

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İmmünoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

**ARTEMİS EKSİKLİĞİNDE NAİF VE BELLEK T  
LENFOSİT ALTGRUPLARININ AKİMSİTOMETRİK ANALİZİ**

**Gülözar Gülnur İTEZ**

Danışman

Prof. Dr. Sevgi KELEŞ

**Konya-2021**

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İmmünoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

**ARTEMİS EKSİKLİĞİNDE NAİF VE BELLEK T LENFOSİT  
ALTGRUPLARININ AKİMSİTOMETRİK ANALİZİ**

**Gülözar Gülnur İTEZ**

Danışman  
Prof. Dr. Sevgi KELEŞ

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 201318003 proje numarası ile desteklenmiştir.

**Konya-2021**

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmünoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **Gülzar Gülnur İTEZ**'in “**Artemis Eksikliğinde Naif Ve Bellek T Lenfosit Altgruplarının Akımsitometrik Analizi**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA/ 30.06.2021

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Sevgi Keleş

İmzası

NEU/Meram Tıp Fak. İmmünoloji AD.

Üye

Prof. Dr. Sevgi Pekcan

İmzası

NEU/Meram Tıp Fak. İmmünoloji AD

Üye

Doç. Dr. Fatma Duksal

İmzası

Konya Şehir Hastanesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 23/06/2021 tarih ve 14/10 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

İmzası

## BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütun bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütun bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

30.06.2020

Gülüzar Gülnur İTEZ

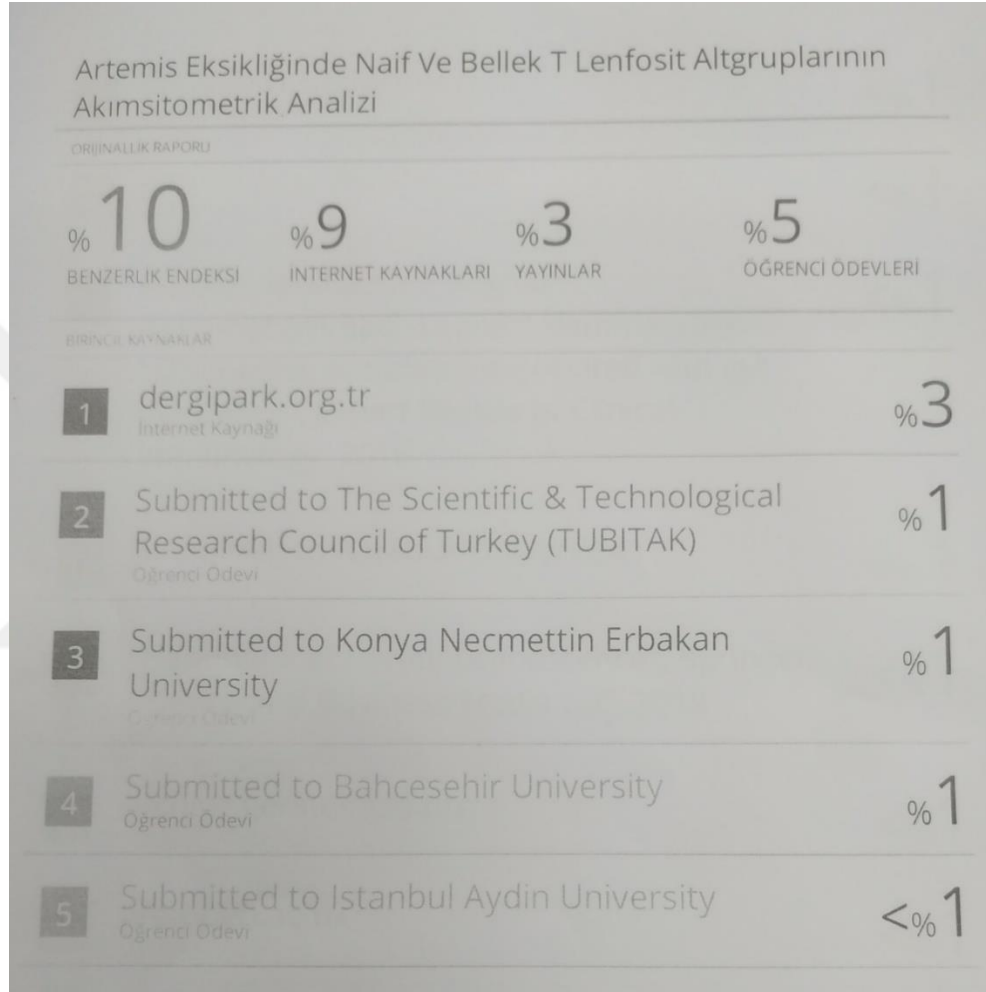


## BENZERLİK RAPORU

**Tezin Tam Adı:** Artemis Eksikliğinde Naif ve Bellek T Hücre Altgruplarının Akımsitometrik Analizi

**Öğrencinin Adı Soyadı:** Gülüzar Gülnur İTEZ

**Dosyanın Toplam Sayfa Sayısı:** 68



**Danışman Öğretim Üyesi Adı Soyadı:** Sevgi KELEŞ

**İMZA:**

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans süreci boyunca verdiği emek ve paylaştığı değerli bilgileri için danışmanım saygıdeğer Prof. Dr. Sevgi Keleş'e, Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. İsmail Reisli ve Doç. Dr. Şükrü Nail Güner'e,

Öğr. Gör. Şeyma Çelikkalek Çelik, Öğr. Gör. Dr. Mehmet Ali Karaselek, Uzm. Dr. Hasan Kapaklı ve Uzm. Dr. Yahya Gül'e, istatistik analiz safhasında yardımları için Uzm. Dr. Lütfi Saltuk Demir'e, Biyolog Kazım Çamlı'ya, yönlendirmeleri ve destekleri için kıymetli büyüğüm Prof. Dr. Attila Akbay'a, fedakar Hemşire Hanım Havva Bozkurt Alan'a, sevgili sınıf arkadaşım Hatice İrem Koş'a, Çocuk Allerji İmmünoloji Laboratuvarı çalışanlarına, bana kazandırdıkları bakış açısıyla hareket ettiğim ve hala notlarımı okuduğum lisans öğretmenlerim saygıdeğer Naci Değerli, Serap Çetinkaya ve Ertan Mahir Korkmaz'a ...

Beni sevgi ve saygıyla büyüten, fikirleriyle yolumu ışıtan canım anneme, yıllardır acı tatlı her günümde yanımda olan biricik dostum Büşra Küçük'e, manevi destekleri için Sabiha Can, Pınar Can, Betül Takım ve ablam Halime Erdoğan Yünden'e...

Sonsuz teşekkürlerimle.

Gülüzar Gülnur İTEZ

## İÇİNDEKİLER

Tez Onay Sayfası.....	ii
Beyanat.....	iv
Benzerlik Raporu .....	v
Önsöz ve Teşekkür.....	vi
Kısaltmalar ve Simgeler Listesi.....	ix
Şekiller Listesi .....	xii
Tablolar Listesi .....	xiii
<b>ÖZET.....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xv</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. İmmün Sistem.....	3
2.1.1. Doğal İmmün Sistem.....	3
2.1.2. Edinsel İmmün Sistem.....	5
2.2. Lenfositler.....	6
2.2.1. B Lenfositler .....	6
2.2.2. T Lenfositler .....	7
2.3. T Hücre Olgunlaşması.....	9
2.3.1. T Hücrelerin Kökeni.....	9
2.3.2. Timik Gelişim Basamakları.....	9
2.3.3. VDJ Rekombinasyonu.....	13
2.3.4. Lenfositlerin Timustan Çıkışı .....	17
2.4. T Hücre Alt Grupları : Naif, Efektör, Bellek.....	18
2.4.1. Naif ve Efektör T Lenfositler.....	18
2.4.2. Bellek T Lenfositler .....	22
2.5. Bellek T Hücre Grupları.....	24

2.5.1. Merkezi Bellek Ve Efektör Bellek Hücreler .....	24
2.5.2. TEMRA Hücreleri.....	25
2.5.3. Doku Yerleşik Bellek Hücreler.....	25
2.5.4. Kök Hücre Benzeri Bellek T Hücreler .....	26
2.6. Bellek T Hücre Gelişimini Etkileyen Faktörler .....	26
2.7. T Hücre Alt Gruplarının Analizi.....	27
2.8. Artemis Eksikliği .....	28
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>31</b>
3.1. Çalışmanın Yöntemi.....	31
3.2. İstatiksel Analiz .....	33
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>34</b>
4.1. Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri .....	34
4.2. Klinik ve Laboratuvar Bulguları.....	34
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>40</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>42</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>52</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>53</b>
8.1. EK-1 : Etik Kurul Onayı .....	53
8.2. EK-2 : Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu.....	53

## KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

**%:** Yüzde

**$\alpha$ :** Alfa

**$\beta$ :** Beta

**$\gamma$ :** Gama

**$\delta$ :** Delta

**$\epsilon$ :** Epsilon

**$\zeta$ :** Zeta

**$\mu$ l:** Mikrolitre

**AKİY:** Ağır Kombine İmmün Yetmezlik

**ASH:** Antijen Sunan Hücre

**ASYE:** Alt Solunum Yolu Enfeksiyonları

**ATM:** Ataksia Telanjiektazi Mutasyonlu Protein

**ATR:** ATM ve Rad3 İlişkili Protein

**BCL:** B Hücre Lenfoma

**BCR:** B Hücre Reseptörü (B Cell Receptor)

**CART:** Kimerik T Antijen Reseptörü

**CCR:** Gama Kemokin Reseptörü

**CD:** Cluster of Differentiation ( Farklılaşma Kümesi)

**CMV:** Sitomegalo Virüs

**CXCR:** Alfa Kemokin Reseptörü

**CXCL:** Alfa Kemokin Ligand

**D:** Diversity (D geni : Çeşitlilik)

**DCLRE1C:** DNA Cross Link Repair 1C

**DENV:** Dengue Virüs

**DN:** Double Negative (Çift Negatif)

**DNA:** Deoksiribo Nükleik Asit

**DNA-PKcs:** DNA-bağımlı proteinkinaz katalitik alt ünitesi

**DSB:** Double Strand Break (Çift Zincir Kırığı)

**FSC:** Forward Scatter (İleri Saçılım)

**FTT:** Failure to Thrive (Gelişme Geriliği)

**HEV:** High Endothelial Venul (Yüksek Endotelial Venül)

**HKH:** Hematopoietik Kök Hücre  
**HR:** Homolog Rekombinasyon  
**ICOS:** Inducible T-cell Costimulator  
**IFN-  $\gamma$ :** İnterferon-gama  
**Ig:** İmmünglobülin  
**IL:** İnterlökin  
**IVIG:** İntravenöz İmmünglobülin  
**J:** Joining (J Geni: Katılma)  
**JAK:** Janus kinaz  
**KİY:** Kombine İmmün Yetmezlik  
**KLRG:** Katil Hücre Lektin Benzeri Reseptör G  
**KLF:** Krupfel Benzeri Faktör  
**LAT:** Linker for Activation of T Cells (T Hücre Aktivasyonu İçin Bağlantı Proteini)  
**LFA:** Lenfosit Fonksiyon-İlişkili Antijen, lökosit integrini  
**MHC:** Majör histokompatibilite kompleksi  
**MKH:** Mezenkimal Kök Hücre  
**MM:** Multiple Miyolom  
**MMEJ:** Mikrohomoleji Yönlendirmeli Uç Birleştirme  
**Mre11:** Mayotik Rekombinasyon -11  
**Mtec:** Medullar Timik Epitelyal Hücre  
**NAD:** Nikotinamid adenin dinükleotit  
**NBS1:** Nibrin  
**NHEJ:** Non-Homolog End Joining (Homolog Olmayan Uç Birleştirme)  
**NK:** Natural Killer (Doğal Katil)  
**NKT:** Natural Killer T (Doğal Katil T)  
**-OH:** Hidroksil  
**PAMP:** Pathogen Associated Molecular Pattern (Patojen-İlişkili Moleküler Örgüler)  
**PECAM-1:** Platelet Endotelyal Hücre Adezyon Molekülü-1  
**PHA:** Phytohemagglutinin (Fitohemagglutinin)  
**PRR:** Pattern recognition receptor (Örgü tanıma reseptörleri)  
**PTPRC:** Protein tyrosine phosphatase, receptor type, C  
**Rac2:** Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2

