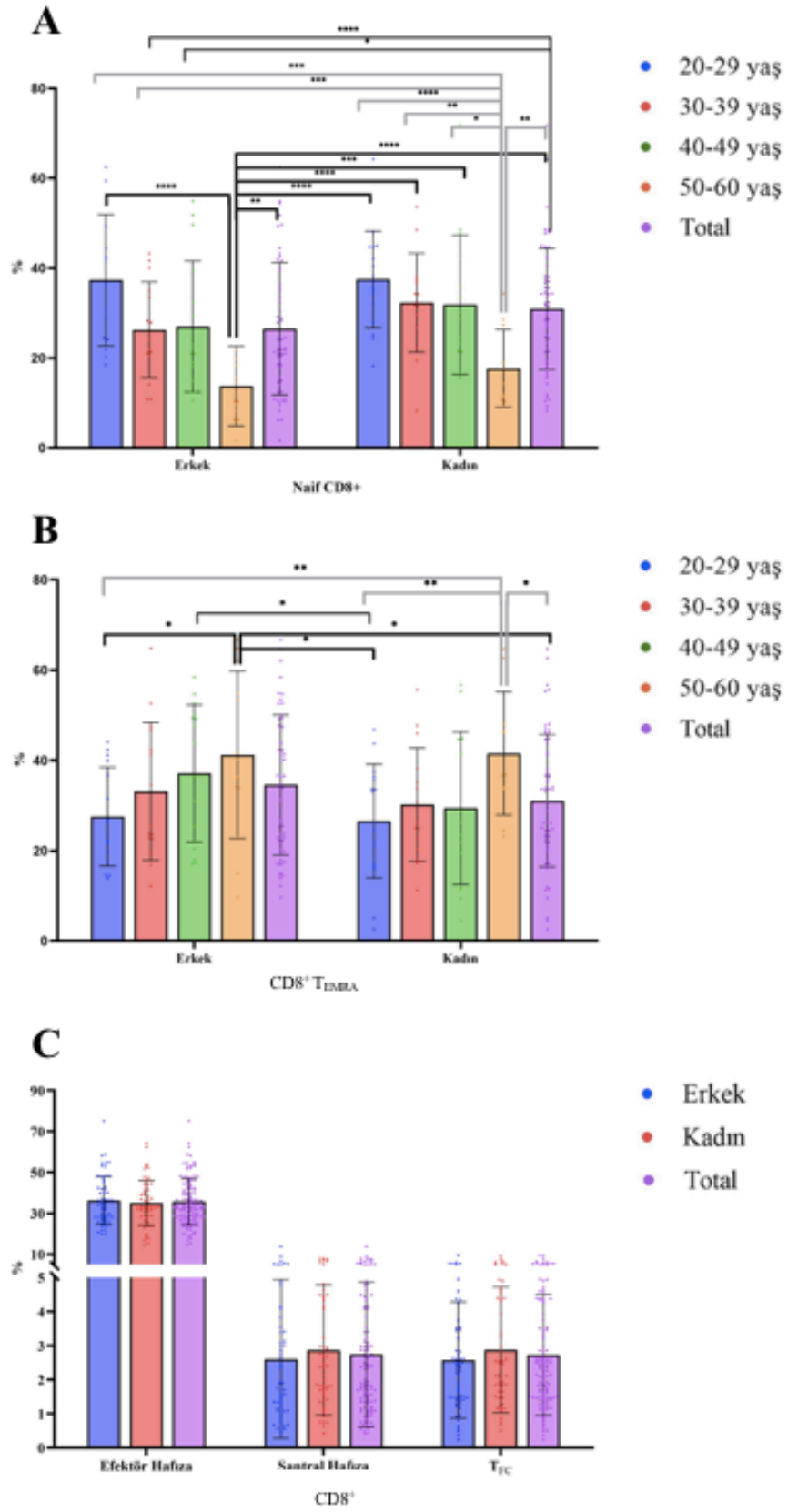
Efektör ve santral hafıza T hücre oranları cinsiyet ve yaş grupları açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Ancak CD45RA/CCR7 grafiğinde analiz edilen naif ve T_{EMRA} lenfositlerde 50-60 yaş kadın ve erkek grubunda gözlenen değişimlerden yola çıkarak aynı grafikte değerlendirilen santral ve efektör hafıza T hücreler için de 50-60 yaş gruplarda değişimin olabileceği öngörüldü. Bu nedenle her iki hücre grubu için referans değerleri 20-49 ve 50-60 yaş bireylerde ayrı ayrı değerlendirildi. Santral hafıza T hücreler için 20-49 yaş referans değeri **%0,46-%7,92**, 50-60 yaş referans değeri **%0,75-%9,11** olarak bulundu. Efektör hafıza T hücreler için 20-49 yaş referans değeri **%15,94-%57,47**, 50-60 yaş referans değeri **%19,95-%75,15** olarak bulundu.

T_{FC} hücre grupları cinsiyet ve yaş grupları açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Bu nedenle referans değerleri tüm bireyler için değerlendirilerek **%0,47-%7,84** olarak bulundu. CD8⁺ kapısında erkek ve kadın bireylerde naif, efektör hafıza, santral hafıza, T_{EMRA} ve T_{FC} lenfositlere ait değerler Tablo 4-7 ve Şekil 4-13'de verildi.

Tablo 4-7: CD4⁺CD8⁺ T lenfosit alt grup dağılımları

	20-29 Kadın	20-29 Erkek	30-39 Kadın	30-39 Erkek	40-49 Kadın	40-49 Erkek	50-60 Kadın	50-60 Erkek	Total Kadın	Total Erkek	TOTAL GRUP
CD45RA⁺CCR7⁺ (%)											
Ortalama±SD	37,48±10,73	37,30±14,65	32,29±10,98	26,28±10,65	31,83±15,50	26,99±14,59	17,67±8,65	13,74±8,84	30,92±13,47	26,51±14,74	28,07±14,24
%2,5-%97,5 Persentil	18,26-64,16	18,46-62,48	8,24-53,61	10,78-43,24	15,43-71,75	10,54-54,88	9,26-34,33	1,65-35,65	8,72-68,14	3,90-60,93	6,16-62,56
CD45RA⁺CCR7⁻ (%)											
Ortalama±SD	26,56±12,58	27,56±10,96	30,21±12,56	33,13±15,28	29,45±16,93	37,09±15,19	41,56±13,64	41,23±18,54	31,10±14,64	34,57±15,53	32,85±15,13
%2,5-%97,5 Persentil	2,58-46,81	13,89-44,13	11,23-55,64	12,20-64,81	4,48-56,68	17,08-58,45	23,24-64,67	9,66-66,70	3,48-63,72	10,93-65,76	5,03-64,80
CD45RA⁻CCR7⁻ (%)											
Ortalama±SD	33,84±11,91	33,22±9,68	34,29±9,29	38,47±10,86	34,91±11,41	32,79±9,09	38,44±11,83	41,70±15,56	35,11±10,97	36,31±11,67	35,71±11,30
%2,5-%97,5 Persentil	15,40-64,26	20,8-55,06	16,93-53,96	23,97-58,76	14,60-53,11	20,06-54,57	23,60-62,49	19,95-75,15	14,98-63,42	20,01-66,96	16,85-62,58
CD45RA⁻CCR7⁺ (%)											
Ortalama±SD	2,11±1,21	1,92±1,36	3,14±2,13	2,11±1,58	3,85±2,26	3,12±3,39	2,33±1,47	3,32±2,22	2,87±1,91	2,60±2,33	2,73±2,13
%2,5-%97,5 Persentil	0,42-4,50	0,55-5,65	0,64-6,97	0,44-5,32	1,11-7,93	0,63-13,79	0,75-5,11	1,07-9,11	0,52-7,91	0,47-11,45	0,50-7,98
CD45RA⁺ (%)											
Ortalama±SD	64,09±9,40	63,81±9,98	60,32±11,15	58,89±14,42	65,58±12,80	61,70±10,28	56,48±9,85	59,89±15,56	62,06±11,13	61,12±12,46	61,59±11,78
%2,5-%97,5 Persentil	43,23-80,03	44,27-76,90	34,79-78,81	19,97-78,64	44,50-82,47	43,43-76,37	35,06-69,25	39,54-77,06	34,92-82,39	29,76-77,85	35,05-80,14
T_{FC} (%)											
Ortalama±SD	3,17±2,09	1,97±1,44	3,58±1,73	2,42±1,54	1,81±0,71	2,78±2,21	2,90±2,23	3,16±1,37	2,87±1,85	2,58±1,70	2,72±1,77
%2,5-%97,5 Persentil	1,14-9,43	0,23-5,08	0,69-6,52	0,81-5,93	0,51-2,86	0,56-9,58	1,15-7,80	1,28-5,70	0,59-8,65	0,29-7,66	0,47-7,84
CXCR3⁺ (Tc1) (%)											
Ortalama±SD	82,79±9,52	86,72±9,93	94,78±3,95	90,38±4,34	92,45±4,28	89,89±5,29	90,67±3,84	87,38±2,25	89,88±7,71	88,63±6,21	89,25±6,99
%2,5-%97,5 Persentil	59,70-98,24	69,18-98,48	89,50-99,37	81,10-97,30	84,44-99,80	81,20-99,48	84,18-97,75	83,79-90,60	64,38-99,60	70,13-98,96	69,54-99,37
CXCR3⁻CCR6⁻ (Tc2) (%)											
Ortalama±SD	13,00±9,36	11,97±9,66	4,48±3,66	8,48±4,03	6,28±4,09	8,74±4,77	7,54±4,56	11,95±2,15	8,02±6,87	10,23±5,97	9,14±6,49
%2,5-%97,5 Persentil	1,66-36,69	1,28-30,20	0,13-10,24	2,26-15,62	0,17-14,50	0,45-16,46	1,36-13,45	8,93-15,22	0,14-33,53	0,88-29,22	0,44-30,03

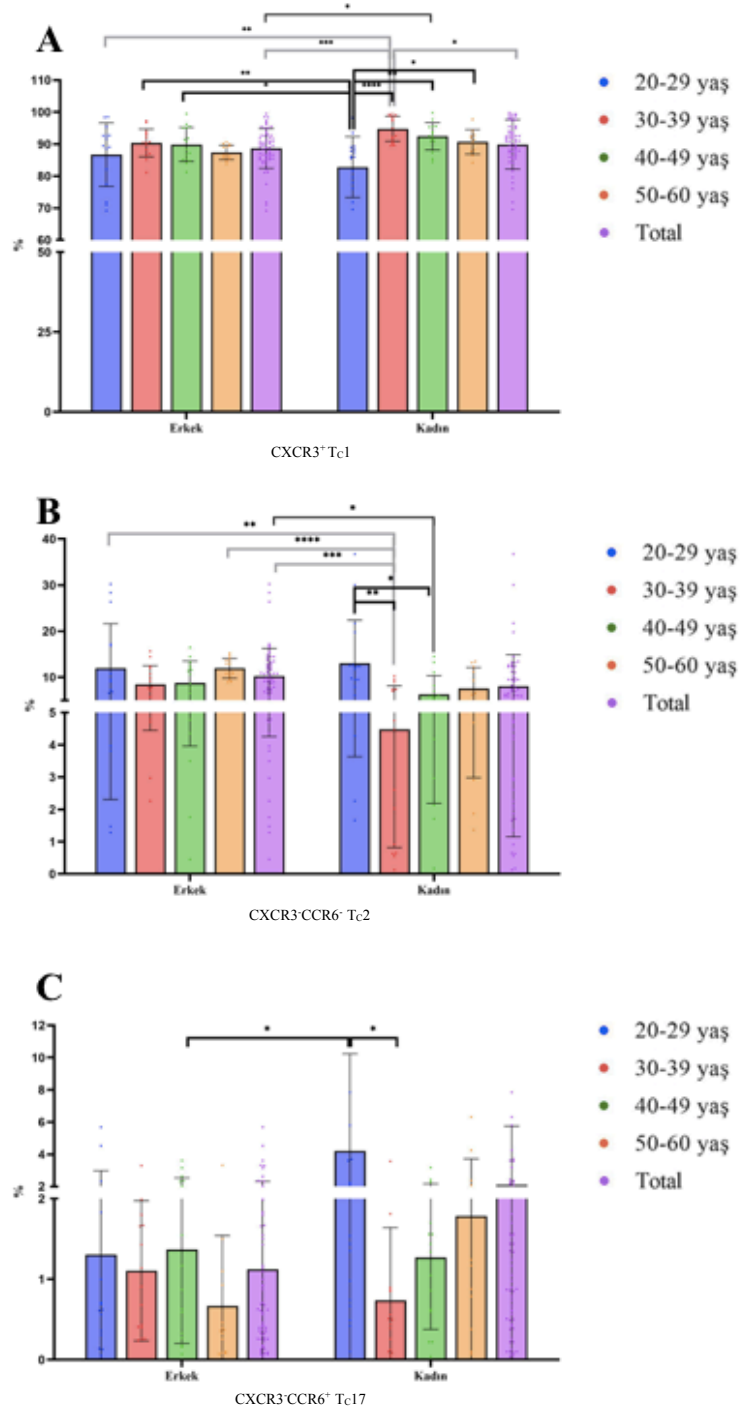
CXCR3⁺CCR6⁺											
(Tc17) (%)											
Ortalama±SD	4,20±6,03	1,30±1,67	0,73±0,90	1,10±0,87	1,27±0,89	1,36±1,16	1,78±1,92	0,66±0,87	2,09±3,64	1,12±1,19	1,59±2,72
%2,5-%97,5 Persentil	0,10-19,84	0,05-5,68	0,05-3,57	0,24-3,29	0,04-3,18	0,07-3,61	0,07-6,31	0,07-3,32	0,04-19,30	0,06-5,07	0,05-8,11
Tc1/Tc2 CD8⁺ T											
Orani											
Ortalama±SD	12,52±14,39	18,44±22,85	103,50±192,80	14,66±10,61	57,87±147,10	27,22±53,17	21,75±21,20	7,57±1,58	49,54±126,20	17,30±30,35	33,15±92,11
%2,5-%97,5 Persentil	1,62-59,18	2,29-76,88	8,74-764,40	5,19-43,05	5,82-587,10	4,93-221,1	6,25-71,88	5,56-10,08	1,95-680,20	2,40-145,40	2,31-230,20
Tc1/Tc17 CD8⁺ T											
Orani											
Ortalama±SD	117,40±229,90	315,70±503,80	437,40±545,40	157,90±128,30	284,30±625,20	243,40±362,20	261,80±415,70	423,40±421,20	270,70±478,10	282,10±382	276,50±430,10
%2,5-%97,5 Persentil	3,84-982,40	13,64-1970	25,68-1986	24,65-391,70	28,58-2495	23,49-1421	14,55-1252	25,84-1210	3,88-2253	17,10-1682	11,03-1970



Şekil 4-13: CD8⁺ kapısında erkek ve kadınlarda yaş gruplarına göre Naif (A), T_{EMRA} (B) ve efektör hafıza, santral hafıza ve T_{FC} hücre (C) dağılımları (**p<0.0001, *** p<0.001, ** p<0.01, * p<0.05)**

CXCR3⁺ Tc1, CXCR3⁻CCR6⁻ Tc2 ve CXCR3⁻CCR6⁺ Tc17 hücre grupları CD8⁺ T lenfositler içinde değerlendirildiğinde erkeklerde yaş grupları açısından anlamlı fark bulunmadı ve referans değerleri Tc1 hücreler için **%70,13-%98,96**, Tc2 hücreler için **%0,88-%29,22** ve Tc17 hücreler için **%0,06-%5,07** olarak saptandı. Kadınlarda Tc1 hücre grubu için 20-29 yaş hücre oranının 30-39, 40-49 ve 50-60 yaş kadın gruplarına göre düşük olduğu saptandı (sırasıyla; p<0,0001, p=0,0011 ve p=0,015). Buna karşın, 20-29 yaş kadınlarda Tc2 ve Tc17 hücre oranının 30-39 yaş kadın grubuna göre artış gösterdiği bulundu (sırasıyla; p=0,0025 ve p=0,035). Aynı zamanda 20-29 yaş kadınlarda Tc2 hücre oranının 40-49 yaş kadınlara ve Tc17 hücre oranının 50-60 yaş erkeklere göre arttığı gözlemlendi (sırasıyla; p=0,0155 ve p=0,0383). Bu nedenle kadınlarda 20-29 yaş grubu referans değerleri Tc1 hücreler için **%59,70-%98,24**, Tc2 hücreler için **%1,66-%36,69** ve Tc17 hücreler için **%0,10-%19,84** olarak saptandı. 30-60 yaş grubu için referans değerleri Tc1 hücreler için **%84,19-%99,78**, Tc2 hücreler için **%0,13-%14,45** ve Tc17 hücreler için **%0,04-%6,20** olarak bulundu.