**Rad50:** Radiation Repair Protein-50

**RAG:** Recombination activating gene

**Rpm:** Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)

**RTE:** Recent Thymic Emigrant

**RS-SCID:** Radyosensitif- Ağır Kombine İmmün Yetmezlik (AKİY)

**RSS:** Recombination signal sequences (Rekombinasyon Sinyal Dizileri)

**S1P:** Sfingozin 1 Fosfat

**SCA-1:** Stem cells antigen-1

**SD:** Standart Deviasyon (Standart Sapma)

**SP:** Single Positive (Tek Pozitif)

**SSC:** Side Scatter (Yan Saçılım)

**STAT:** Sinyal Aktarım ve Transkripsiyon Aktivasyonu-protein

**Tc:** Sitotoksik T Hücre

**T<sub>CM</sub>:** T central memory (T Merkezi Bellek)

**TCR:** T Cell Receptor (T Hücre Reseptörü)

**Tdt:** Terminal deoxynucleotidyl transferase

**T<sub>EM</sub>:** T effector memory (T Efektör Bellek)

**Tfh:** Follicular Helper T (T foliküler Yardımcı)

**TfR1:** Transferrin receptor 1 (Demir taşıyıcı reseptör-1)

**TGF-  $\beta$  :** Transforming growth factor beta (Değiştirici Büyüme Faktörü beta)

**Th:** T Helper ( Yardımcı T)

**TLR:** Toll-like Receptor (Toll Benzeri Reseptör)

**Tn10:** Transposon 10

**TNF:** Tumor Necrosis Factor ( Tumor Öldürücü Faktör)

**T<sub>REG</sub>:** Regulatory T Cells (Düzenleyici T Hücre)

**T<sub>SCM</sub>:** T Stem Cell Memory (Kök Bellek Hücre)

**T-bet:** T Kutusu Transkripsiyon Faktörü (TBX21)

**V:** Variable (V Geni: Farklılık)

**XLf:** XRCC4-like factor

**XRCC4:** X-ray repair cross-complementing protein

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Thücre reseptör kompleksi ve aksesuar proteinler .....	8
Şekil 2. THR değişken ve sabit bölgeleri.....	14
Şekil 3. VDJ rekombinasyonu şeması. ....	15
Şekil 4: NHEJ proteinleri lezyon bölgesinde birikir ve işbirliği içerisinde çalışır. ..	17
Şekil 5. İmmün sinaps.....	20
Şekil 6. T hücre uyarımıyla tetiklenen sinyal kaskadları.....	21
Şekil 7. Yardımcı T hücrenin işlevleri.....	22
Şekil 8. Bellek T hücre oluşum hipotezleri.....	24
Şekil 9. CD45RA/CCR7 grafiğinde hücrelerin dağılımı .....	27
Şekil 10. Artemis'in domainleri .....	29
Şekil 11. Yüzey boyama süreci .....	32
Şekil 12. Çalışmada izlenen kapılama yöntemi .....	33
Şekil 13. T hücre altgrup analizi anlamlı bulunan değerlerin şematik gösterimi.....	38
Şekil 14. T <sub>EM</sub> ve T <sub>CM</sub> hücreler arasında korelasyon .....	39
Şekil 15. T <sub>EM</sub> /TEMRA hücreleri ters orantılı olarak artmaktadır. ....	39

## TABLULAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Doğal bağışıklık elemanları ve görevleri.....	5
<b>Tablo 2.</b> Timik gelişim belirteçleri .....	13
<b>Tablo 3.</b> Yardımcı hücreler ve immün mediyatörler.....	19
<b>Tablo 4.</b> T hücre altgruplarında belirteç ve sitokin profili .....	28
<b>Tablo 5.</b> Hastalarımızda saptanan DCLRE1C mutasyonları .....	34
<b>Tablo 6.</b> Hastaların klinik ve laboratuvar bulguları .....	35
<b>Tablo 7.</b> Periferik lenfosit altgrup analizi istatistik analiz bulguları.....	36
<b>Tablo 8.</b> Kök hücre nakli öncesi ve sonrası ölçülen serum IgA, IgG, IgM değerleri	37
<b>Tablo 9.</b> T Hücre altgruplarının dağılımı .....	38

## ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### Artemis Eksikliğinde Naif ve Bellek T Hücre AltGruplarının Akımsitometrik Analizi

Güluzar Gülnur İTEZ

İmmünoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi / Konya -2021

Edinsel immün sistem elemanları T ve B hücreler antijenleri algılama ve algıladıkları antijenlere özgü yanıtlar verme yeteneğine sahiptir. T ve B hücrenin antijen tanıma yeteneği ‘‘antijen reseptörü’’ adı verilen yapılar sayesinde mümkün olmaktadır. Bu reseptörler protein yapılarıdır ve antijenle temas eden bölgelerinin çeşitliliği, bireyin edinsel immün sisteminin tanıyabileceği antijen çeşitliliğini belirlemektedir. Bu çeşitliliği arttıran mekanizma V(D)J rekombinasyonu olarak adlandırılır. Artemis, VDJ rekombinasyonu sürecinde önemli bir protein olup, eksikliğinde ciddi klinik tablolar ortaya çıkar ve belirgin T ve B hücre düşüklükleri görülür. Hastalar enfeksiyonlara yatkın hale gelirler ve kök hücre nakli yapılmazsa yaşamın erken dönemlerinde kaybedilebilirler.

T hücrelerikemik iliğinde üretilir, naif hücreler olarak periferde çıkar. İkincil lenfoid organlarda efektör hücrelere dönüşür. Efektör hücrelerin, antijenik tehdit ortadan kalktıktan sonra büyük kısmı apoptoza uğrar. Bir kısım ise bellek hücreye dönüşür. Bellek hücreler ilerleyen yaşla birlikte vücuttaki en baskın hücre kümesi haline gelir. Artemis eksikliğinde hafıza hücrelerinin dağılımı ile ilgili herhangi bir veri bulunmamaktadır.

Literatürde gerek ağır kombine immün yetmezlik (AKİY) gerekse atipik AKİY tablosuna yol açan Artemis eksikliğinin moleküler mekanizması, klinik profili, Artemis ve DNA tamir yolakları ile ilişkisi konusunda çok sayıda çalışma olmasına karşın, özellikle atipik AKİY tablosuna yol açan Artemis eksikliğinde nakil öncesi ve sonrası efektör, merkezi bellek, TEMRA gibi T hücre alt grupları dağılımı ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Biz bu çalışmada DCLRE1C c.194C>T p.T65I mutasyonu taşıyan 5 hastada naif, efektör bellek, TEMRA ve merkezi bellek hücrelerinin dağılımını ve nakil olanlarda bu dağılımın nasıl değiştiğini araştırmayı amaçladık.

Artemis eksikliği ile olan 5 hasta ve 12 kontrol çalışmaya dahil edildi. T hücre altgrupları kök hücre nakil öncesi ve nakilden 1 yıl sonra değerlendirildi ve kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Hastalarda KHN öncesibelirgin lenfopeni, CD4+ ve CD8+ naif hücrelerinde düşüklük, CD4 efektör bellek hücre oranında yükseklik olduğu, nakil sonrasında ise bu düşük tabloların normale geldiğini saptadık. Çalışmamız atipik Artemis eksikliği olan hastalarda naif T ve T hafıza hücre dağılımının bozuk olduğunu ve nakil ile bu bozukluğun düzeldiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** AKİY, Artemis Eksikliği, Hafıza T Hücre, Naif T Hücre, T Hücre Alt Grupları

## ABSTRACT

REPUBLIC OF TURKEY  
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY  
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

### Flow Cytometric Analysis of Naive and Memory T Cell Sub Groups in Artemis Deficiency

Gülüzar Gülnur İTEZ

İmmünoloji Anabilim Dalı

Master Thesis / Konya-2021

Adaptive immune system components T and B cells have the ability to recognize antigens and give specific responses to the antigens. The ability of T and B cells to recognize antigen is made possible by the receptors called "antigen receptors". These receptors are protein structures, and the diversity of their antigen-contacting regions determines the diversity of antigens that an individual's adaptive immune system can recognize. The mechanism that increases this diversity is called V(D)J recombination. Artemis is an important protein in the process of VDJ recombination, and its deficiency causes serious clinical manifestations. T and B cells are low. Patients who have DCLRE1C mutation become prone to diseases and may be lost early in life if they do not suffer hematopoietic stem cell transplantation (HSCT).

T cells are produced in the bone marrow than move to thymus end enrol to peripheral blood as naïve cells. Then they transform into effector cells in secondary lymphoid organs. Most of the effector cells undergo apoptosis after the antigenic threat has disappeared. Some of them turn into memory cells. Memory cells become the most dominant cell cluster in the body with age. There is no data on the distribution of memory cells in atypical Artemis deficiency.

Although there are many studies in the literature on the molecular mechanism, clinical profile, relationship between Artemis and DNA repair pathways of Artemis deficiency, which causes both severe combined immuno deficiency (SCID) and atypical SCID. There are many studies in the literature about Artemis deficiency and DNA repair defects. However, there is no studies on the distribution of T cell subgroups in atypical Artemis deficiency. In this study, we aimed to investigate the distribution of naive, effector memory, TEMRA and central memory cells in 5 patients with DCLRE1C c.194C>T p.T65I mutation and how this distribution changed with transplant recipients.

5 patients with Artemis deficiency and 12 healthy donors were included in the study. We evaluated T cell subgroups before and 1 year after HSCT and compared with the age matched control group. We found that the patients had significant lymphopenia, low CD4+ and CD8+ naive cells, high CD4 effector memory cell ratio before HSCT, and these low levels returned to normal after transplantation. Our study shows that naïve T and memory T cell distribution was impaired in the patients with atypical Artemis deficiency and this decreased numbers of T cell subsets improved with transplantation.

**KeyWords:** Artemis, Memory Cells, Naive T Cell, T Cell Subsets, SCID

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

T hücreler, patojenlere, allerjenlere ve tümörlere verilen yanıtlar da dahil olmak üzere yaşam boyunca adaptif bağışıklığın birçok yönünü koordine eden edinsel immün sistemin hücreleridir (Kumar ve ark. 2018). Gelişimleri timusta başlar. Timus T lenfositlerin kök hücreden olgun hücreye dönüştüğü, antijen moleküllerini tanıyan reseptörlerinin üretildiği, öze duyarlı reseptörler taşıyan T hücrelerin elendiği vücut kompartımanıdır (Abbas 2014). Timusta olgunlaşmış T hücreleri periferik çıktığında, naif T hücreler olarak adlandırılır. Bunlar henüz antijenle karşılaşmamış hücrelerdir. Naif T hücreler antijenle karşılaşma şansının yüksek olduğu sekonder lenfoid organlara göç ederler. Burada antijenle karşılaşmayı takiben efektör T hücrelerine dönüşürler. Antijenik tehdit ortadan kaldırılınca bir grup efektör hücre bellek hücrelere dönüşerek o antijeni hafızasına alır. Tüm bu süreç sonucunda T hücre alt grupları olan  $T_{NAIF}$  : CD45RA + CCR7 + (Mahnke ve ark. 2013) ,  $T_{EM}$  :CD45RA - CCR7-(Sallusto ve ark. 1999),  $T_{CM}$ : CD45RA-CCR7+ (Carbone 2013),  $TEMRA$ : CD45RA+CCR7- (Kared 2020) hücre grupları oluşur ( $T_{EM}$ : efektör bellek,  $T_{CM}$ : merkezi bellek,  $T_{NAIF}$ : naif T Hücre)

T hücrelerinin antijenleri tanınması ve immün cevabı başlatması üzerlerinde bulunan T hücre reseptörlerinin (THR) uyarımı ile başlamaktadır. THR, CD3 ve  $\zeta$  zinciri ile birlikte kompleks halinde olgun T hücre yüzeyinde bulunur. Çoğu THR alfa ve beta olmak üzere iki zincir içerir. Bu zincirler üzerinde değişken ve sabit bölgeler bulunur ve bu değişken bölgeler doğrudan antijen ile temas eder. Antijenle temas eden proteinin doğadaki sayısız antijenin farklı yapılarını tanıyabilmesi ve farklı antijenleri ayırt edebilmesi gerekir (Abbas 2014).

Antijen reseptörlerinin değişken bölgeleri VDJ rekombinasyonu adı verilen bir süreçle çeşitlendirilir. Bu süreçte beta zinciri değişken bölgeleri V, J ; alfa zinciri değişken bölgeleri V, D, J adı verilen genler tarafından kodlanır. Gen segmentleri kromozomun farklı bölgelerinden kesilir ve birleştirilir. Birleştirme sırasında iki genin birleşim bölgesi olan "junctions" lardaki bazı silinir ve hatalı olarak tamir edilir. Böylelikle yeni bir gen dizisi elde edilir.

Artemis V(D)J rekombinasyonu sürecinde, gen segmentleri kesildikten sonra kesilmiş uçlarda oluşan ‘‘hairpin’’ adı verilen transester yapıların kırılmasında görevli bir proteindir (Kennedy 1998). Bu motifler kırılıp, hasarlı bazlar uzaklaştırılmazsa rekombinasyon işlemi çoğunlukla sürdürülemez ve apoptoza gider. Hairpinleri açan Tn10 transpozazları hariç alternatif başka yapılar bilinmemektedir. T hücreler; özellikle virüs, bakteri, fungal ve parazitler dahil olmak üzere mikroorganizmalara karşı savaşta önemli rol alan hücrelerdir (Kumar 2018). T hücrelerinin gelişim basamaklarından herhangi birinde duraksama veya VDJ rekombinasyonu için gerekli olan genlerde oluşacak mutasyonlar, T hücrelerinde sayısal ve/veya fonksiyonel eksikliğine yol açmaktadır. Bu durum ise hastalarda yukarıda belirtilen ajanlar ile gelişen enfeksiyonlara yatkınlığa neden olmaktadır (Vanderburg 2011). Artemis eksikliği de bir T hücre yetmezliği (ağır kombine immün yetmezlik, AKİY) olup, bu hastalarda da başta viral enfeksiyonlar olmak üzere enfeksiyonlara artmış bir yatkınlık söz konusudur (Moshous 2003; Parvaneh 2013). Bu gende oluşan mutasyonlar sıklıkla T-B-NK+ AKİY tablosuna neden olurken bazı hipomorfik mutasyonlar sonucu klinik tablonun daha hafif olduğu atipik AKİY tablosu da gelişebilmektedir. 2015 yılında Almanya grubu ile yaptığımız bir çalışma ile kkliniğimizde takip edilen 9vakada Artemis proteininin geni olan DCLRE1C’deki (c.194C>T p.T65I) mutasyonunun hipomorfik bir mutasyon olup atipik AKİY tablosuna yol açtığını gösterdik (Volk ve ark. 2015). Takip eden yıllarda ise benzer klinik ve mutasyonu taşıyan vaka sayısı 17’ye ulaşmıştır.