CD8⁺ T lenfositler içinde Tc1/Tc2 ve Tc1/Tc17 hücre oranları kıyaslandığında anlamlı bir fark gözlenmedi (p>0.05). Bu nedenle tüm bireylerde referans değerleri Tc1/Tc2 hücre oranı için **2,31-230,20** ve Tc1/Tc17 hücre oranı için **11,03-1970** olarak bulundu. CD8⁺ kapısında erkek ve kadın bireylerde Tc1, Tc2 ve Tc17 CD8⁺ T lenfositlere ait değerler Tablo 4-7 ve Şekil 4-14'de verildi.



Şekil 4-14: CD8⁺ kapısında erkek ve kadınlarda yaş gruplarına göre Tc1 (A), Tc2 (B) ve Tc17 (C) hücre dağılımları (****p< 0.0001, *** p< 0.001, ** p< 0.01, * p< 0.05)

5. TARTIŞMA

Yabancı antijenlere karşı vücudu koruma görevi için özelleşmiş molekül ve hücrelerin oluşturduğu immün sistem doğal ve edinsel olmak üzere iki alt gruba ayrılır [1, 2]. Hücresel immün yanıtta sorumlu olan T lenfositler ile antikor üretiminden ve humoral immün yanıtta sorumlu olan B lenfositler, antijene karşı daha geç ama daha etkin bir yanıt oluşturan edinsel immün sistemin hücreleridir [17, 18].

İmmün sistem hücrelerinin PİY, otoimmünite ve kanser gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol aldıkları bilinmektedir [58]. Bağışıklık sisteminin kendinden olanı tanıma oluşturan toleransın bozulması, B ve T lenfosit alt gruplarının fonksiyonel ve moleküler kusurları sonucu otoantikor üretimi, sjögren sendromu, tip 1 diyabet, hashimoto tiroiditi, MG, MS, RA, SLE gibi çeşitli otoimmün hastalıklara neden olmaktadır [120, 150]. Yapılan çalışmalar, dönüşmüş ve dönüşmemiş hafıza B lenfosit oranlarının SLE hastalarında azaldığını, buna karşın CD27-IgD⁻ çift negatif B lenfosit ve T_{FH} hücre oranlarının arttığını göstermektedir [64, 69, 128]. Benzer şekilde, MS hastalarında da CD27-IgD⁻ çift negatif B lenfosit ve T_{FH} hücre oranlarının arttığı, yardımcı T lenfositlerin ise Th1 yönünde farklılaştığı bildirilmektedir [67, 121, 128]. Bununla birlikte, MS ve SLE hastalarında CD4⁺ T_{EM} hücre oranlarının arttığı, T_{CM} hücre oranlarının ise azaldığı gözlenmektedir [115, 129]. Güncel çalışmalar, Behçet hastalarında T lenfositlerin Th17 yönüne farklılaştığını ortaya koymaktadır [122].

İmmün sistem hücrelerinin sayı ve fonksiyonel kusurları sonrası ortaya çıkan PİY hastalıklarının insidansı 1/10.000 olmakla birlikte otozomal resesif geçiş göstermesi ve akraba evlilik oranlarının ülkemizde yüksek olması sebebiyle görülme sıklığı daha fazladır [136]. Dünyada ve ülkemizde en sık antikor eksiklikleri (%65-%70) gözlenmektedir [136]. T lenfositlerin timustaki gelişimleri esnasında meydana gelen kusurlar, *ADA*, *RAG1* ve *RAG2* genlerinde meydana gelen mutasyonlar AKİY tablosuna neden olarak hastalarda lenfosit eksikliklerine neden olmaktadır [142]. Ayrıca YDİY hastalarında dönüşmemiş ve dönüşmüş hafıza B lenfosit oranlarında azalma olduğu ve B hücrelerinin ağırlıklı olarak naif formda olduğu gösterilmektedir [62]. İmmün toleransın korunmasında görevli Treg hücrelerinin transkripsiyon faktörü olan *FoxP3* geninde meydana gelen mutasyonlar, T_{reg} hücre sayısı ve fonksiyon bozukluklarına neden olarak bağışıklık düzensizliği, poliendokrinopati, enteropati ile karakterize IPEX sendromuna neden olmaktadır [151].

PİY hastalarına çoğunlukla çocukluk çağında tanı konulmakla birlikte, hastalık belirtilerinin çeşitliliği ve yeni tanımlanan PİY hastalık grupları, tanıda gecikmelere ve hastaların uygun tedavi seçeneklerine geç ulaşmasına neden olmaktadır. PİY tanısında kullanılan genetik tanı testlerinin hastalığa özgü mutasyonların tanımlanması ve hastalığın altında yatan moleküler bozuklukların belirlenmesine olanak vermesinin yanı sıra, sadece tanıda değil genetik danışma, risk tespiti ve preimplantasyon genetik tanı için de son derece önemlidir. Ancak genetik testlerin hem uzun sürede sonuçlanması hem de maliyetinin yüksek olması nedeniyle, son yıllarda antikor ve floresan çeşitliliği artan, düşük maliyeti, hızlı ve güvenilir sonuç vermesi nedeniyle akan hücre ölçer PİY tanısında rutinde yaygın olarak kullanılmaktadır [152].

Sağlıklı bireylerden elde edilen T ve B lenfosit alt grup dağılımlarının belirlenmesi, hastalardan elde edilen sonuçların yorumlanması açısından oldukça önemlidir. Etnik, coğrafya, yaş ve cinsiyet farklılıklarının lenfosit dağılımları üzerine etkili olabileceği düşünülmektedir [153]. Farklı ülkelere ait T ve B lenfosit alt grup dağılımlarını gösteren referans çalışmalar bulunmakla birlikte [154, 155], ülkemizde bu yöndeki çalışmalar oldukça azdır [156, 157]. Ulusal çalışmalarda genellikle lenfositler içinde $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ T lenfosit, NK ve $CD19^+$ B lenfosit dağılımları verilirken [157], bir çalışmada hem çocuk hem de erişkin yaş grubunda (n=30) T ve B lenfosit alt grup dağılımları gösterilmiştir [156]. Bu araştırmalardan farklı olarak, çalışmamızda daha geniş sağlıklı erişkin popülasyonundan veriler elde edilmiş, ayrıca sonuçlar cinsiyet ve yaş grupları açısından karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte diğer çalışmalarda yer almayan Th1, Th2, Th17, Treg, T_{FR} ve T_{FC} hücre dağılımları analiz edilmiştir.

Güncel çalışmalar, doğumdan 16-18 yaşa doğru total B ve naif B lenfosit oranlarında azalma, dönüşmemiş ve dönüşmüş B lenfosit alt gruplarında ise artış olduğunu bildirmektedir [153, 156, 158]. Bununla birlikte, çalışmamızdan elde edilen veriler erişkinlerde yaş ve cinsiyet farklılıklarının B lenfosit alt grup dağılımları üzerine bir etkisinin olmadığı ve 18 yaş sonrası B lenfosit alt grup dağılımlarının ileri yaşlara kadar değişmeden benzer kaldığını göstermektedir.

Bisset ve ark.'nın yaptıkları çalışmada erişkin kadın ve erkek bireylerden elde edilen B lenfosit alt grup dağılımlarının sonuçlarımızla benzer olduğu görüldü [154]. Bununla birlikte, Avrupa'da 6 farklı merkezde 20-81 yaş aralığında 260 bireyden elde edilen verilerin sunulduğu başka bir çalışmada, $CD19^+$ B lenfosit, naif, dönüşmemiş ve dönüşmüş hafıza B lenfosit dağılımlarının verilerimiz ile benzer olduğu, $CD27-IgD^-$ hücre

dağılımının (%2,00-%6,09) ise çalışmamızda elde ettiğimiz dağılımdan (%1,86-%18,56) farklı olduğu gözlemlendi [155]. 26-50 yaş grubu sağlıklı bireylerde yapılan başka bir çalışmada naif, dönüşmemiş ve CD27-IgD⁺ B lenfosit dağılımlarının verilerimizle farklı olduğu saptandı (sırasıyla %58,00-%72,01, %13,40-%21,40 ve %2,10-%5,30) [158]. Çocuklarda yapılan çalışmalarda, 12-18 yaş grubunda ise CD27-IgD⁺ hücre dağılımının (%1,40-%13,00) verilerimizle benzer olduğu belirlendi [153]. Literatürde CD27-IgD⁺ B lenfosit dağılımları ile ilgili çalışmalar birbirinden farklı veriler sunmaktadır. Bazı çalışmalar yaş grupları arasında CD27-IgD⁺ oranlarının değişmediğini gösterirken [155], bazı çalışmalar ileri yaş ile birlikte bu hücre oranlarının arttığını bildirmektedir [159]. Çalışmamızda CD19⁺ B lenfosit dağılımı %5,17-%19,23 olarak gözlenirken, ülkemizde 16-50 yaş aralığında 30 sağlıklı bireyde yapılan bir çalışmada CD19⁺ B lenfosit dağılımının %3,40-%15,90, farklı bir çalışmada ise %3,90-%20,70 olduğu gözlemlendi [156, 157]. Besci ve ark.'nın 30 sağlıklı birey ile yapmış olduğu çalışmada naif ve dönüşmüş B lenfosit dağılımlarının çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile benzer olduğu saptandı [156]. Çalışmalar arası gözlenen bu farklılıkların temelinde çalışmaya dahil edilen birey sayısındaki ve yaş grup dağılımlarındaki farklılıkların yanı sıra, bazı çalışmaların tam kan örneklerinde bazılarının ise ficol yöntemi ile izole edilen mononükleer hücrelerden yapılması, kullanılan antikorların klon farklılıklarının rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Literatürde CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit oranlarında doğumdan sonra kısmi bir artış görünmekle birlikte, sonrasında 16 yaşına kadar kısmi bir azalmanın olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [160, 161]. Buna karşın bazı çalışmalar, 18 yaşına kadar CD4⁺ T lenfosit hücre dağılımında azalma, CD8⁺ T lenfositlerde ise artış olduğunu bildirmektedir [162, 163]. Yakın zamanda ülkemizde yapılan bir çalışma da CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit mutlak hücre sayısının doğumdan 9. aya kadar arttığı, sonraki yaşlarda ise azaldığını göstermektedir [156]. Çalışmamızda erişkinlerde yaş farklılıklarının CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit hücre oranlarını etkilemediği, buna karşın kadınlarda CD3⁺ ve CD4⁺ T lenfosit hücre oranlarının erkeklere göre yüksek olduğu, CD8⁺ T lenfosit hücre oranlarında ise fark olmadığı saptandı. Bununla birlikte, erişkin bireylerde cinsiyet farklılıklarının T lenfosit alt grup dağılımları üzerine etkisinin olup olmadığı yönünde birbirinden farklı çalışmalar bulunmaktadır. Bazı çalışmalar cinsiyet açısından yapılan değerlendirmelerde CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit hücre oranlarının benzer olduğu bildirmektedir [154, 157]. Bazı çalışmalarda ise CD3⁺ lenfosit oranları açısından farklılık

gözlenmezken, $CD4^+$ T oranlarının kadınlarda daha yüksek, $CD8^+$ T oranlarının ise daha düşük olduğu belirtilmiştir [155].

Naif T lenfositler enfeksiyon sonlandıktan sonra kan ve periferik dokularda lokalize olan T_{EM} hücrelere, ikincil lenfoid dokularda T_{CM} hücrelere ve T_{EMRA} lenfositlere dönüşür [98, 100]. Bu çalışmada $CD4^+$ ve $CD8^+$ hücreler içinde efektör, santral bellek, naif ve T_{EMRA} hücre dağılımları incelendiğinde, $CD4^+$ T lenfositler içinde cinsiyet ve yaş farklılıklarının bu hücre dağılımlarına etki etmediği, buna karşın 50-60 yaş grubunda $CD8^+$ T lenfositler içinde naif hücre oranlarının azaldığı, T_{EMRA} lenfosit oranlarının arttığı saptandı. $CD8^+$ T efektör ve santral hafıza T hücre oranları cinsiyet ve yaş grupları açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. 16-50 yaş bireyler arasında ülkemizde yapılan bir çalışmada verilerimize göre $CD4^+$ naif, T_{EMRA} , santral ve efektör hafıza T hücre dağılımlarında (sırasıyla %13,90-%66,40, %0,30-%44,60, %21,70-%67,00 ve %2,90-%24,60) ve $CD8^+$ naif, T_{EMRA} , santral ve efektör hafıza T hücre dağılımlarında (%4,10-%67,50, %3,60-%66,00 %4,10-%67,50 ve %0,70-%39,90) farklılıklar olduğu belirlendi [156]. Veriler arasındaki bu farklılıkların çalışma gruplarının büyüklüğü, cinsiyet ve yaş dağılımı gibi çeşitli değişkenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

İlerleyen yaş ile birlikte kişilerde otoimmün hastalık prevalansının düşük olduğu bilinmektedir [164]. Bu durumun özellikle yaş ile birlikte artan Treg hücre miktarı ile korele olabileceği bildirilmektedir [164]. Bununla birlikte ileri yaş ile birlikte kanser ve kronik enfeksiyonların görülme sıklığının ise arttığı bilinmektedir [164]. Güncel çalışmalar Treg oranlarındaki artışın kanser ve kronik enfeksiyonlara karşı duyarlılığı arttırdığını göstermektedir [164]. Çalışmamız dahilinde değerlendirilen $CD25^{yüksek}CD127^-$ Treg hücre dağılımının diğer yaş gruplarına kıyasla özellikle 50-60 yaş bireylerde arttığı gözlemlendi. Güncel literatür çalışmalarında gözlenen ileri yaş kişilerde Treg hücre oranındaki artış, çalışmamızdan elde ettiğimiz verileri desteklemektedir. Ancak yapılan bir çalışmada Treg hücre dağılımının hem cinsiyet hem de 20-39 ve 40-60 yaş grupları açısından bizim verilerimize göre farklı olduğu gözlemlendi (%6,00-%9,00) [155].

SLE, MS vb. birçok otoimmün hastalığın insidansının kadınlarda erkeklere göre daha yüksek olduğu bilinmektedir [165]. Cinsiyet farklılıklarının otoimmün hastalıklarda immün sistem üzerine etkisi iyi bilinmemekle birlikte, MS hastalarında kadınların daha iyi prognoza sahip oldukları bildirilmiştir [166]. T_{FH} hücrelerinin GM'de otoantikor

üremi uyararak otoimmün hastalıkların patogeneğinde rol alabilecekleri gösterilmiştir [165]. Çalışmamızda sağlıklı kadınlarda T_{FH} hücre oranlarının sağlıklı erkeklere göre düşük olduğu, yaş farklılıklarının ise T_{FH} hücre dağılımlarını etkilemediği gözlemlendi.