Literatürde gerek AKİY gerekse atipik AKİY tablosuna yol açan Artemis eksikliğinin moleküler mekanizması, klinik profili, Artemis ve DNA tamir yolları ile ilişkisi konusunda çok sayıda çalışma olmasına karşın, özellikle atipik AKİY tablosuna yol açan Artemis eksikliğinde T hücre alt grupları ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Biz bu çalışmada DCLRE1C c.194C>T p.T65I mutasyonu taşıyan 5 hastada naif, efektör bellek, TEMRA ve merkezi bellek hücrelerinin dağılımını ve nakil olanlarda bu dağılımın nasıl değiştiğini araştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İmmün Sistem

İmmünite Latince immünisten türetilmiş bir kelime olup dokunulmaz anlamına gelmektedir. İmmün sistem, organizmaları dış ve iç tehditlere karşı dokunulmaz kılan; enfeksiyonlara karşı direnci sağlayan, doku ve organların bütünüdür. Tüm bu varlık vücudumuzu sadece yabancı moleküllere (antijen) karşı savunmakla kalmayıp, vücudumuzun içinde öze zararlı hücrelerin de ortadan kaldırılmasını, yani immün sistem dengesinin devamlılığını da sağlamaktadır (Abbas 2014). İmmün sistemi uyaran maddelere antijen denilmektedir. Bu sistemin görevlerini özetleyecek olursak:

1. Enfeksiyon etkenlerine direnç,
2. Doku greftleri ve yabancı antijenlere karşı savunma
3. Tümör gelişimine direnç

İmmün sistem birbiri ile uyum içinde çalışan edinsel ve doğal immün sistem olarak iki başlıkta incelenmektedir. Doğal bağışıklığın hücre ve elemanları; edinsel bağışık yanıtın başlatılmasında önemlidir. Edinsel bağışıklık sistemi de doğal bağışıklık elemanlarını kullanarak doğal bağışıklık yanıtını kuvvetlendirir. Her iki immün yanıtta kendi kendini sınırlar ve enfeksiyon etkeni yok edildikten sonra kaybolur (Male 2009).

#### 2.1.1. Doğal İmmün Sistem

Vücuda giren mikroorganizmalara karşı ilk koruyucu engeli oluşturur. Enfeksiyöz ajanların vücuda girişini engeller ve girmeyi başaranları hızla yok eder. Bunu mikroorganizmaların üzerindeki bazı ortak özgül yapıları tanıyarak sağlar. Böylece bütün patojenlere karşı aynı tip cevabı verir. Ayrıca hasarlı hücreleri tanıyarak onların vücuttan temizlenmesini sağlar. Harap dokuların yenilenmesinde rol oynar. Doğal immün sistem mikroorganizmaların PAMP (Patogen associated molecular patterns) aracılığıyla tetiklenir ve doğal bağışıklık elemanları bu örgüleri PRR (pattern recognition receptors); örgü tanıma reseptörleri aracılığıyla tanır (Abbas 2014). Doğal immün sistem yapısal bariyerler, miyeloid hücreler ve çözülebilir elemanlar olarak 3 grupta incelenebilir.

Deri ve mukozal doku; yapısal bariyerleri oluşturup mikroorganizmaların vücuda girişine engel olur. Miyeloid hücreler; fagositik hücreler (nötrofil, monosit/makrofaj), doğal öldürücü hücreler (NK) ve inflamatuvar mediyatör salan hücrelerden (eozinofiller, bazofiller ve mast hücreleri) oluşmaktadır. Doğal sistemin diğer bir elemanı ise dolaşımdaki çözülebilir faktörlerdir (akut faz proteinleri, sitokinler ve kompleman).

NK hücreleri dolaşımdaki ve periferik lenfoid organlardaki lenfositlerin %10'unu oluşturur. Yoğun sitoplazmik granüllere sahip olan NK hücreleri, kendilerine özgü yüzey proteinlerini eksprese ederler. Ancak antijen reseptörleri yoktur. Bunun yerine etkinleştirici reseptörleri bulunur. Enfekte hücreler tarafından uyarımlarının ardından granüllerini temas ettikleri hücre dışı ortama bırakırlar. Granüldeki proteinler enfekte hücelere girerek apoptozu başlatır. Böylelikle virüsler gibi hücre içi tehditlerin ortadan kaldırılmasına yardımcı olurlar. Ürettikleri IFN- $\gamma$ ; makrofajları düzenler ve fagositoz başarısını artırır. Makrofaj ve dendritik hücrelerce üretilen IL-15, Tip 1 interferonlar ve IL-12 gibi sitokinlerle; uyarımları, büyüme ve olgunlaşmaları, öldürme işlevlerinin güçlenmesi gerçekleşir (Abel 2018). Bu hücreler immünolojik dengenin korunmasında, kontrollü immün tepkilerin verilmesinde düzenleyici rol de oynamaktadır (Fu 2014).

Makrofajlar ve granülositler fagositoz ile mikroorganizmaları vücuttan uzaklaştırır. Makrofajlar dolaşımda monositler olarak bulunan ve dokulara girdiklerinde makrofajlara özelleşen hücrelerdir. Makrofajlar fagositoz işlevlerine ek olarak doku tamirinde rol alırlar. Granülositler; polimorfonükleer hücrelerdir. Fagositoz ve sitoplazmalarında bulunan granülleri içindeki enzimlerle mikroorganizmaları parçalar ve ortadan kaldırır. Doğal immün sistemin hücre/elemanları ve görevleri Tablo 1'de özetlenmiştir (Tablo 1; Abbas 2014).

**Tablo 1.** Doğal bağışıklık elemanları ve görevleri

Doğal Elemanları	Bağışıklığın Görevleri
Epitel Tabakası	Mikroorganizmaların vücuda giriş bölgesinde fiziksel ve kimyasal engel oluşturur.
Fagositler Dendritik Hücreler	Mikroorganizmaları tanıyarak hücre içi yıkımı gerçekleştirir Enflamasyonda ve edinsel immün sistem uyarılmasında görevli sitokinler üretir. T hücrelerine antijen sunar.
Mast Hücreleri	Deride ve mukozal epitelde bulunurlar. Aktifleşmeleri için TLR'e mikrobiyal ürünlerin bağlanması ile ya da antikor bağımlı mekanizma gerekir. Aktifleşen mast hücresinin granülleri serbest bırakılır. Bu granüller içinde vazoaaktif aminler, proteolitik enzimler bulunur. Ayrıca mast hücreleri lipid mediatörler ve sitokinler üretir. Alerji ve helminit tepkilerinde merkezi rol oynarlar
Doğal Katil Hücreler (NK)	Enfekte ve stresli hücreleri tanıyarak öldürür ve makrofajları etkin kılan sitokin IFN- $\gamma$ 'yı salgılayan lenfositlerdir.
Kompleman Elemanları	Sistemi Mikroorganizmalara karşı savunmada önemli bir protein kaskadıdır. Oponizasyonda, lökositler için kemoatraktan olarak ve enfekte hücrelerin öldürülmesinde görevlidir

### 2.1.2. Edinsel İmmün Sistem

Doğal immün sistem hücreleri genellikle patojenleri ve patojenler üzerindeki belirli motifleri tanıyarak, bunlara cevap verirken; edinsel immün sistem hücrelerinin tanıyabildiği antijen çeşitliliği daha fazladır. Antijenleri yüksek seçicilikle birbirinden ayırabilir (Özgüllük ve Çeşitlilik). Bir antijenle ilk defa karşılaştığı zaman ona en uygun tepkiyi verecek olan hücrelerden oluşur (Özelleşme, Kasılma/Yaşam dengesi). Edinsel immün sistem hücreleri öz antijenlere yanıt vermeyecek şekilde eğitilir. Sistem rastgele hücreler üretilip sayılarını çoğaltmaktansa sadece mevcut antijen tehdidi için üretilmiş olan hücrelerin sayısını artırır (Klonal Genişleme). Bellek özelliği sayesinde bir antijenle yineleyen karşılaşmalarda daha hızlı ve güçlü immün yanıt verilmesi için harekete geçer (Abbas 2014). Bu ortak nitelikleri taşıyan edinsel immün sistemin hücreleri T ve B lenfositlerdir. NK hücreler ise aynı antijen uyarımından sonra artmış bir immün yanıt oluşturamamaları, antijen tanıma reseptörlerini bulundurmamaları yönlerinden doğal bağışıklık içerisinde incelenen lenfosit kökenli hücrelerdir.

## 2.2.Lenfositler

Lenfositler beyaz kan hücreleri olup, edinsel immün sistemin hücreleri içinde yer alır. Tüm diğer beyaz kan hücreleri gibi kemik iliğinden köken alır, dolaşımında ve lenfoid dokularda bulunurlar (Kumar 2018). Bu hücreler; bakteri, mantar gibi enfeksiyöz ajanlara karşı savunmadan, antikor üretiminden, virüsle enfekte olmuş veya tümöral hücrelerin doğrudan hücre aracılı öldürülmesinden ve bağışıklık tepkisinin düzenlenmesinden sorumludur (Larosa 2008).

Lenfositler görünüşte homojen tek tip beyaz kan hücreleridir; ancak fonksiyon açısından çeşitlilik gösterirler. Işık mikroskobu ve elektron mikroskobu altında lenfositler birbirinden ayırt edilemez ancak yüzeylerinde taşıdıkları belirteçlerle birbirlerinden ayırt edilebilirler (Junqueira 2009). T, B ve doğal öldürücü hücreler (NK) lenfositler olarak sınıflandırılır. NK hücreleri lenfositler arasında yer almasına rağmen doğal immün sistemin elemanıdır (Abbas 2014).

### 2.2.1. B Lenfositler

B lenfositler, hümmoral immün yanıt tepkilerini oluşturan hücrelerdir. Hümmoral savunmada hücre dışı mikroorganizma ürünlerinin ve toksinlerin etkisiz bırakılması ve yok edilmesi amaçlanır. B hücreler hücre dışı çok sayıda polisakkarid, lipid ve protein yapılara karşı özgüllük gösteren antikorlar üretebilirler (Male 2009).

B hücreler kemik iliğinde üretilir ve olgunlaşma sürecini burada tamamlar. Olgunlaşma sürecini takiben dolaşıma girer ve çok az bir kısmı dolaşımında kalıp büyük çoğunluğu lenf dokusu, karaciğer dalak gibi sekonder lenfoid dokulara göç eder. B hücreler antijenleri herhangi bir aracı yapı tarafından sunuma gerek kalmadan algılayabilir. Algıladığı antijenleri yardımcı T lenfosit adı verilen T hücrelerine sunabilir. Ancak antijne yanıtları T hücreye bağımlı ya da T hücreden bağımsız olabilir (Abbas 2014).

B hücrelerinin antijen reseptörleri BHR (BCR: B Cell Receptor, B hücre reseptörü) kemik iliğinde B hücre progenitör aşamasındayken üretilir. Reseptör üretim süreci bir rekombinant protein oluşturma sürecidir. Ardından B hücre olgunlaşır ve naif hücreye dönüşür. Kemik iliğinde üretilen ve henüz antijenle karşılaşmamış B hücreye naif B hücre adı verilir. Bu hücre antikor salgılayamaz ve IgD ya da IgM antikorlarını yüzeyinde sunar. Antijen ve yardımcı T hücre uyarımı

ile sayısı artarak etkinleşir. Etkinleşen hücre farklılaşma sürecine girer. Sonuçta, antikör üretebilen olgun B hücresi oluşur. Bir grup efektör B hücresi ise bellek B hücrelerine dönüşerek o antijeni hafızasına alır (Quast ve Tarlinton 2021; Treanor 2012).

### 2.2.2. T Lenfositler

T hücreleri, enfeksiyöz ajanlara, alerjenlere ve tümörlere karşı savaşta rol alan edinsel immün sistemin hücreleridir (Kumar 2018). T hücreler; birincil ve ikincil lenfoid doku, mukozal ve bariyer alanları, ekzokrin organlar, yağ doku ve hatta beyin ve merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere hemen hemen her organ ve dokuda bulunur. Sayısal açıdan da insan vücudundaki T hücrelerin çoğu lenfoid dokulardadır (kemik iliği, dalak, bademcikler ve tahmini 500-700 lenf nodu).

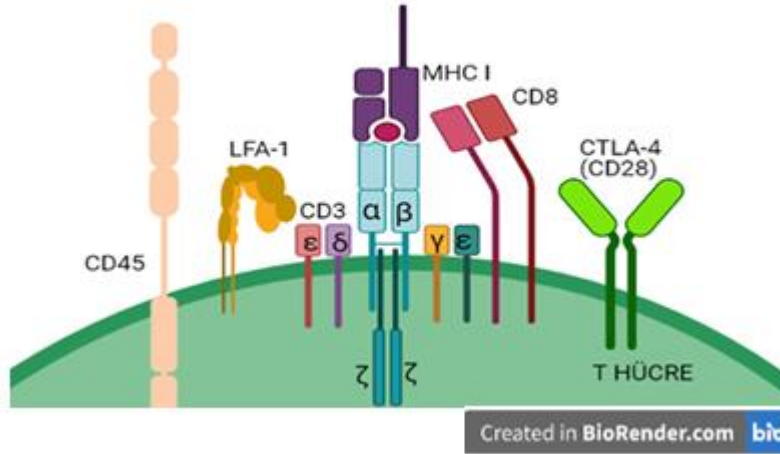
Mukozal bölgelerde (akciğerler ve ince ve kalın bağırsaklar) ve deride büyük oranda T hücre mevcuttur; bununla birlikte toplam T hücre sayısının tahmini %2-3'ü insan periferik kanda bulunur (Ladi 2006).

Fonksiyonel bir T hücrenin antijenleri tanıyabilmesi ve bu antijenlere hücrel cevap vermesi gerekir. Antijenleri tanıyan ve bu antijenlere karşı cevap veren T hücre yapısı THR (T hücre reseptörü) olarak adlandırılır. THR çoğunlukla (% 90-95) alfa-beta adı verilen iki zincirden oluşur. Ancak gama-delta zincirleri bulduran T hücreler de mevcuttur. T hücreler antijenleri MHC (major dokuyumluluk kompleksi) proteinleri tarafından sunulmadan tanıyamaz. MHC tarafından antijen sunumu THR'nin antijen özgüllüğünü artırır.

T hücre yüzeyinde THR, CD3 molekülü ile bir kompleks oluşturur (Abbas 2014). MHC ve antijen THR ile etkileştiğinde T hücresi uyarılır ve immün cevabı verecek sinyal yolları aktive edilir (Azzam 2001). CD3-T hücre reseptörü (THR) kompleksi, antijenlerin tanınmasında, antijen tanınmasının ardından gelişen sinyal aktarımında ve T lenfositlerin aktivasyonunda rol aldığından, T hücresi aracılı immün yanıtta merkezi bir rolü vardır. Bu nedenle, CD3 ve THR molekülleri, lenfositlerin en kapsamlı olarak incelenen yüzey yapıları arasındadır (Yang 2005).

$\alpha\beta$ THR'nin CD3 molekülü, üç dimeri oluşturan en az altı peptitten oluşan bir kompleks ( $\epsilon\gamma$ ,  $\epsilon\delta$  ve  $\zeta\zeta$ ) halinde bulunur ve görevi THR sinyalini hücre içine aktarmaktır (Hayday 2000). CD3'ün aktivasyonunun en güçlü hipoteze göre

THR'nin antijen ile uyarımı ile gerçekleştiği, THR'nin konformasyonel değişimine bağlı olduğu düşünülür. CD3'ün epsilon birimi hatalı farelerin timik gelişim ilerlemesinin yavaş olduğu uzun süredir bilinmektedir (Franzone 1989). ζ zinciri ise sinyal kaskadının oluşarak spesifik transkripsiyon faktörünün üretilmesi sürecinde, kaskadın ara bileşenlerini fosforilleyen ZAP-70 için bir iskele görevi görür (Abbas 2014). CD3 zincir eksiklikleri, otozomal çekinik immün yetmezliklerin bir grubunu oluşturur ve tam kan sayımında belirgin lenfopeni gözlemlenen ya da lenfopenik olmayan T-B+NK+ fenotipindedir (Tokgöz 2013). THR, CD3 zincirleri ve CD4/8 antijen tanınması ve antijen uyarım sinyalinin hücre içine aktarılması için T hücre yüzeyinde kompleks halinde bulunur (Abbas 2014) (Şekil 1; Hesterberg 2018).



Şekil 1.T hücre reseptör kompleksi ve aksesuar proteinler ( Hesterberg 2018)

Bununla birlikte yalnızca THR antijenle etkileşmesi immün cevabın verilmesi için yeterli değildir. İmmün yanıtın artırılması ve hücrenin immünolojik tehdidi ortadan kaldırmak üzere organize olması için sitokin reseptörleri, adezyon reseptörleri, iyon kanalları ve CD28 gibi stimülatörler gereklidir. Bunların uyarımıyla T hücre yanıtları düzenlenir (Azzam 2001). Şekil 1'de gösterilen CD28, THR sinyalini arttıran eş uyarıcı sınıftan bir sinyal proteindir. Sinyal uyarımıyla hücre iskeleti organize olur, transkripsiyon faktörleri düzenlenir. Sitokin üretimi, hücre sağkalımı ve farklılaşma dahil birçok süreçte T hücreler için anahtar rol oynar (Esensten 2016). THR ve eş uyarıcıların antijenle ve stimülatör ligandlarıyla uyarımı, bunlarla birlikte sitokin reseptörlerinin uyarımı T hücrenin farklı yaşam evrelerine

girmesini teşvik eder. Bu evreler; naif, efektör ve bellek evrelerdir. Ancak önce T hücreler kök hücrelerden olgunlaştırılmalıdır.

### **2.3. T Hücre Olgunlaşması**

#### **2.3.1. T Hücrelerin Kökeni**

Bütün kan hücreleri kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerden köken alırlar (Lai ve Kondo 2008). T lenfositler dışındaki tüm kan hücreleri kemik iliğinde olgunlaşırken; T lenfositleri oluşturacak olan progenitör hücrelerin olgunlaşmaları timusta gerçekleşmektedir (Petrie ve Zúñiga-Pflücker 2007).

Hematopoetik progenitörler, kemik iliği stromal hücreleri ve ekstraselüler matriks ile direkt etkileşimle, “niş” adı verilen yapılarda bulunurlar. Niş’ler progenitör hücrelerin hayatta kalma, proliferasyon ve farklılaşmaları için uygun substratlar sağlayan, özelleşmiş mikro çevrelerdir. Mezenkimal kök hücrelerden (MKH) köken alan kemik iliği stroma hücreleri (osteoblast, endotel hücreleri, fibroblastlar ve yağ hücreleri) niş’in fiziksel yapılarını oluştururlar. Bu hücreler salgıladıkları sitokinler ve hücre-hücre adezyonuyla başlatılan hücreler arası sinyallerle Hematopoietik kök hücrelerin (HKH) kendilerini yenileme ve farklılaşmasını düzenlerler. Endotel hücreleri vasküler niş’i oluşturarak HKH’nin devamı ve fonksiyon görebilmesi için gerekli mikro çevreyi oluştururlar (Ural2012 ; Yin 2006).

Hematopoetik progenitörlerin kemik iliğinden göçü karmaşık olayları içerir. HKH kemik iliğinde damarlardan uzak, sakin bir durumda osteoblastlarla ilişkili olarak, endosteuma bitişik durumda beklemektedirler. Hematopoetik nişlerden ayrılmaları; proliferasyon, farklılaşma veya muhtemelen diğer bazı mikro çevresel faktörlerin etkisiyle olmaktadır (Suda ve ark 2005).

#### **2.3.2. Timik Gelişim Basamakları**

Timik olgunlaşma süreci prekürsör hücrelerin fetal dönemde fetal karaciğerden ve daha sonra kemik iliğinden timusa göçüyle başlar (Woodland ve ark. 2009). Bu hücreler kemik iliğinde hemositoblastlardan farklılaşmış pre-T hücrelerdir ve hala multipotent oldukları için granülositlere, antijen sunan hücreler (ASH), doğal

katil (NK) ve miyeloid hücelere dönüşebilirler (Male 2009). Pre-T hücre timusa gelir gelmez epitelyal mikroçevrenin etkisi altında timik lenfositlere (timosit) farklılaşmaya başlar (Anderson 2001).

Timositlerin farklılaşması timusun farklı kompartmanlarında gerçekleşir. Korteks daha çok gelişmekte olan lenfosit bulundurur (%85-%90) (Anderson 2000). T hücreleri olgunlaştıktan sonra timusu terk ederek, dalak ve lenf düğümleri gibi sekonder lenfoid dokulara hareket eder. Timositlerin ancak %1-3'ü hayatta kalma ve timustan göç etmede başarılı olur (Cordes 2021). Bu olayların bütünü timopoez olarak adlandırılır (Hwang 2020). Timopoez dört aşamada incelenir. Birinci aşama Pre-Timik dönemdir. Ardından dönem I, II ve III takip eder. Dönem I ve II'de korteks tepkimeleri adı verilen tepkimeler; timus korteksinde meydana gelir. Korteksten medullaya çıkan timositler CD4+ ya da CD8+ nitelik kazanırlar ve olgunlaşmalarına devam eder (Male 2009).

**-Pre-Timik Dönem:** Kemik iliği kaynaklı T, B, NK ve dendritik hücelere dönüşebilme yeteneğine sahip multipotent kök hücreler timusa göç eder (Masuda 2005) ve bu göç eden hücelere pre-timik timositler adı verilmektedir. Pre-timik dönemin en belirgin belirteci CD44'tür. Bu aşamada hücreler CD4-CD8-CD25-CD44+'tır ve kortekste bulunmaktadır. Bu hücrelerde ayrıca CD34+ ve CD31 de oldukça yüksek düzeyde ifade edilmektedir (Douasi 2017). CD34 bir adezyon molekülü olup lenf noduna göç gibi, göç ve hücre adezyonu ilişkili süreçlerde rol alır (Suzawa 2007). CD31 ise platelet, monosit, nötrofil ve özellikle erken dönem T lenfositler için endotel ve diğer hücelere etkileşmek için gerekli olan bir yüzey molekülüdür. Timositler kortekste timik epitelyal ve stromal hücelerin sinyalleriyle ve adezyon molekülleriyle, dönem 1 ve dönem 2 boyunca etkileşim halindedir. Bu etkileşimle hücreler değişir ve olgunlaşır (Male 2009).

**-Dönem I Timositler (CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>T):**Dönem I timositler erken timositlerdir ve bu dönem korteks ve kortikomedullar bölgeler arasında geçer ve iki fazda incelenir. Birinci fazda timositler CD44ve CD25 taşıyır fakat CD8-CD4<sup>-</sup>'tir (çift negatif). CD25, IL-2 reseptörünün alfa zinciri olup timositlerin stromal hücelere adezyonu ile ekspresyonu artar. Bu dönemin ilk fazında timositler kortikomeduller bölgeye yüksek endotelial venüller (HEV) aracılığıyla gelir. Hücre zarına yerleşik bir protein olan CD44 timositleri kortekse yönlendirir. Korteksin en dış bölgesine

ulaşınca bu belirtecin düzeyi azalmaya başlar ve yok olur (ikinci faz). Yani dönem I'in geç fazında hücreler CD44<sup>-</sup> CD25<sup>+</sup> CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>'tir.

Bu süreçte THR'nun  $\beta$  zincirinin yeniden düzenlenmesi (rearranjman) gerçekleşir. THR-  $\beta$  yeniden düzenlenmesi ve ifade edilmesinin ardından, CD38 reseptörünün ekspresyonu artmaya başlar (Male 2009). CD38, timik epitel hücreleri tarafından ifade edilen CD31'in ligandı olup etkileşim gerçekleştiğinde apoptotik süreçleri tetikleyerek timosit ölümüne neden olmaktadır. (Tenca 2003).

Dönem I'de CD3 üretilir, ancak bu protein bu süreçte sadece intrasitoplazmik olarak bulunur, dönem sonunda CD1'in ekspresyonu artar (Male 2009). Bu dönemde oluşmaya başlayan CD5, bu aşamadan sonra tüm T hücrelerde bulunan bir belirteç olarak kalır. CD5 genel olarak B-1 ve marjinal bölge B hücrelerinin bir belirtecidir ancak T hücrelerde THR sinyalinin negatif düzenleyicisi olarak görev yapmaktadır (Voisinne 2018). CD5 molekülü eksik farelerden elde edilen veriler CD5 eksikliğinde yüksek afiniteye sahip ve özgül olmayan antijen bağlama niteliğindeki THR oluştuğu gösterilmiştir (Azzam 2001; Pena-Rossi 1999). Yine bu dönemde oluşmaya başlayan CD7 de timik gelişimin önemli bir parçasıdır ve CD7 geni kusurlu hastalarda CD25 ekspresyonunun olmadığı, T hücre proliferasyonunun çok düşük seviyelerde olduğu ve B hücre fonksiyonlarının da bundan etkilendiği saptanmıştır (Jung 1986). Bununla birlikte CD7 yalnızca erken dönem timik gelişimin bir belirteci olmayıp; CD8<sup>+</sup> naif ile bellek hücrelerde düşük oranda, efektör hücrelerde yüksek oranda bulunmuştur (Aandahl 2003).

**-Dönem II Timositler CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (çift pozitif):**Dönem II timositleri timustaki timositlerin %80'ini oluşturur. Bu dönemde hücreler CD44<sup>-</sup>CD25<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> hale gelirler. THR'nun  $\alpha$  zinciri rekombinasyona uğrar ve  $\alpha\beta$ THR, CD3 ile birlikte hücre yüzeyinde düşük düzeyde sunulmaya başlar (Sallusto 1999). Bu evrede medullada timositler pozitif seçime maruz kalır. Pozitif süreçte; medullar timik epitelyal hücreler (mTEC) öz antijenleri çift pozitif hücrelere sunar. Bu peptidleri zayıf olarak tanıyan hücreler apoptozdan kaçır, öz antijenleri taşıyan MHC'lere yüksek afiniteyle bağlanabilen THR'lere sahip T hücreleri ise apoptoza uğrar (Gasper 2014). Bu işlem sırasında MHC sınıf I moleküllerini tanıyan THR'lere sahip T hücreler CD4 ekspresyonlarını yitirir fakat CD8 ekspresyonlarını korur. Aynı şekilde MHC sınıf II moleküllerini tanıyan THR'lere sahip T hücreler CD8

ekspresyonlarını yitirir fakat CD4 ekspresyonlarını korur. Böylece çift pozitif T hücreleri, tek pozitif hücre haline gelirler ve Dönem III evresine girerler.

Dönem 2'de ekspresyonu en yüksek seviyeye ulaşan CD1 molekülü de bu sürecin önemli bir parçasıdır. Bu molekülün ekspresyonu medullar timositlerde görülmez. Zira timositlerde bulunan CD1a'nın ekspresyonu bu dönemin sonunda durdurulur, durdurulmadığı takdirde timik olgunlaşmanın gerçekleşmediği, tek pozitif ve CD1a+ olan hatalı hücrelerin IL-2 ve PHA uyarımına yanıt vermediği görülmüştür (Res 1997). Buna ek olarak CD1 temel olarak dendritik hücre belirteci olup, MHC molekülleri gibi antijen sunabilmektedir. CD38'in de en yüksek ekspresyonu dönem 2'de gerçekleşir. CD38 dönem 1'de bahsedildiği üzere; CD31 ligandı olup bir adezyon molekülü olarak tanımlanmıştır (Munoz 2008, Zhuong 2019). CD71 ise transferrin reseptörüdür. Transferrin reseptörleri hücre içine demir iyonu alımında görevlidir (Aisen, 2004). Araştırmalar TfR1 olarak adlandırılan bu reseptörün immatür lenfositler için proliferasyon belirteci olduğunu (Brekelmans 1994), eksikliği durumunda timik gelişimin CD3-CD4-CD8- aşamasında durduğunu göstermiştir (Ned 2003). Genel olarak demir homeostazının hem doğal hem edinsel immün sistem hücrelerinin gelişimlerini düzenlediği, hücre bölünmesinde ve sitotoksitesinde önemli bir element olduğu, demir alımını proinflamatuvar sitokinlerin düzenlediği dolayısıyla demir metabolizmasının özellikle bağışıklık hücrelerinin gelişiminde anahtar bir faktör olduğu bilinmektedir (Ned 2003; Cherayil 2010).