T_{FR} hücreler T_{FH} proliferasyonunu, otoantikor üretimini ve GM reaksiyonlarını sınırlamak ile görevlidir. Otoimmün hastalıkların bir çoğunda T_{FH}/T_{FR} hücre dengesinin bozulduğu gösterilmiştir [165]. Çalışmamızda da 50-60 yaş erkek bireylerde T_{FR} hücre oranlarının diğer yaş gruplarına kıyasla arttığı gözlenirken, kadın-erkek gruplar arasında fark saptanmadı. Treg hücrelerinde olduğu gibi ileri yaş erkeklerde gözlenen T_{FR} hücre oranındaki artışın otoimmün hastalıklara karşı koruyucu etkinin artmasına neden olabileceği, kanser ve kronik enfeksiyonlara karşı ise duyarlılığın artmasına neden olabileceği düşünülmektedir.

Th1, Th2 ve Th17 hücre grupları T lenfositler içinde analiz edildiğinde, cinsiyetler arasında ve erkeklerde yaş grupları açısından farklılık gözlenmezken, özellikle 20-29 yaş grubu kadınlarda $CD4^+$ hücrelerin Th2 ve Th17 yönünde farklılaşmasının daha yüksek olduğu, ileri yaş gruplarında ise bu farklılaşmanın Th1 yönünde arttığı gözlemlendi. 2017 yılında yayınlanan bir derlemede östrojen hormonunun Th2 yanıtlarını aktive edebileceği, Th1 ve Th17 yanıtlarını ise baskılayabileceği gösterilmiştir [167]. Bu nedenle Th1, Th2 ve Th17 hücre gruplarının özellikle kadınlarda yaşla birlikte değişen hormonal seviyelerden etkilenebileceği düşünülmektedir. Otoimmün hastalıkların görülme yaşı MS'de 20-40 yaş aralığı iken, MG'de 40 yaş ve üzeridir. Hastalarda ayrıca Th1 yanıtının baskın olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda 30 yaş ve üzeri kadınlarda $CD4^+$ T hücre yanıtının Th1 yönüne farklılaşmasının hastalığın görülme yaşı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Özetle bu çalışmada, sağlıklı erişkin tam kan örneklerinde T ve B lenfosit alt grupları kapsamlı olarak incelenerek hem yaş hem de cinsiyet farklılıklarına ait referans aralıkları oluşturulmuştur. Sonuçlarımız, yaş ve cinsiyet farklılıklarının hücre dağılımlarında farklılıklar doğurabileceğini göstermektedir. Ayrıca elde ettiğimiz veriler ile kanser, primer immün yetersizlik veya otoimmün hastalığı olan bireylerde akan hücre ölçer ile yapılan tanı testlerinde lenfosit alt grup dağılımlarının değerlendirilmesinde kliniğe katkı sunacağı, bu sayede hastaların erken tanı ile doğru tedavi yöntemlerine kısa zamanda ulaştırılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Abbas, A.K., A.H. Lichtman, and S. Pillai, *Cellular and Molecular Immunology*. 2017, US: Elsevier.
2. Marshall, J.S., et al., *An introduction to immunology and immunopathology*. Allergy Asthma Clin Immunol, 2018. **14**(Suppl 2): p. 49.
3. Medzhitov, R. and C. Janeway, Jr., *Innate immunity*. N Engl J Med, 2000. **343**(5): p. 338-44.
4. Akira, S., S. Uematsu, and O. Takeuchi, *Pathogen recognition and innate immunity*. Cell, 2006. **124**(4): p. 783-801.
5. Parkin, J. and B. Cohen, *An overview of the immune system*. Lancet, 2001. **357**(9270): p. 1777-89.
6. Cheng, Y., et al., *Evolution of the avian beta-defensin and cathelicidin genes*. BMC Evol Biol, 2015. **15**: p. 188.
7. Noris, M. and G. Remuzzi, *Overview of complement activation and regulation*. Semin Nephrol, 2013. **33**(6): p. 479-92.
8. Newton, K. and V.M. Dixit, *Signaling in innate immunity and inflammation*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2012. **4**(3).
9. Chinen, J., et al., *Advances in basic and clinical immunology in 2016*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2017. **140**(4): p. 959-973.
10. Goldman, A.S. and B.S. Prabhakar, *Immunology Overview*, in *Medical Microbiology*, th and S. Baron, Editors. 1996: Galveston (TX).
11. Plowden, J., et al., *Innate immunity in aging: impact on macrophage function*. Aging Cell, 2004. **3**(4): p. 161-7.
12. Hatano, S. and H. Watanabe, *Regulation of Macrophage and Dendritic Cell Function by Chondroitin Sulfate in Innate to Antigen-Specific Adaptive Immunity*. Front Immunol, 2020. **11**: p. 232.
13. Ma, X., et al., *Regulation of IL-10 and IL-12 production and function in macrophages and dendritic cells*. F1000Res, 2015. **4**.
14. toppr. *Interferons and Lymphoid Organs*. Available from: <https://www.toppr.com/guides/biology/human-health-and-diseases/interferons-and-lymphoid-organs/>.
15. Schijns, V., et al., *Rational Vaccine Design in Times of Emerging Diseases: The Critical Choices of Immunological Correlates of Protection, Vaccine Antigen and Immunomodulation*. Pharmaceutics, 2021. **13**(4).
16. Forthal, D.N., *Functions of Antibodies*. Microbiol Spectr, 2014. **2**(4): p. AID-0019-2014.
17. Reiner, S.L., *Development in motion: helper T cells at work*. Cell, 2007. **129**(1): p. 33-6.
18. Andersen, M.H., et al., *Cytotoxic T cells*. J Invest Dermatol, 2006. **126**(1): p. 32-41.
19. Holt, P.G. and C.A. Jones, *The development of the immune system during pregnancy and early life*. Allergy, 2000. **55**(8): p. 688-97.
20. Hardy, R.R. and K. Hayakawa, *B cell development pathways*. Annu Rev Immunol, 2001. **19**: p. 595-621.
21. SinoBiological. *CD antigens expression in B cells*. Available from: <https://www.sinobiological.com/research/cd-antigens/b-cell>.

22. Sagaert, X. and C. De Wolf-Peeters, *Classification of B-cells according to their differentiation status, their micro-anatomical localisation and their developmental lineage*. Immunol Lett, 2003. **90**(2-3): p. 179-86.
23. Perry, H.M., T.P. Bender, and C.A. McNamara, *B cell subsets in atherosclerosis*. Front Immunol, 2012. **3**: p. 373.
24. LeBien, T.W. and T.F. Tedder, *B lymphocytes: how they develop and function*. Blood, 2008. **112**(5): p. 1570-80.
25. Park, S.M., et al., *Migratory cues controlling B-lymphocyte trafficking in human lymph nodes*. Immunol Cell Biol, 2021. **99**(1): p. 49-64.
26. Batista, F.D. and N.E. Harwood, *The who, how and where of antigen presentation to B cells*. Nat Rev Immunol, 2009. **9**(1): p. 15-27.
27. Durmaz, E.Ö., *B hücre aktivasyonu ve antikor üretimi*. Türkderm, 2013. **1**:24-7.
28. Biram, A., N. Davidzohn, and Z. Shulman, *T cell interactions with B cells during germinal center formation, a three-step model*. Immunol Rev, 2019. **288**(1): p. 37-48.
29. Baumgarth, N., *A two-phase model of B-cell activation*. Immunol Rev, 2000. **176**: p. 171-80.
30. LaRosa, D.F. and J.S. Orange, *I. Lymphocytes*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2008. **121**(2): p. S364-S369.
31. Heesters, B.A., et al., *Antigen Presentation to B Cells*. Trends Immunol, 2016. **37**(12): p. 844-854.
32. Carroll, M.C., *CD21/CD35 in B cell activation*. Semin Immunol, 1998. **10**(4): p. 279-86.
33. Hua, Z. and B. Hou, *TLR signaling in B-cell development and activation*. Cell Mol Immunol, 2013. **10**(2): p. 103-6.
34. Bekeredjian-Ding, I. and G. Jegu, *Toll-like receptors--sentries in the B-cell response*. Immunology, 2009. **128**(3): p. 311-23.
35. Okada, T., et al., *Chemokine requirements for B cell entry to lymph nodes and Peyer's patches*. J Exp Med, 2002. **196**(1): p. 65-75.
36. Sagaert, X., B. Sprangers, and C. De Wolf-Peeters, *The dynamics of the B follicle: understanding the normal counterpart of B-cell-derived malignancies*. Leukemia, 2007. **21**(7): p. 1378-86.
37. Wei, Y., et al., *Flow cytometric analysis of circulating follicular helper T (Tfh) and follicular regulatory T (Tfr) populations in human blood*. Methods Mol Biol, 2015. **1291**: p. 199-207.
38. Mesin, L., J. Ersching, and G.D. Victora, *Germinal Center B Cell Dynamics*. Immunity, 2016. **45**(3): p. 471-482.
39. Papa, I. and C.G. Vinuesa, *Synaptic Interactions in Germinal Centers*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 1858.
40. Stebbins, M., et al., *Regulation of the Germinal Center Response*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 2469.
41. Charles A Janeway, P.T., Mark Walport, Mark Shlomchik, *Immunologie*. 5th ed. 2002.
42. Fink, K., *Origin and Function of Circulating Plasmablasts during Acute Viral Infections*. Front Immunol, 2012. **3**: p. 78.
43. Akkaya, M., K. Kwak, and S.K. Pierce, *B cell memory: building two walls of protection against pathogens*. Nat Rev Immunol, 2020. **20**(4): p. 229-238.
44. Hauser, A.E., et al., *Definition of germinal-center B cell migration in vivo reveals predominant intrazonal circulation patterns*. Immunity, 2007. **26**(5): p. 655-67.