**-Dönem III Timositler (CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> ya da CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>):** Bu dönemde sırasıyla; timositlerin yüzeyindeki CD1 belirteci kaybolur. CD3 αβTHR hücre yüzeyinde yüksek yoğunlukla eksprese olur. Bu hücreler ya CD4<sup>+</sup> ya da CD8<sup>+</sup>'tir (single positive: tek pozitif). Dönem III timositlerin çoğu; CD38 ve transferin reseptörünü kaybeder (CD71) ve bu dönem medullada gerçekleşir (Male 2009; Jaigirdar 2015). Bu aşamada negatif seleksiyon gerçekleşir. Olgunlaşmamış lenfositler MHC'ye bağlı olarak sunulan öz antijenleri ile kuvvetle etkileşime girerse bu lenfositler apoptozu tetikleyen sinyal alır ve olgunlaşmasını tamamlayamadan ölür. Bu işlem negatif seçim olarak adlandırılır (Abbas 2014) (Fayord 2010). Tablo 2'de tüm bu süreçler boyunca yüzey belirteçlerinin hangi dönemlerde ifadelendiği özetlenmiştir (Tablo 2; Male 2009).

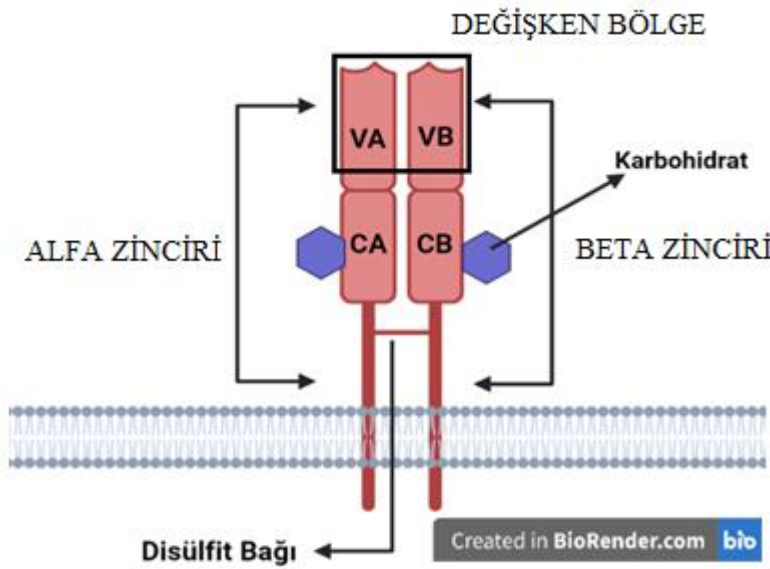
**Tablo 2.**Timik gelişim belirteçleri

Belirteçler	Pre-Timik	Timik Korteks Dönem 1	Timik Korteks Dönem 2	Timik Medulla Dönem 3	Dolaşan Hücreler	T
<b>TCR gen aranjmanı</b>	Meydana gelmez	Beta-zincir oluşur.	Beta zincir olgunlaştırılır Alfa oluşur.	Olgun TCR	Olgun TCR	
<b>Tdt</b>	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	
<b>CD44</b>	(+)	Dönem başında (+)	Dönem sonunda artmaya başlar	(+)	(+)	
<b>CD25</b>	Dönem sonunda ekspresyon artmaya başlar	(+)	(-)	(-)	(-)	
<b>CD3</b>	(-)	Sitoplazmik ekspresyon (+)	Düşük ekspresyon	Yüksek ekspresyon	Yüksek ekspresyon	
<b>γδ TCR</b>	(-)	Dönem sonunda artmaya başlar	Düşük ekspresyon	Yüksek ekspresyon	Yüksek ekspresyon	
<b>αβ TCR</b>	(-)	Dönem sonunda artmaya başlar	Düşük ekspresyon	Yüksek ekspresyon	Yüksek ekspresyon	
<b>CD4+CD8+ Durumu</b>	CD4-CD8-	CD4-CD8-	CD4+CD8+	CD4+CD8- ya da CD4-CD8+	CD4+CD8- ya da CD4-CD8+	
<b>CD1</b>	(-)	Dönem sonunda artmaya başlar	(+)	(-)	(-)	
<b>CD7</b>	Dönem sonunda (+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
<b>CD5</b>	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	
<b>CD2</b>	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	
<b>CD38</b>	Dönem sonunda (+)	(+)	(+)	(-)	(-)	
<b>CD71</b>	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	

### 2.3.3. VDJ Rekombinasyonu

Dönem I ve Dönem II timositlerde THR alfa ve beta zincirlerinin oluşumuna bir rekombinasyon süreci eşlik etmektedir. THR'nin alfa ve beta zincirleri değişken ve sabit olmak üzere iki domain içerir. Değişken bölgeler çeşitli antijenlerin

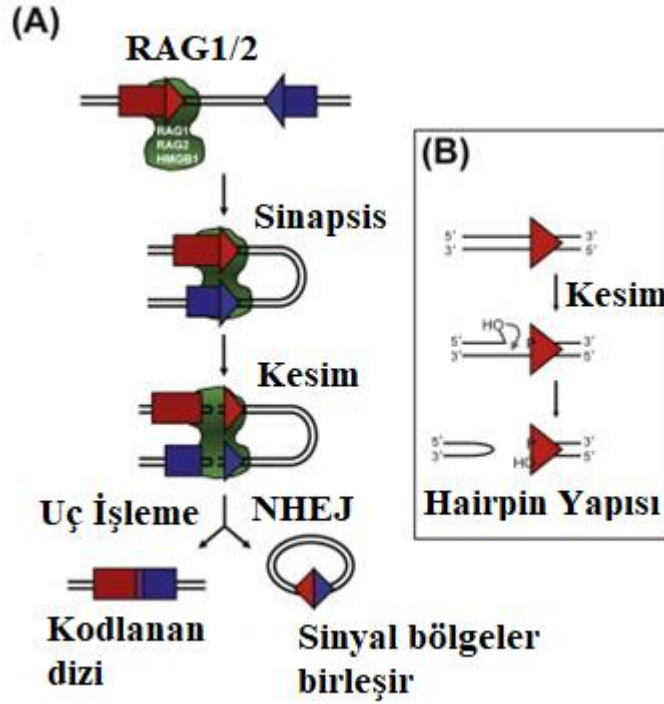
tanınması ve onlara T hücre yanıtının başlatılmasından sorumludur (Şekil 2; Abbas 2014). THR beta zincirlerinin değişken bölgelerini; V: variable, (D: diversity) J: joining adı verilen gen bölgeleri kodlar. Alfa zinciri değişken bölgelerini V ve J genleri kodlamaktadır (Abbas 2014). Bu genler V(D)J rekombinasyonu adı verilen bir süreçle işlenip, birleştirilir. Yeni oluşan gen segmentlerinin birleşimi sonucunda farklı antijenleri tanıma yeteneğinde farklı klonlar oluşturulur (Haeryfor 2008). VDJ rekombinasyonuyla, bireyin immün repertuarı oluşturulur. Timustaki her olgunlaşmış hücre proliferde olduğunda VDJ rekombinasyonu sonucu oluşmuş T hücre reseptörünü taşıyan binlerce hücre oluşur. Bu hücrelere klon denir (Abbas 2007). İmmün repertuar bireyin antijen reseptörlerini taşıyan farklı hücre klonlarının sayısını ifade eder. Bir insanda immün repertuarın Ig (reseptör) için yaklaşık  $10^{14}$  ve THR molekülleri için yaklaşık  $10^{18}$  farklı klondan oluştuğu tahmin edilmektedir.



Şekil 2. THR değişken ve sabit bölgeleri (Franco ve ark. 2016)

Rekombinasyon mekanizmasının başlatılması için DNA üzerindeki belirli dizileri tanıyan VDJ rekombinazın (RAG 1, RAG2: recombination activating gene) rekombinasyon sinyal dizilerini (RSS-recombination signal sequences) tanımları gerekmektedir. Bu diziler V gen segmentinin 3' ucu ile, J segmentinin 5' ucunda bulunmaktadır. VDJ Rekombinaz RSS'lere bağlanınca, V,D,J gen segmentlerini birbirine yaklaştırır, RSS motiflerinden DNA'yı keser (Shrivastav 2008), (Şekil 3-A), bu kesim sonucu transesterifikasyon tepkimesi meydana gelir (Lieber 2010). Bu

enzimatik kesim sonucu serbest kalan-OH ucunun aracılık ettiği bir dizi tepkimeyle DNA ucu halkalı bir hal alır (Şekil 3-B). Bu yapıya hairpin adı verilir (Couedel 2004; Ma 2002).



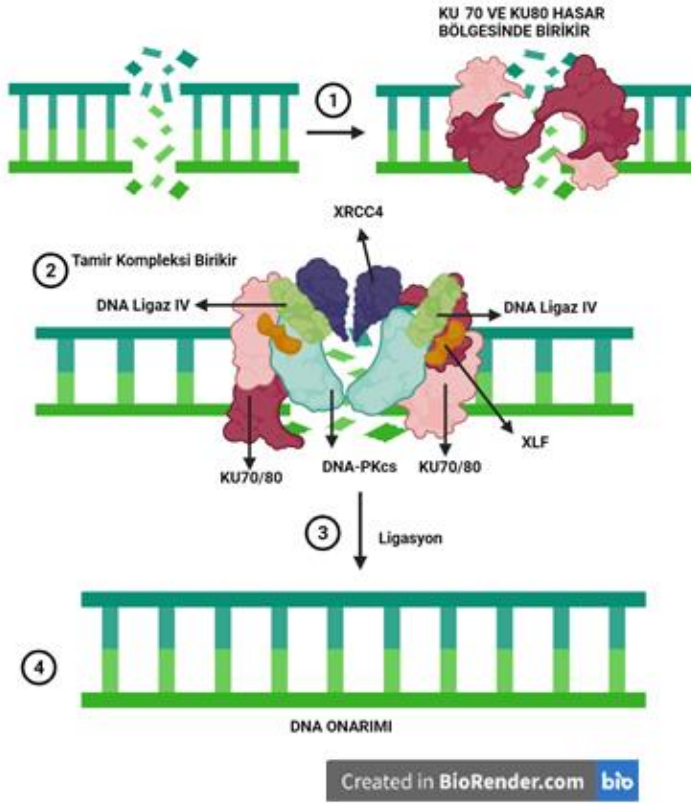
**Şekil 3.** VDJ rekombinasyonu şeması. (Kırmızı-mavi üçgen RSS, kırmızı-mavi dikdörtgen V(D)J genleri.) (Little ve ark. 2015)

Hairpin yapısı DNA çift zincir kırığının tamir edilmesinin önünde bir engeldir. Zira bu haldeyken tamir proteinleri hairpin yapıdaki DNA motifine bağlanamaz. Artemis VDJ rekombinasyonunun bu aşamasında oluşan hairpin yapısının açılmasını sağlar (Moshous 2001). Böylelikle DNA’da çift zincir kırıkları oluşturulur ve bu çift zincir kırıkları hata eğilimli bir DNA çift zincir kırığı tamir mekanizması olan NHEJ (Homolog olmayan uç birleştirme) ile onarılır (Sadofsky 2001). NHEJ, HR’den (Homolog rekombinasyon) daha hızlı gerçekleşen bir işlemdir (Mao 2008). Artemis yokluğunda çift zincir kırığı çoğunlukla HR ile tamir edilir ya da başka Artemis bağımsız yollara doğru yönelebilir (Vadasz 2013; Soulas-Sprauel 2007). Şekil 4’ te bu süreç genel hatlarıyla gösterilmiştir (Şekil 4 ; Little ve ark. 2015).

DNA ucundaki hairpin Artemis tarafından açıldıktan sonra çift zincir kırıkları tamir edilir. NHEJ için alternatif yollar olmasına rağmen kanonik 7 temel protein tanımlanmıştır. Bunlar Ku, DNA-PKcs, Artemis, polimeraz  $\mu$ , polimeraz  $\lambda$ , XLF (Cernunnos), XRCC4 ve DNA ligaz IV (Motea 2010) 'dır.

NHEJ başlangıcında DSB (DNA Çift Zincir Kırığı)'nın olduğu bölgeye bu proteinlerin mobilizasyonu sağlanır (Drouet 2006). İlk olarak diğer proteinleri bir arada tutan büyük bir yüzük şeklindeki iki birimli Ku70/Ku80 dimeri çift zincir kırıklarını algılayarak bağlanır (Bossing 2002). Ku iştiraki diğer proteinlerin bağlanması için kinetiği arttırır (Couedel 2004). DNA-PKcs, Ku birimlerine bağlanır ve birlikte diğer birimlerin bağlanması için bir iskele oluşturur ayrıca Artemis'in fosforilasyonunu sağlayan ana kinazdır. DNA'ya Artemis'in bağlanmasını kolaylaştırır (Calsou 2003). Artemis endonükleaz fonksiyonu için DNA-PKcs ile kompleks oluşturmalıdır (Dueva 2013).

Kırık uçlarda Artemis gibi uç işleme proteinleri ligasyona engel yapıları işledikten sonra (rezeksiyon) Tdt ve diğer hata eğilimli polimerazlar aracılığıyla zincir lezyonu hata ile şablonsuz tamir edilir ve ligasyondan sonra rekombinant dizi oluşmuş olur. Terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT), pol X ailesinin DNA polimeraz ailesinden nükleer bir enzimdir. İnsanda, TdT aktivitesi, timositlerin ve kemik iliği hücrelerinin olgunlaşmamış fraksiyonunda mevcuttur. TdT, B ve T hücrelerinde immünoglobulin ağır zincir genlerinin birleşimlerinde tek iplikli DNA'ya rastgele nükleotitlerin eklenmesiyle antijen reseptörlerinin varyasyonuna katkıda bulunur (Ghalomi 2017; Benedict 2001). Ligasyon için ise XRCC4 ve DNA Ligaz IV kompleksi gereklidir (Buck 2006). VDJ genleri işlenip rekombine edilirken antijen reseptörünün sabit bölgesi değiştirilmeden, rekombine V-D-J segmentlerine eklenir (Abbas 2014). Tüm bu sürecin proteinleri Şekil 4 'de gösterilmiştir.



Şekil 4. NHEJ proteinleri lezyon bölgesinde birikir ve işbirliği içerisinde çalışır.

#### 2.3.4. Lenfositlerin Timustan Çıkışı

Timusta gelişimini tamamlamış olgun T lenfositleri dolaşıma geçerek periferik lenfoid organlara yönelirler. Neonatal hayat boyunca T hücrelerinin timustan dolaşıma geçişi CCR7 eksikliği ile kısıtlanır (Ueno ve ark. 2004). Olgun T hücrelerinin timustan göçü sphingosine-1-phosphate (S1P) ve S1P reseptör 1 (S1P1) tarafından düzenlenir. S1P endotel hücreleri tarafından üretilir (Venkataraman ve ark. 2008). S1P kanda, dokulardan daha yüksek miktarlarda bulunmaktadır (Schwab ve ark. 2005). S1P1 olgun lenfositlerinde yüksek miktarda bulunup, S1P için bir reseptördür. S1P1'in T lenfositlerindeki miktarı timositlerin olgunlaşmasının son aşamalarında artırılır (Kurobe ve ark 2006). S1P1 eksikliği görülen farelerde hem timus hem de sekonder lenfoid organlarda T hücre retansiyonu görülmektedir. Bu sonuç S1P'in T lenfositlerinin lenfoid organlardan göçünde önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (Matloubian ve ark2004).

Timositlerin timustan göçünü düzenleyen diğer mekanizmalar integrin  $\alpha 5\beta 1$ , CD69'nun baskılanması ve CXCL12'nin uzaklaşmasıdır. Transkripsiyon faktör

KLF2 ve fosfatidilinositol3-kinaz'ın da timositlerin timustan göçünde önemli rolü olduğu bildirilmiştir (Carlson ve ark. 2006; Barbee ve Alberola-Ila 2005).

#### **2.4. T Hücre Alt Grupları : Naif, Efektör, Bellek**

Timustan yeni çıkan olgun T hücreler kan dolaşımı yoluyla dalağa, yüksek endotelial venül (HEV) aracılığıyla lenf düğümlerine taşınır. Antijen ile henüz etkileşime girmemiş bu hücelere naif T hüceleri denir. Naif T hücresi özgül antijeni ile karşılaşmazsa lenfoid dokuyu terk eder ve tekrar kan dolaşımına katılır.

T hüceleri binlerce antijen sunan hücre ile etkileşime girerek, kendi THR'lerine özgü peptid antijene bağlanırlar. Şayet burada kendi antijenlerini bulamazlarsa kan dolaşımına döner ve diğer lenfoid dokulara göç eder (Punt 2019). Lenfoid dokularda antijenle karşılaşmanın ardından efektör hücelere dönüşen T hüceleri, efektör işlevlerinin ardından bellek hücelere dönüşmektedir.

##### **2.4.1. Naif ve Efektör T Lenfositler**

İnsan vücudundaki naif T hücre sayısı ve klonal çeşitliliği, adaptif immün sistemin yabancı patojenleri ve işleyişi bozulmuş hüceleri algılama ve bunlara yanıt verme potansiyelini temsil eder. İnsanlarda, yaşamın ilk on yılında, timustan milyarlarca naif T hücresi üretilir (Mahnke 2013). Bu naif T hüceleri antijenle karşılaştıklarında, klonal genişlemeye başlar ve efektör hücelere dönüşerek enfeksiyon bölgesine göç eder. Efektör hüceleri kısa ömürlü hücelerdir (Shedlock 2003).

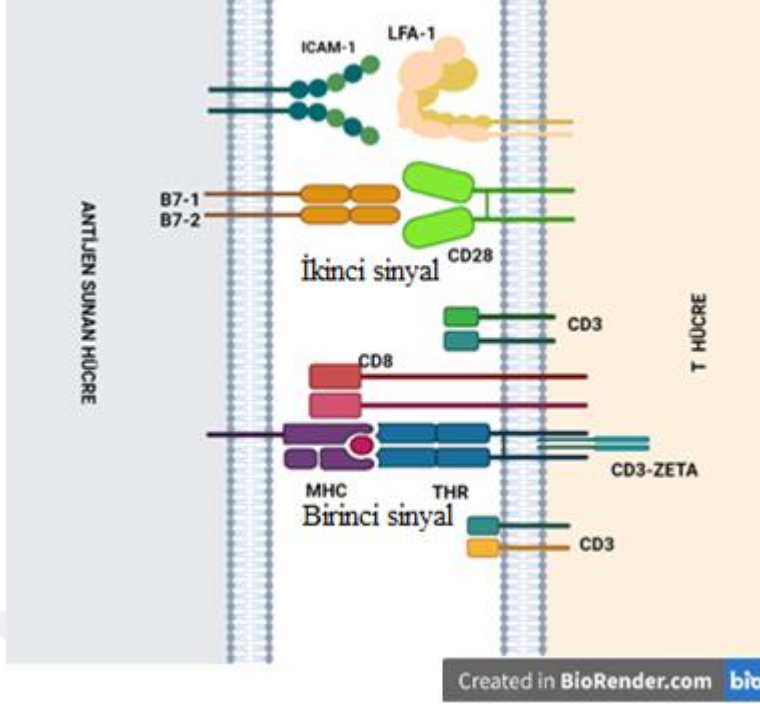
T hüceleri işlevlerine göre; yardımcı T (Th), foliküler yardımcı T (Tfh), sitotoksik T (cytotoxic T: Tc), natural killer T (NKT), gama-delta T (T $\gamma\delta$ ), regülatör T (T<sub>REG</sub>), exhausted/yorgun T hüceleri veya diğer adı ile CD45RA taşıyan efektör T hüceleri (TEMRA) (Akondy 2017) olmak üzere alt gruplara ayrılır. T helper hüceleri de kendi içinde Th0, Th1, Th2, Th9, Th17 ve Th22 olarak gruplara ayrılmaktadır.

Yardımcı T hücre alt grupları, spesifik sitokinlerle naif CD4 + T hüceleriinden farklılaşır. Her bir Th alt kümesi, pro- veya anti-inflamatuar fonksiyonlara sahip farklı sitokinler salgılar. Th hücre alt gruplarının gelişimini uyaran ve bu hüceleriin saldıkları sitokinler Tablo 3 'de özetlenmiştir (Tablo 3; Kumar 2018).

**Tablo 3.** Yardımcı hücreler ve immün mediyatörler

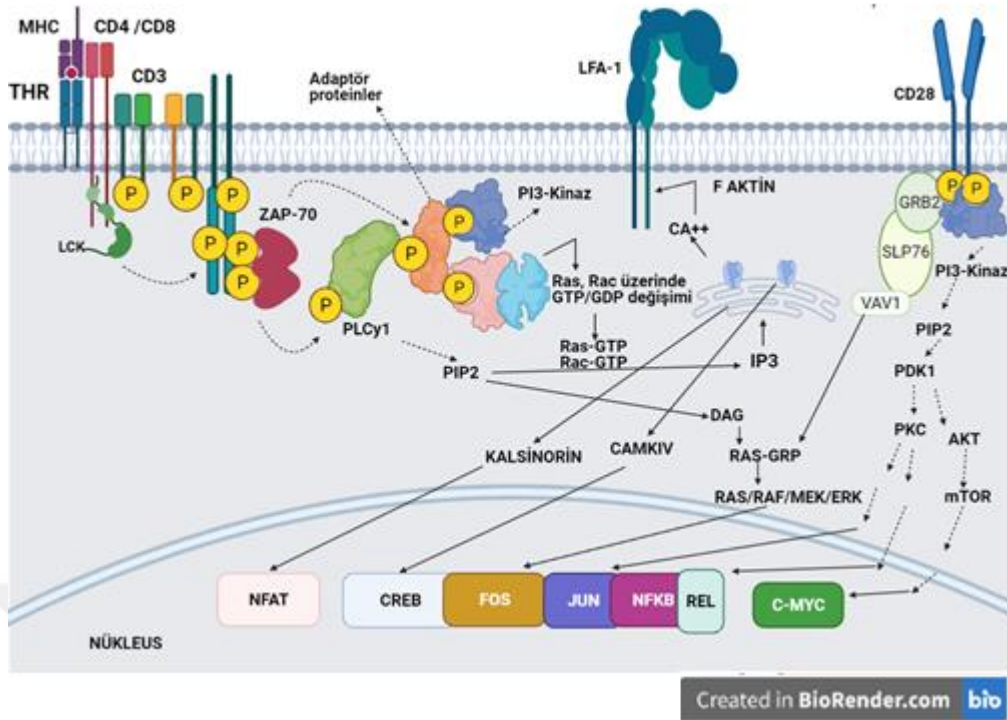
İndükleyici mediyatör	immün	Yardımcı T hücre	T hücrenin ürettiği mediyatör
IL-12, IFN- $\gamma$		Th1	IFN- $\gamma$ , TNF
IL-4		Th2	IL-4, IL-5, IL-13
IL-4, TGF- $\beta$		Th9	IL-9
IL-1, IL-6, IL-23, TGF- $\beta$		Th17	IL-17, IL-21, IL-22, IL-25, IL-26
IL-6, TNF		Th22	IL-22
TGF- $\beta$ , IL-2		Treg	IL-10, TGF- $\beta$
IL-6, IL-21		Tfh	IL-21

Naif T hücrenin efektör hücreye dönüşebilmesi için T hücre üzerindeki kositümülatör moleküllerinin (CD4 veya CD8) ve antijen sunucu hücre (ASH) üzerindeki ligandlarıyla (MHC I veya MHC II) eşleşmesi, antijen uyarımı gerekir (Kared 2020; Attaf 2015). Bu işleme immünolojik sinaps denir. Bu etkileşim ilk sinyali oluşturur. T hücre aktivasyonu ve efektör T hücrelerine dönüşüm için 2. bir sinyale gerek vardır. ASH üzerindeki B7-1/B7-2 (CD80/CD86) ile T hücrelerindeki CD28'in etkileşime girmesi ise ikinci sinyali oluşturur (sinyal 2). Böylece immünolojik sinaps kurulmuş, naif T hücre uyarılarak, çoğalmaya ve farklılaşmaya başlamış olur (Abbas 2014) (Şekil 5 ; Huppa ve Davis 2003).



Şekil 5. İmmün Sinaps (Huppa ve Davis 2003)

Antijen ve kostimülatör ligandlarının etkileşimi ile IL-2 salınımı da tetiklenir ve IL-2 etkisiyle naif hücre çoğalması teşvik edilir. Sonuçta naif T hücre, sitokinleri ya da sitotoksik mediyatörleri üreten T hücre alt grubuna farklılaşır (Hwang 2020). Bu işlemin biyokimyasal doğası karmaşıktır. Zira THR ve eş uyaran reseptörleri, sitokin reseptörlerinin uyarımı bir dizi sinyal kaskadını başlatır ve transkripsiyon faktörünü uyarır. Şekil 6 'da THR ve eş uyaranların uyarımıyla tetiklenen sinyal kaskadının bir kısmı gösterilmiştir (Şekil 6; Hesterberg 2018).



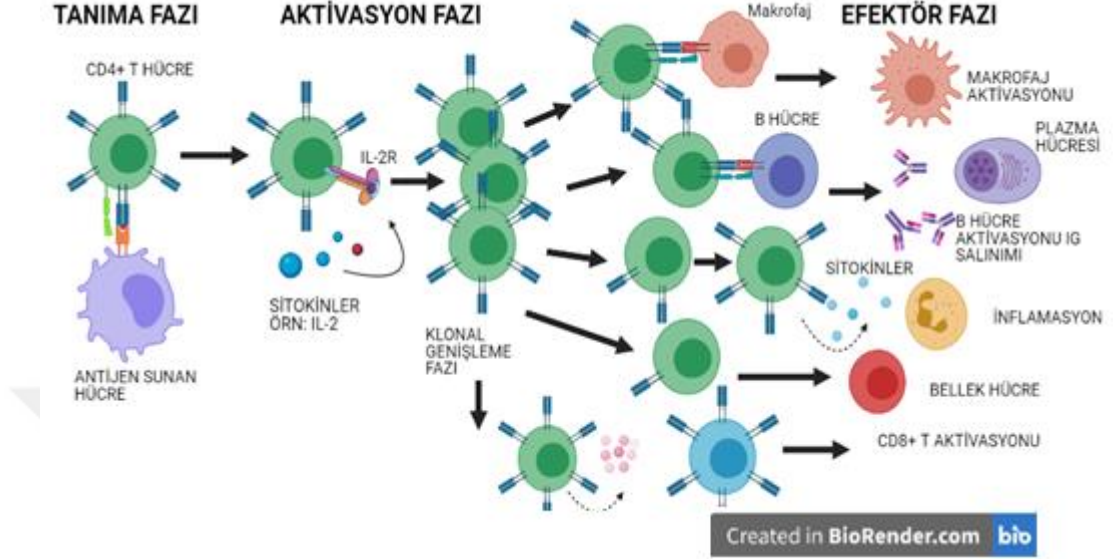
Şekil 6. T Hücre Uyarımıyla tetiklenen sinyal kaskadları (Hesterberg 2018).

İmmün sinaps oluşumunu takiben naif T hücrelerinde tahmini olarak üç saat içinde c-Fos transkripsiyon faktörü ekspresyonu, 2. saatten 2. güne kadar CD69 ve IL-2 reseptör (IL-2Ralfa: CD25), CD40L ekspresyonu ve ardından günler içinde proliferasyon gerçekleşir (Abbas2014).