45. Okazaki, I.M., et al., *The AID enzyme induces class switch recombination in fibroblasts*. Nature, 2002. **416**(6878): p. 340-5.
46. Carter, R.H., *B cells in health and disease*. Mayo Clin Proc, 2006. **81**(3): p. 377-84.
47. Pelletier, N., et al., *Plasma cells negatively regulate the follicular helper T cell program*. Nat Immunol, 2010. **11**(12): p. 1110-8.
48. Bonilla, F.A. and H.C. Oettgen, *Adaptive immunity*. J Allergy Clin Immunol, 2010. **125**(2 Suppl 2): p. S33-40.
49. Pioli, P.D., *Plasma Cells, the Next Generation: Beyond Antibody Secretion*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 2768.
50. Keyt, B.A., et al., *Structure, Function, and Therapeutic Use of IgM Antibodies*. Antibodies (Basel), 2020. **9**(4).
51. Hiemstra, P.S., et al., *Activation of the alternative pathway of complement by human serum IgA*. Eur J Immunol, 1987. **17**(3): p. 321-6.
52. Merle, N.S., et al., *Complement System Part I - Molecular Mechanisms of Activation and Regulation*. Front Immunol, 2015. **6**: p. 262.
53. Dunkelberger, J.R. and W.C. Song, *Complement and its role in innate and adaptive immune responses*. Cell Res, 2010. **20**(1): p. 34-50.
54. Erb, K.J., *Helminths, allergic disorders and IgE-mediated immune responses: where do we stand?* Eur J Immunol, 2007. **37**(5): p. 1170-3.
55. Kita, H. and G.J. Gleich, *Eosinophils and IgE receptors: a continuing controversy*. Blood, 1997. **89**(10): p. 3497-501.
56. Schroeder, H.W., Jr. and L. Cavacini, *Structure and function of immunoglobulins*. J Allergy Clin Immunol, 2010. **125**(2 Suppl 2): p. S41-52.
57. Knight, V., *The utility of flow cytometry for the diagnosis of primary immunodeficiencies*. Int J Lab Hematol, 2019. **41 Suppl 1**: p. 63-72.
58. Salzer, U., U. Sack, and I. Fuchs, *Flow Cytometry in the Diagnosis and Follow Up of Human Primary Immunodeficiencies*. EJIFCC, 2019. **30**(4): p. 407-422.
59. Mohamed, A.J., et al., *Signalling of Bruton's tyrosine kinase, Btk*. Scand J Immunol, 1999. **49**(2): p. 113-8.
60. Dogruel, D., et al., *Clinical and genetic profiles of patients with X-linked agammaglobulinemia from southeast Turkey: Novel mutations in BTK gene*. Allergol Immunopathol (Madr), 2019. **47**(1): p. 24-31.
61. Vodjgani, M., et al., *Analysis of class-switched memory B cells in patients with common variable immunodeficiency and its clinical implications*. J Invest Allergol Clin Immunol, 2007. **17**(5): p. 321-8.
62. Richardson, C.T., et al., *Failure of B Cell Tolerance in CVID*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 2881.
63. Demoersman, J., et al., *B cell subset distribution is altered in patients with severe periodontitis*. PLoS One, 2018. **13**(2): p. e0192986.
64. Rodriguez-Bayona, B., et al., *Decreased frequency and activated phenotype of blood CD27 IgD IgM B lymphocytes is a permanent abnormality in systemic lupus erythematosus patients*. Arthritis Res Ther, 2010. **12**(3): p. R108.
65. Meeuwse, J.A.L., et al., *High Levels of (Un)Switched Memory B Cells Are Associated With Better Outcome in Patients With Advanced Atherosclerotic Disease*. J Am Heart Assoc, 2017. **6**(9).
66. Frasca, D., et al., *Phenotypic and Functional Characterization of Double Negative B Cells in the Blood of Individuals With Obesity*. Front Immunol, 2021. **12**: p. 616650.

67. Fraussen, J., et al., *Phenotypic and Ig Repertoire Analyses Indicate a Common Origin of IgD(-)CD27(-) Double Negative B Cells in Healthy Individuals and Multiple Sclerosis Patients*. J Immunol, 2019. **203**(6): p. 1650-1664.
68. Bulati, M., et al., *Double negative (IgG+IgD-CD27-) B cells are increased in a cohort of moderate-severe Alzheimer's disease patients and show a pro-inflammatory trafficking receptor phenotype*. J Alzheimers Dis, 2015. **44**(4): p. 1241-51.
69. Wei, C., et al., *A new population of cells lacking expression of CD27 represents a notable component of the B cell memory compartment in systemic lupus erythematosus*. J Immunol, 2007. **178**(10): p. 6624-33.
70. Yazdani, R., et al., *The hyper IgM syndromes: Epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis and management*. Clin Immunol, 2019. **198**: p. 19-30.
71. Kuppers, R., *Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis*. Nat Rev Cancer, 2005. **5**(4): p. 251-62.
72. Lanza, F., et al., *CD22 Expression in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: Biological Significance and Implications for Inotuzumab Therapy in Adults*. Cancers (Basel), 2020. **12**(2).
73. Kipps, T.J., et al., *Chronic lymphocytic leukaemia*. Nat Rev Dis Primers, 2017. **3**: p. 17008.
74. Kumar, B.V., T.J. Connors, and D.L. Farber, *Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life*. Immunity, 2018. **48**(2): p. 202-213.
75. Luckheeram, R.V., et al., *CD4(+)T cells: differentiation and functions*. Clin Dev Immunol, 2012. **2012**: p. 925135.
76. Rackaityte, E. and J. Halkias, *Mechanisms of Fetal T Cell Tolerance and Immune Regulation*. Front Immunol, 2020. **11**: p. 588.
77. Muro, R., H. Takayanagi, and T. Nitta, *T cell receptor signaling for gammadeltaT cell development*. Inflamm Regen, 2019. **39**: p. 6.
78. Lerkvaleekul, B., et al., *Age-related changes in lymphocyte subpopulations in healthy Thai children*. J Clin Lab Anal, 2020. **34**(5): p. e23156.
79. Jameson, J. and W.L. Havran, *Skin gammadelta T-cell functions in homeostasis and wound healing*. Immunol Rev, 2007. **215**: p. 114-22.
80. Holtmeier, W. and D. Kabelitz, *gammadelta T cells link innate and adaptive immune responses*. Chem Immunol Allergy, 2005. **86**: p. 151-183.
81. Parham, P., *The Immune System*. 3. ed. 2009.
82. Mittrucker, H.W., A. Visekruna, and M. Huber, *Heterogeneity in the differentiation and function of CD8(+) T cells*. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2014. **62**(6): p. 449-58.
83. SinoBiological, *CD antigens expression in T cells*.
84. Mullen, K.M., et al., *Expression of CCR7 and CD45RA in CD4+ and CD8+ subsets in cerebrospinal fluid of 134 patients with inflammatory and non-inflammatory neurological diseases*. J Neuroimmunol, 2012. **249**(1-2): p. 86-92.
85. Nolz, J.C., G.R. Starbeck-Miller, and J.T. Harty, *Naive, effector and memory CD8 T-cell trafficking: parallels and distinctions*. Immunotherapy, 2011. **3**(10): p. 1223-33.
86. Tasnim, H., et al., *Quantitative Measurement of Naive T Cell Association With Dendritic Cells, FRCs, and Blood Vessels in Lymph Nodes*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 1571.