Üretilen IL-2 otokrin etki göstererek T hücreleri üzerindeki IL-2R'e bağlanır. IL-2 reseptörü naif CD4+ T hücrelerde iki zincir halinde bulunur (beta ve gamma). IL-2R alfa zinciri (CD25) ise aktivasyonu takiben 24 saat içinde T hücre üzerinde eksprese edilmeye başlar ve IL-2R uc zincir halinde eksprese edilmeye başladığı andan itibaren T hücrelerinin IL-2'ye cevabı daha hızlı olur. Bu sayede bir tane naif CD4+T hücresinden çoğalma sonucu 100-1000 CD4+T hücresi oluşur.

CD8+ T hücreleri, CD4+ hücrelere kıyasla çok daha az proliferasyon gösterir ancak CD4+ T hücrelerinden salınan sitokinlerin uyarımıyla sayılarını arttırmaları (Abbas2012). CD4+ T hücreleri salgıladıkları sitokinlerle sadece CD8+T hücrelerinin çoğalmasına yardımcı olmakla kalmaz, makrofajlarla etkileşerek onları aktive eder, enflamasyonu düzenler, B hücre ile etkileşerek B hücrenin plazma hücresine dönüşümünü sağlar ve immünglobülin salınımını teşvik ederler. Efektör

CD4+T hücrelerinin bir kısmı ise bellek hücrelerine dönüşür. Şekil 7'de CD4+ T hücrelerinin diğer hücrelerle etkileşimi gösterilmiştir.



Şekil 7. Yardımcı T hücrenin işlevleri (Abbas 2014)

T hücre alt gruplarından sitotoksik T hücre (CD8+T hücre=Tc), kanser hücrelerini öldüren lenfositlerdir. Enfekte olmuş hücreler (özellikle virüslerle) veya başka şekillerde hasar görmüş hücrelerin öldürülmesinden de sorumludur (Gasper 2015). CD8+ T hücreleri tarafından üretilen IFN- $\gamma$ , MHC sınıf I antijenlerinin tümör hücreleri tarafından ekspresyonunu artırabilir. Böylece onları CD8+T hücreleri için daha iyi hedef haline getirir. IFN- $\gamma$  ayrıca diğer bağışıklık hücrelerinin anti-tümör fonksiyon kazanmasında önemli bir etkinliğe sahiptir. Bu hücreler hedef hücre ile karşılaştıklarında ortama saldıkları perforin ve granzim ile hedef hücreleri öldürürler. Bu nedenle, anti-tümör bağışıklığının CD8+T hücrelerinin aktivitesini modüle ederek geliştirilebileceği varsayılmıştır (Farber 2009).

#### 2.4.2. Bellek T Lenfositler

CD4+ T hücreleri efektor T hücre fonksiyonunun ardından, bellek CD4+ hücrelere dönüştüğü bilinmektedir (Golubovskaya 2016). Ancak CD8+ hücrelerin bellek hücrelere dönüşmeleri için naif CD8+ hücrelerin kök bellek hücrelere farklılaştıkları, ardından merkezi bellek ve efektor bellek hücrelerine dönüştükleri

varsayılmaktadır (Gattinoni 2011; Flynn 2014; Golubovskaya 2016; Ratajczak 2018). Her iki durumda da, bir naif hücrenin kök bellek hücreye ya da efektör hücrenin bellek CD4<sup>+</sup> hücrelere dönüşümü için THR uyarımı ve ASH ile T hücrelerin sinaps oluşturması gereklidir. Etkileşimin ardından başlıca IL-2'nin etkisinde proliferasyon ve farklılaşma gerçekleşir. Uyarımın ardından mevcut efektör hücre popülasyonunun %90-95'i apoptoza giderken, geriye kalan hücreler bellek hücrelere dönüşürler (Zhao 2002; Gasper 2014; Valbon 2016).

Bellek T hücreleri, istilacı bir patojenin temizlenmesinin ardından hem lenfoid hem de periferel bölgelerde oluşur ve işlevlerine göre; kök benzeri bellek T hücreleri (T<sub>SCM</sub>), merkezi bellek T hücreler (T<sub>CM</sub>), CD45RA yüzey belirteci taşıyan efektör bellek (TEMRA) olmak üzere farklı sınıflara ayrılır (Youngblood 2017).

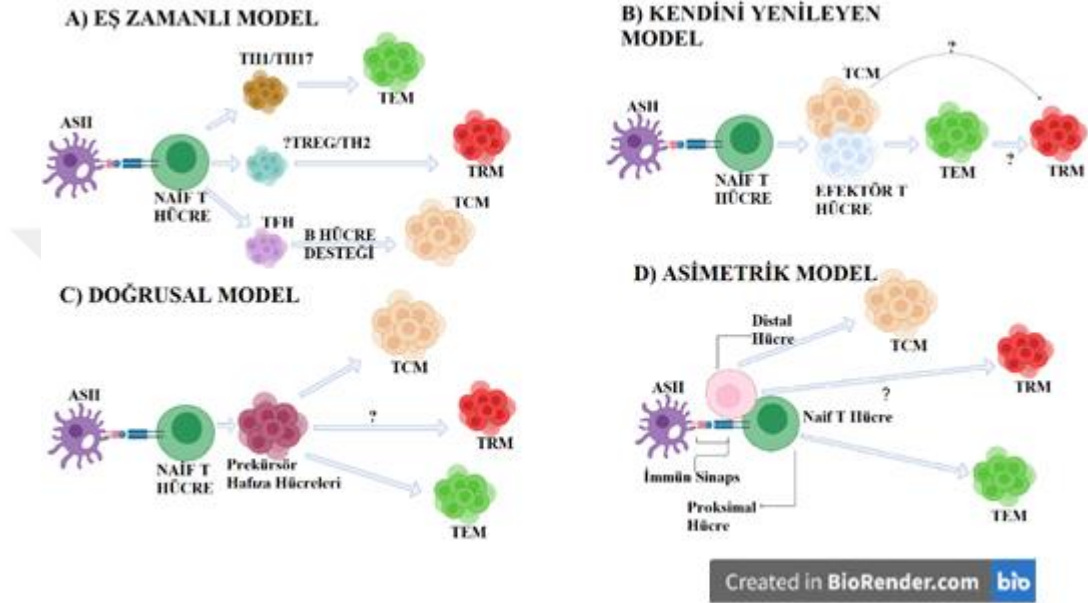
Bellek T hücreleri, yakın zamanda enfekte olmuş dokularda (T<sub>EM</sub>) veya ikincil lenfoid organlarda (T<sub>CM</sub>) bulunabilir. Aynı antijene yeniden maruz kalındığında, pro-enflamatuar sitokinler tarafından doğrudan aktive edilebilirler. Daha sonra bu bellek T hücreleri hızlı bir şekilde çoğalır ve birincil bağışıklık yanıtına göre daha etkili ve daha hızlı bir immün yanıt oluşmasını sağlar (Takamura 2018; Macleod 2010).

Bellek T hücrelerin nasıl oluştuğu hala açık olmayıp 4 farklı görüş hakimdir (Şekil 8) (Ahmed 2009). Doğrusal modelde, naif T hücrelerine antijen sunumunun ardından efektör T hücreleri oluşur. Ardından efektör hücrelerin büyük bir kısmı apoptoza uğrar. Kalan %5'lik kısma bellek hücre öncülleri adı verilir. Bellek hücre öncülleri, olgun efektör hafıza T hücrelerine (T<sub>EM</sub>) ve merkezi hafıza T hücrelerine (T<sub>CM</sub>) dönüşür. Bu öncül bellek hücrelerin doku yerleşik bellek hücrellere dönüşüp dönüşmediği belirli değildir.

Asimetrik modelde, immün sinapsa yakın hücreler T<sub>EM</sub>'e dönüşürken, uzak hücreler T<sub>CM</sub>'ye dönüşür. Fakat bu model de doku yerleşik bellek hücrelerin (T<sub>RM</sub>) nasıl oluştuğunu açıklamamaktadır.

Kendi kendini yenileme modelinde, kendi kendini yenileyen efektör T hücreleri veya T<sub>CM</sub>; naif T hücrelerinden üretilir. Bu model efektör bellek ve doku yerleşik bellek hücrelerin merkezi bellek hücrelerden oluştuğunu varsayar. T<sub>RM</sub>'nin T<sub>CM</sub>/efektör hücrelerden mi yoksa T<sub>EM</sub>'den mi üretildiği çözülememiştir.

Eşzamanlı modelde naif T hücreleri önce farklı T hücresi alt kümelerine farklılaşır. T hücresi alt kümeleri, aşağıdaki gibi farklı bellek alt kümelerine yol açar: Th1 ve Th17 hücreleri  $T_{EM}$ 'i oluştururken TFH hücreleri  $T_{CM}$ 'yi oluşturur.  $T_{RM}$  oluşturan T yardımcı hücre alt kümeleri henüz tanımlanmamıştır. Şekil 8'de oluşum hipotezleri özetlenmiştir (Şekil 8; Raphael 2020).



Şekil 8. Bellek T hücre oluşum hipotezleri

## 2.5. Bellek T Hücre Grupları

### 2.5.1. Merkezi Bellek Ve Efektör Bellek Hücreler

Merkezi bellek T hücreleri ( $T_{CM}$ ), ikincil lenfoid organlarda, esas olarak lenf düğümlerinde, bademciklerde ve periferik dolaşımda bulunurlar. CCR7, CD62L, CD27, CD28, CD45RO, CD95, CD122, LFA- 1, CD11a/CD18 (Busch 2016; Gattinoni 2011) ve CD44 (Rosenbulum 2016) molekülleri taşırlar. CD62L (L-selektin), CCR7 hücrelerin lenf düğümleri ve mukozal lenfoid organlara göçünü sağlar (Valbon 2016). Merkezi bellek hücreleri yüksek oranda IL-2 ile birlikte IFN- $\gamma$  ve TNF salar (Rosenbulum 2016).

Efektör bellek T hücreleri ( $T_{EM}$ ), antijenle karşılaşma oranı en yüksek olan akciğerler, karaciğer ve bağırsaklar dahil olmak üzere başlıca lenfoid olmayan periferik dokularda bulunur. Kan ve dokular arasında hareket edebilirler (Sallusto

2004; Ratajczak 2018). Bu hücreler CD45RO, CD95, CD122, öldürücü hücre benzeri lektin reseptör G1 proteini (KLRG1), L-selektin (CD62L) ve CCR7 reseptörünü eksprese etmezler (Busch 2016). Yüksek seviyelerde IFN- $\gamma$  ve TNF düşük seviyede IL-2(Rosenbulum 2016), IL-4, IL-5 salgırlar. Granzim B ve perforin de salarlar ve bu da sitotoksik özellikleri olduğunu düşündürmektedir (Ratajczak 2018). Efektör fonksiyonları IFN- $\gamma$  ile güçlendiği için kronik bakteriyel, viral ve parazitik enfeksiyonlarda önemli rol oynadıkları düşünölmektedir (Akondy 2017). Aynı zamanda T<sub>EM</sub> hücreleri TEMRA ile birlikte CXCR3 gibi yüzey moleküllerinin artışıyla iltihaplı dokulara ulaşabilmektedir (Willinger 2005). Antijenle tekrar uyarımın ardından T<sub>CM</sub>, T<sub>EM</sub>'e dönüşmektedir (Geginat 2001).

### **2.5.2. TEMRA Hücreleri**

CD45RA genellikle naif T hücrelerinde eksprese edilen bir proteindir. Bununla birlikte, efektör bellek T hücrelerinin bir alt grubu, bilinmeyen moleküler özellikler ve işlevlerle antijenik uyarılmadan sonra CD45RA'yı (TEMRA) yeniden ifade eder. CD4+ TEMRA hücrelerinin, dang virüsü (DENV) (Al-Shura ve ark. 2020; Tsukumo ve ark. 2018) ve CMV (Gerlach 2013) gibi patojenlere karşı koruyucu bağışıklıkta rol oynadığı bilinmektedir. CD4 TEMRA hücrelerinin sıklığı, toplam CD4 T hücrelerinin <% 0,3'ü ile %18'i arasında değişir. Bu hücrelerinin frekansının bireyler arasında heterojen olduğuna dair kanıtlar vardır (Youngblood 2017). Bununla birlikte CD8+ TEMRA hücrelerinin kişiden kişiye sayılarında farklılık gözlenmez. Bu hücreler, CD27 ve CD28'i düşük miktarlarda eksprese eder. Perforin, granzim B ve CD57'yi yüksek oranda eksprese ederler (Kared 2020). CD8+ hücreler genellikle T<sub>EM</sub> ya da TEMRA fenotipindedir (Gerlach 2013). Bu hücrelerin işlevsel rolü net değildir.

### **2.5.3. Doku Yerleşik Bellek Hücreler**

Reziduel hafıza T hücreleri (T<sub>RM</sub>= doku yerleşik hafıza hücreleri), dolaşıma katılmaksızın belirli bir dokuda yerleşik bulunurlar. Bu nedenle, özellikle sindirim sistemi, üreme sistemi, akciğerler, cilt ve beyindeki patojenlere karşı ilk savunma hattıdırlar. Tepkileri, diğer göç edebilen hafıza hücrelerinden daha hızlı ve daha etkilidir (Gebhardt 2013). T<sub>RM</sub> hücreleri, CD69 ve CD103 gibi yüzey belirteçlerine

sahiptir. Endotellerde bulunan E-kaderin için ligand taşırlar (Gattinoni 2011). Bu yüzden hücreler arası bağlara ve yapışma yapılarına özgü CD49a ve  $\alpha E\beta 7$  integrin içerirler (Flynn 2014). CCR7 ve S1P1 reseptörleri, mevcut dokularda çoğalmalarını ve bu bölgelere bağlı kalmalarını sağlar (Hosokawa 2018). Dolaşıma katılma yetenekleri yok denecek kadar azdır ve CD44'u yüksek, CD62L ise düşük oranda eksprese ederler (Cyster 2012). Bu hücreler hafıza T lenfositleri ve hafıza NK hücreleri ile birçok özelliği paylaşır (Akondy 2017).  $T_{RM}$  popülasyonlarının temel bir özelliği, bariyer dokularında uzun süre kalabilme yetenekleridir.