87. Patente, T.A., et al., *Human Dendritic Cells: Their Heterogeneity and Clinical Application Potential in Cancer Immunotherapy*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 3176.
88. Banchereau, J. and R.M. Steinman, *Dendritic cells and the control of immunity*. Nature, 1998. **392**(6673): p. 245-52.
89. Kapsenberg, M.L., *Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization*. Nat Rev Immunol, 2003. **3**(12): p. 984-93.
90. Majumdar, S., S. Pathak, and D. Nandi, *Thymus*. Resonance, 2018. **23**(2): p. 197-217.
91. Germain, R.N., *T-cell development and the CD4-CD8 lineage decision*. Nat Rev Immunol, 2002. **2**(5): p. 309-22.
92. Walling, B.L. and M. Kim, *LFA-1 in T Cell Migration and Differentiation*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 952.
93. Heissmeyer, V., K.M. Ansel, and A. Rao, *A plague of autoantibodies*. Nat Immunol, 2005. **6**(7): p. 642-4.
94. Wu, Y., et al., *CTLA-4-B7 interaction is sufficient to costimulate T cell clonal expansion*. J Exp Med, 1997. **185**(7): p. 1327-35.
95. Greenfield, E.A., K.A. Nguyen, and V.K. Kuchroo, *CD28/B7 costimulation: a review*. Crit Rev Immunol, 1998. **18**(5): p. 389-418.
96. Chen, L., *Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity*. Nat Rev Immunol, 2004. **4**(5): p. 336-47.
97. Wen, S., et al., *Salp15, a Multifunctional Protein From Tick Saliva With Potential Pharmaceutical Effects*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 3067.
98. Sallusto, F., et al., *Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions*. Nature, 1999. **401**(6754): p. 708-12.
99. Mahnke, Y.D., et al., *The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets*. Eur J Immunol, 2013. **43**(11): p. 2797-809.
100. Willinger, T., et al., *Molecular signatures distinguish human central memory from effector memory CD8 T cell subsets*. J Immunol, 2005. **175**(9): p. 5895-903.
101. Ding, T., et al., *T-Follicular Regulatory Cells: Potential Therapeutic Targets in Rheumatoid Arthritis*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 2709.
102. Zhu, J., H. Yamane, and W.E. Paul, *Differentiation of effector CD4 T cell populations (*)*. Annu Rev Immunol, 2010. **28**: p. 445-89.
103. Başkan, E.B.İ., *T hücre immunitesi*. Türkderm, 2013. **1:18-23**.
104. Mousset, C.M., et al., *Comprehensive Phenotyping of T Cells Using Flow Cytometry*. Cytometry A, 2019. **95**(6): p. 647-654.
105. Kondelkova, K., et al., *Regulatory T cells (TREG) and their roles in immune system with respect to immunopathological disorders*. Acta Medica (Hradec Kralove), 2010. **53**(2): p. 73-7.
106. Wan, Y.Y. and R.A. Flavell, *How diverse--CD4 effector T cells and their functions*. J Mol Cell Biol, 2009. **1**(1): p. 20-36.
107. Emanuel, S. and D. Hawarden, *Th1 versus Th2 immune response*. Current Allergy & Clinical Immunology, 2018. **31**(2): p. 96-97.
108. Lee, G.R., *The balance of Th17 versus Treg cells in autoimmunity*. International journal of molecular sciences, 2018. **19**(3): p. 730.
109. Weaver, C.T., et al., *Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties*. Immunity, 2006. **24**(6): p. 677-688.
110. Bedoya, S.K., et al., *Th17 cells in immunity and autoimmunity*. Clin Dev Immunol, 2013. **2013**: p. 986789.

111. Corthay, A., *How do regulatory T cells work?* Scand J Immunol, 2009. **70**(4): p. 326-36.
112. Nishikawa, H. and S. Sakaguchi, *Regulatory T cells in tumor immunity.* Int J Cancer, 2010. **127**(4): p. 759-67.
113. Geem, D., et al., *Harnessing regulatory T cells for the treatment of inflammatory bowel disease.* Inflamm Bowel Dis, 2015. **21**(6): p. 1409-18.
114. Eivazi, S., et al., *Development of T follicular helper cells and their role in disease and immune system.* Biomed Pharmacother, 2016. **84**: p. 1668-1678.
115. Raphael, I., R.R. Joern, and T.G. Forsthuber, *Memory CD4(+) T Cells in Immunity and Autoimmune Diseases.* Cells, 2020. **9**(3).
116. Vanderleyden, I., et al., *Follicular Regulatory T Cells Can Access the Germinal Center Independently of CXCR5.* Cell Rep, 2020. **30**(3): p. 611-619 e4.
117. Fazilleau, N. and M. Aloulou, *Several Follicular Regulatory T Cell Subsets With Distinct Phenotype and Function Emerge During Germinal Center Reactions.* Front Immunol, 2018. **9**: p. 1792.
118. Cooper, A.M., et al., *The course of Mycobacterium tuberculosis infection in the lungs of mice lacking expression of either perforin- or granzyme-mediated cytolytic mechanisms.* Infect Immun, 1997. **65**(4): p. 1317-20.
119. *Cytotoxic t cell regulate immune responses release perforin granzymes attack infected cancerous cells action.* Available from: <https://www.dreamstime.com/cytotoxic-t-cell-regulate-immune-responses-release-perforin-granzymes-attack-infected-cancerous-cells-action-image11842867>.
120. Romagnani, S., *Immunological tolerance and autoimmunity.* Intern Emerg Med, 2006. **1**(3): p. 187-96.
121. Romagnani, S., *T-cell subsets (Th1 versus Th2).* Ann Allergy Asthma Immunol, 2000. **85**(1): p. 9-18; quiz 18, 21.
122. Nanke, Y., T. Yago, and S. Kotake, *The Role of Th17 Cells in the Pathogenesis of Behcet's Disease.* J Clin Med, 2017. **6**(7).
123. Barzaghi, F., L. Passerini, and R. Bacchetta, *Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, x-linked syndrome: a paradigm of immunodeficiency with autoimmunity.* Front Immunol, 2012. **3**: p. 211.
124. Liu, C., et al., *Increased circulating CD4(+)CXCR5(+)FoxP3(+) follicular regulatory T cells correlated with severity of systemic lupus erythematosus patients.* Int Immunopharmacol, 2018. **56**: p. 261-268.
125. Hao, H., et al., *Conversion of T Follicular Helper Cells to T Follicular Regulatory Cells by Interleukin-2 Through Transcriptional Regulation in Systemic Lupus Erythematosus.* Arthritis Rheumatol, 2021. **73**(1): p. 132-142.
126. Wen, Y., et al., *Imbalance of circulating CD4(+)CXCR5(+)FOXP3(+) Tfr-like cells and CD4(+)CXCR5(+)FOXP3(-) Tfh-like cells in myasthenia gravis.* Neurosci Lett, 2016. **630**: p. 176-182.
127. Fonseca, V.R., F. Ribeiro, and L. Graca, *T follicular regulatory (Tfr) cells: Dissecting the complexity of Tfr-cell compartments.* Immunol Rev, 2019. **288**(1): p. 112-127.
128. Gensous, N., et al., *T Follicular Helper Cells in Autoimmune Disorders.* Front Immunol, 2018. **9**: p. 1637.
129. Fritsch, R.D., et al., *Abnormal differentiation of memory T cells in systemic lupus erythematosus.* Arthritis Rheum, 2006. **54**(7): p. 2184-97.

130. Gravano, D.M. and K.K. Hoyer, *Promotion and prevention of autoimmune disease by CD8+ T cells*. J Autoimmun, 2013. **45**: p. 68-79.
131. Deng, Q., et al., *The Emerging Epigenetic Role of CD8+ T Cells in Autoimmune Diseases: A Systematic Review*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 856.
132. Xia, A., et al., *T Cell Dysfunction in Cancer Immunity and Immunotherapy*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 1719.
133. Chraa, D., et al., *T lymphocyte subsets in cancer immunity: Friends or foes*. J Leukoc Biol, 2019. **105**(2): p. 243-255.
134. Huang, Y., et al., *CD4+ and CD8+ T cells have opposing roles in breast cancer progression and outcome*. Oncotarget, 2015. **6**(19): p. 17462-78.
135. Buckley, R.H., *Primary immunodeficiency diseases due to defects in lymphocytes*. N Engl J Med, 2000. **343**(18): p. 1313-24.
136. Yıldız, C.I., *İmmün Sistemin Doğuştan Kusurları ve Korona Virüs Pandemisi*. Turkish Journal of Immunology 2020. **8**(1): p. 13-20.
137. Gerber, W.A., *Focus on Chronic Variable Immunodeficiency for Primary Care Practitioners, the Gatekeepers to Optimal Health Outcomes for Primary Immunodeficiency Syndromes*. Current Pediatrics Reports, 2019. **7**(4): p. 130-144.
138. ÖLMEZ, U.m., *İmmün Yetmezliklerde Yapılacak Testler*. Türkiye Klinikleri, 2016.
139. Tangye, S.G., et al., *Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee*. J Clin Immunol, 2020. **40**(1): p. 24-64.
140. Kilic, S.S., et al., *The prevalences [correction] and patient characteristics of primary immunodeficiency diseases in Turkey--two centers study*. J Clin Immunol, 2013. **33**(1): p. 74-83.
141. Davies, E.G., *Immunodeficiency in DiGeorge Syndrome and Options for Treating Cases with Complete Athymia*. Front Immunol, 2013. **4**: p. 322.
142. Kanegane, H., et al., *Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases*. Allergol Int, 2018. **67**(1): p. 43-54.
143. Villa, A., et al., *Omenn syndrome: a disorder of Rag1 and Rag2 genes*. J Clin Immunol, 1999. **19**(2): p. 87-97.
144. Notarangelo, L.D., C.H. Miao, and H.D. Ochs, *Wiskott-Aldrich syndrome*. Curr Opin Hematol, 2008. **15**(1): p. 30-6.
145. Sauce, D., et al., *Lymphopenia-driven homeostatic regulation of naive T cells in elderly and thymectomized young adults*. J Immunol, 2012. **189**(12): p. 5541-8.
146. Ma, C.S., *Human T Follicular Helper Cells in Primary Immunodeficiency: Quality Just as Important as Quantity*. J Clin Immunol, 2016. **36 Suppl 1**: p. 40-7.
147. Wong, G.K. and A.P. Huissoon, *T-cell abnormalities in common variable immunodeficiency: the hidden defect*. J Clin Pathol, 2016. **69**(8): p. 672-6.
148. Haynes, L. and A.C. Maue, *Effects of aging on T cell function*. Curr Opin Immunol, 2009. **21**(4): p. 414-7.
149. *Fluorescence Compensation*. 2022; Available from: <https://www.creative-bioarray.com/support/fluorescence-compensation.htm>.
150. Vinuesa, C.G., I. Sanz, and M.C. Cook, *Dysregulation of germinal centres in autoimmune disease*. Nat Rev Immunol, 2009. **9**(12): p. 845-57.
151. Otsubo, K., et al., *[IPEX syndrome and human Treg cells]*. Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi, 2010. **33**(4): p. 196-206.

152. Michael Brown, C.W., *Flow Cytometry: Principles and Clinical Applications in Hematology*. Clinical Chemistry, 01 August 2000. **46**(8): p. 1221-1229.
153. Duchamp, M., et al., *B-cell subpopulations in children: National reference values*. Immun Inflamm Dis, 2014. **2**(3): p. 131-40.
154. Bisset, L.R., et al., *Reference values for peripheral blood lymphocyte phenotypes applicable to the healthy adult population in Switzerland*. Eur J Haematol, 2004. **72**(3): p. 203-12.
155. Oras, A., et al., *Comprehensive flow cytometric reference intervals of leukocyte subsets from six study centers across Europe*. Clin Exp Immunol, 2020. **202**(3): p. 363-378.
156. Besci, O., et al., *Reference values for T and B lymphocyte subpopulations in Turkish children and adults*. Turk J Med Sci, 2021. **51**(4): p. 1814-1824.
157. Yaman, A., et al., *Reference ranges of lymphocyte subsets of healthy adults in Turkey*. Med Princ Pract, 2005. **14**(3): p. 189-93.
158. Morbach, H., et al., *Reference values for B cell subpopulations from infancy to adulthood*. Clin Exp Immunol, 2010. **162**(2): p. 271-9.
159. Colonna-Romano, G., et al., *A double-negative (IgD-CD27-) B cell population is increased in the peripheral blood of elderly people*. Mech Ageing Dev, 2009. **130**(10): p. 681-90.
160. Comans-Bitter, W.M., et al., *Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations*. J Pediatr, 1997. **130**(3): p. 388-93.
161. Schatorje, E.J., et al., *Paediatric reference values for the peripheral T cell compartment*. Scand J Immunol, 2012. **75**(4): p. 436-44.
162. Valiathan, R., M. Ashman, and D. Asthana, *Effects of Ageing on the Immune System: Infants to Elderly*. Scand J Immunol, 2016. **83**(4): p. 255-66.
163. Lee, B.W., et al., *Age- and sex-related changes in lymphocyte subpopulations of healthy Asian subjects: from birth to adulthood*. Cytometry, 1996. **26**(1): p. 8-15.
164. Vadasz, Z., et al., *Age-related autoimmunity*. BMC Med, 2013. **11**: p. 94.
165. Ding, T., et al., *Frontiers of Autoantibodies in Autoimmune Disorders: Crosstalk Between Tfh/Tfr and Regulatory B Cells*. Front Immunol, 2021. **12**: p. 641013.
166. Çinar, B.P.G.l.o.l., H.; Yorgun, Y. G., *Multipl skleroz ve otoimmünite üzerine cinsiyet faktörünün etkisi*. 2016.
167. Roved, J., H. Westerdahl, and D. Hasselquist, *Sex differences in immune responses: Hormonal effects, antagonistic selection, and evolutionary consequences*. Horm Behav, 2017. **88**: p. 95-105.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ERİŞKİN SAĞLIKLI BİREYLERDE ÇOK RENKLİ AKAN HÜCRE
ÖLÇER İLE T VE B LENFOSİT ALT GRUPLARININ YAŞA ÖZGÜ
REFERANS DEĞERLERİNİN OLUŞTURULMASI

ORJİNALLİK RAPORU

%**8**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**7**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**3**

YAYINLAR

%**3**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**2**

2

acikerisim.pau.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

3

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

<%**1**

4

docplayer.biz.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

<%**1**

6

kefirtanesi.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

Submitted to Saglik Bilimleri Universitesi

Öğrenci Ödevi

<%**1**

8

docs.wixstatic.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

kongre.akademikiletisim.com