#### **2.5.4. Kök Hücre Benzeri Bellek T Hücreler**

$T_{SCM}$  hücreleri, kök hücreler gibi kendisini yenileme potansiyeline sahip hücrelerdir.  $T_{SCM}$  az miktarlarda bulunur ve fenotipleri, naif T hücrelerine benzer (Clenet 2017). CD45RA, CCR7, CD27, CD62L, CD95, CD122, SCA1, BCL-2, IL-2R $\beta$  reseptörü, CCR3 ve CCR4'u yüzeylerinde taşırlar. IL-7 ve IL-15,  $T_{SCM}$  hücrelerinin genişlemesini ve sınırsız üretimini kolaylaştıran faktörlerdir (Akondy 2017).  $T_{CM}$  ve  $T_{EM}$  hücreleri gibi  $T_{SCM}$  lenfositleri, viral antijenlerle stimülasyonu takiben hızlı yanıt verme yeteneğine sahiptir (Daniels 2015).

#### **2.6. Bellek T Hücre Gelişimini Etkileyen Faktörler**

Son çalışmalar THR aviditesi ve THR repertuarı gibi parametrelerin uzun yıllar boyunca hayatta kalan hafıza hücrelerinin gelişimini anlamada T hücre yanıtlarını incelemek kadar önemli olduğunu ortaya koymuştur (Baumgartner 2012). THR sinyal gücü, MHC/THR etkileşim süresi, naif öncüllerinin (prekürsör) frekansı ve transkripsiyon faktörleri bellek hücre gelişiminde etkili olan faktörlerdir.

CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin yüksek afiniteli klonlarının antijenlere daha kolay bağlanabildiği bilinir. Bu nedenle, antijen için yüksek afiniteli klonların bellek hücrelere daha yüksek oranda dönüşmesi beklenir (Jenkins 2012). Buna karşılık, MHC-Antijen için düşük afiniteli THR'ler, daha kısa ömre sahip T hücresi hafızasına neden olur (Wang 2014). MHC ve antijen için THR afinitesi, bellek T hücrelerinin oluşumunu etkilemekle kalmaz, aynı zamanda farklı bellek T hücresi alt gruplarına dönüşüm ve yaşam sürelerini de etkileyebilir. Yaşam süresinin CD70 sinyali ve IL-2 bağımlı olduğu bildirilmiştir (Xiong 2007). Ayrıca zayıf THR uyarımının  $T_{EM}$ 'e,

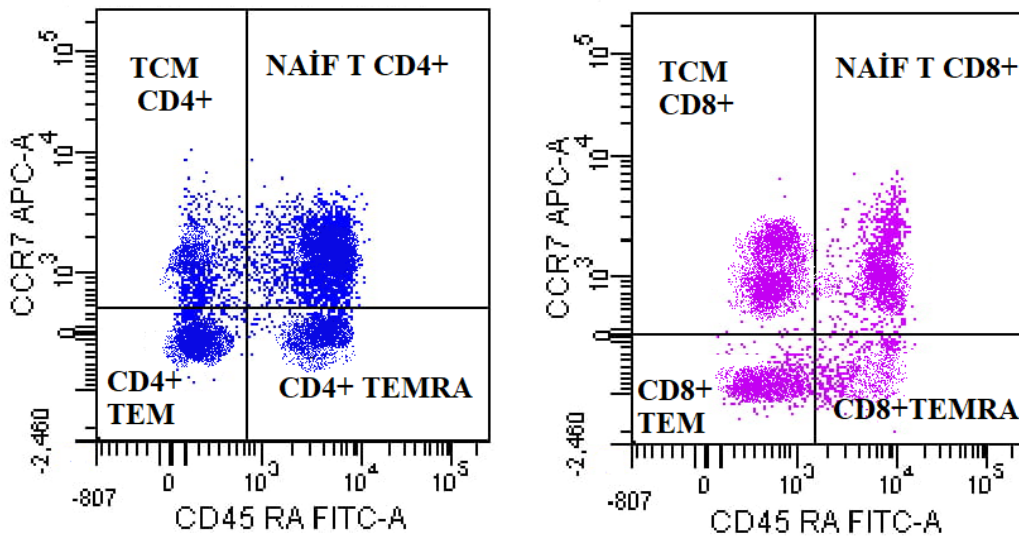
daha güçlü uyarımın  $T_{CM}$  yönüne farklılaşmaya yol açabileceği gösterilmiştir (Wang 2004).

Bellek T hücresi oluşumu sadece THR afinitesine / antijen erişilebilirliğine değil, naif öncüllerinin (prekürsör) frekansına da bağlı olduğu düşünülmektedir (Ma 2002; Wang 1999). Ancak prekürsör etkisinden ziyade antijen miktarının daha önemli olduğunu göstermektedir. Antijen fazlalığı ise özellikle  $T_{CM}$  yönünde dönüşümü teşvik eder.

T-bet, Bcl-6, STAT5 gibi transkripsiyon faktörleri IL-2, IL-15, IFN- $\gamma$  gibi sitokinler aracılığıyla aktive olur ve aktivasyon sonucu farklı bellek T hücre alt grupları aktive olur (Brincks 2013).

## 2.7. T Hücre Alt Gruplarının Analizi

T hücreleri, özel işlevlere sahip farklı alt kümeler halinde bulunan heterojen alt kümelerden oluşur ve bu alt kümeleri tanımlamak için çok sayıda özel yüzey molekülü kullanılmaktadır. İki yüzey molekülünün, CD45RA ve CCR7 ifadesine dayanarak insan T hücreleri: CD45RA + CCR7 + naif ( $T_{NAIF}$ ), CD45RA - CCR7 + merkezi bellek ( $T_{CM}$ ), CD45RA - CCR7- efektör bellek ( $T_{EM}$ ) ve CD45RA + CCR7- efektör belleği yeniden ifade eden CD45RA ( $TEMRA$ ) T hücrelerini akım sitometrik yöntemiyle tanımlamak mümkündür (Şekil 9) (Sallusto 2004; Sallusto 1999).



Şekil 9. CD45RA/CCR7 grafiğinde hücrelerin dağılımı

Bir diğ er akım sitometrik ayırım metodu sitokin analizi olup Tablo 4’de T hücre alt gruplarının hangi belirteç ve sitokinler ile ayır tedilebileceğ i gösterilmiştir (Tablo 4; Golubovskaya ve Wu 2016; Brenchley 2002; Meraviglia 2019; Larbi 2013). Günümüzde L-selektin, CD25 ya da CD44 molekülleriyle birlikte T hücre altgruplarını detaylı olarak birbirinden ayırmak mümkündür (Willinger 2005).

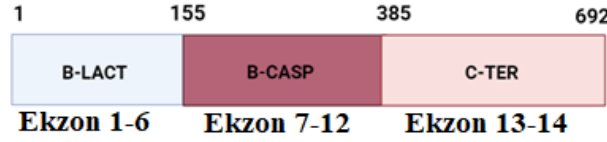
**Tablo 4.** T hücre altgruplarında belirteç ve sitokin profili

T Hücre Alt Grupları	Belirteçler						Sitokin Profili
	CD25	CD44	CD45RA	CD45RO	CD197	CD127	
<b>Naif T</b>	-	-	+	-	+	+	IL-2 ve IL-7
<b>Merkezi Bellek T</b>	+	+	-	+	+	+	IL-2, IFN- $\gamma$ ve TNF
<b>Efektör T</b>	+	+	+/-	+/-	-	-	
<b>Efektör Bellek T</b>	-	+	-	+	-	+	Düşük IL-2, yüksek seviyelerde IFN- $\gamma$ ve TNF
<b>TEMRA</b>			+	-	-	-	

## 2.8. Artemis Eksikliğ i

ARTEMIS, 692 amino asit uzunluğ unda, 3 domainden oluş an bir proteindir. N terminal bölgesinde katalitik aktiviteden sorumlu 2 domain ve bunlara bağı lı bir C-terminal domaini içerir. (Ş ekil 10; Takashi 2014). Bu domainler: Metallo- $\beta$ -laktamaz homoloji alanı (aa 1-155) (Ekzon 1-6) ; yüksek oranda korunmuş katalitik alanı oluşturan  $\beta$ -CASP alanı (aa 156–385) (Ekzon 7-12) (Callebaut 2002; Poinignon 2004) metallo- $\beta$ -laktamaz ile ilişkili CPSF ve C-terminal bölgesi (aa 386–692) (Ekzon 13-14) (Pannicke 2004). Artemis eksikliğ i olan hastaların çoğ unda katalitik alanda büyük delesyonlar ve yanlış anlamlı veya anlamsız mutasyonlar

tanımlanmıştır (Pannicke 2010). Bu bölgede meydana gelen mutasyonların neredeyse tümü endonükleaz aktivitesini tamamen bozmaktadır (Mandel 2006). Metallo- $\beta$ -laktamaz alanı, substrat bağlama cebini oluşturur ve substrat seçiciliğini sağlamaktadır. Bu bölgede enzim kofaktörü olarak görev yapan iki Çinko iyonu bulunur (Karim 2020).



**Şekil 10.** Artemis'in domainleri (Takashi 2014).

Artemisin C terminal bölgesi (exon 13-14) DNA-PKcs ile bağlanma bölgesidir. PK-cs protein aktivasyonunu başlatarak, üç boyutlu yapısında değişikliğe neden olmakta ve DNA çift zincir kırıklarının tamirini başlatmaktadır ancak buna ek olarak C- terminalin oto-inhibisyon'da görevli olduğu çalışılmıştır (448-462 aminoasit kalıntısının katalitik domain ile etkileşime geçtiği çalışılmıştır) (Lieber 2010). C terminal bölgesinde aynı zamanda ATM (ataksia telanjiektazi mutasyonlu protein) ve ATR (Ataksia telanjiektazi ve Rad3 ilişkili) proteinlerinin fosforillenme alanlarının bir çoğunu da içermektedir (Zhang 2004). Bununla birlikte, ARTEMIS'in C-terminal kuyruğundaki DNA-PKcs fosforilasyon bölgelerinin mutasyonunun in vivo V(D)J rekombinasyonu ve DNA onarım özellikleri üzerinde hiçbir etkisi olmadığı, yalnızca ekzonükleaz aktivitesi olan Artemis'in endonükleaz aktivitesi kazanmasını sağladığı çalışılmıştır (Goodarzi 2006).

Artemis proteinin geni olan DCLRE1C geninde mutasyonlar genellikle yaşamın ilk yılında ortaya çıkan, tekrarlayan enfeksiyonlar ve lenfopeni ile karakterize ağır kombine immün yetmezlik tablosuna neden olur. Bu hastalar tanı konulmadığı ve kök hücre nakli yapılmadığı takdirde genellikle hayatlarının ilk bir yılında enfeksiyonlarla kaybedilir.

Artemis eksikliği T-B-NK+ AKİY'ler içinde yer almaktadır. Hastalarda hem T hem de B hücre sayı ve fonksiyonlarında bozukluk görülmektedir. Artemis DNA tamirinde de rol alan bir protein olduğu için bu proteinin geni olan DCLRE1C geninde oluşan mutasyonlar sonucu hastalarda maligniteye artmış bir yatkınlık da söz konusudur (Villartay 2015; Motea 2010).

DCLRE1C geninde, meydana gelen mutasyonlar Artemis proteininin ekspresyonunu ve fonksiyonunu azaltabilir ya da tamamen ortadan kaldırabilir. Son çalışmalar, Artemis proteininin yokluğunda, V(D)J rekombinasyonunun NHEJ yerine mikrohomojoloji yönlendirmeli uç birleştirme (MMEJ) olarak isimlendirilen başka bir tamir yolağına yönlenebileceğini göstermiştir (Truong 2013; Mcvey 2008). Ayrıca Tn10 transpozanları (Kenndy 1998) ya da Mg<sup>++</sup> yokluğunda Mre11/Rad50/NBS1 (MRN) kompleksinin (Lobachev 2002) de Artemis gibi hairpin yapılarını kestiği bilinmektedir. Ancak bu alternatif seçeneklerin hiçbiri Artemis kadar etkin ve Artemis'in bir bileşeni olduğu NHEJ kadar hızlı değildir.

V(D)J rekombinasyonu ile T hücre ve B hücre reseptörlerinin çeşitliliği artırılmakta ve immün sistemin pek çok çeşit antijeni tanıyabilmesine olanak sağlanmaktadır (immün repertuar). Artemis eksikliği olan hastalarda V(D)J rekombinasyonunun kısıtlandığı (Nicolas 1998), birleştirilmiş gen segmentlerinin birleşim noktalarında büyük oranda delesyonların olmadığı, bunun yerine palindromik tekrarlar içerdiği gözlemlenmiştir (Rooney 2002) (poliklonal hücreler). Bu durum ise hastalarda immün repertuar çeşitliliğinde kısıtlanmaya neden olmaktadır.

Artemis (DCLRE1C) genindeki mutasyonlar, T-B-NK<sup>+</sup> fenotipi ile sonuçlanan, otozomal resesif radyosensitif AKİY tablosuna neden olur. Bu hastalarda T ve B hücre sayıları önemli ölçüde azalmıştır ancak NK hücre sayıları normaldir (Schuetz 2014). Bununla birlikte DCLRE1C'de oluşan bazı hipomorfik mutasyonlar, bir miktar protein ekspresyona ve fonksiyonuna izin verir, Bu durumda oluşan klinik bulgular ağır kombine immün yetmezlikli hastalara göre daha hafif seyirli ve enfeksiyonların başlangıç yaşı daha geçtir. Bu klinik tabloya atipik ağır kombine immün yetmezlik denilmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

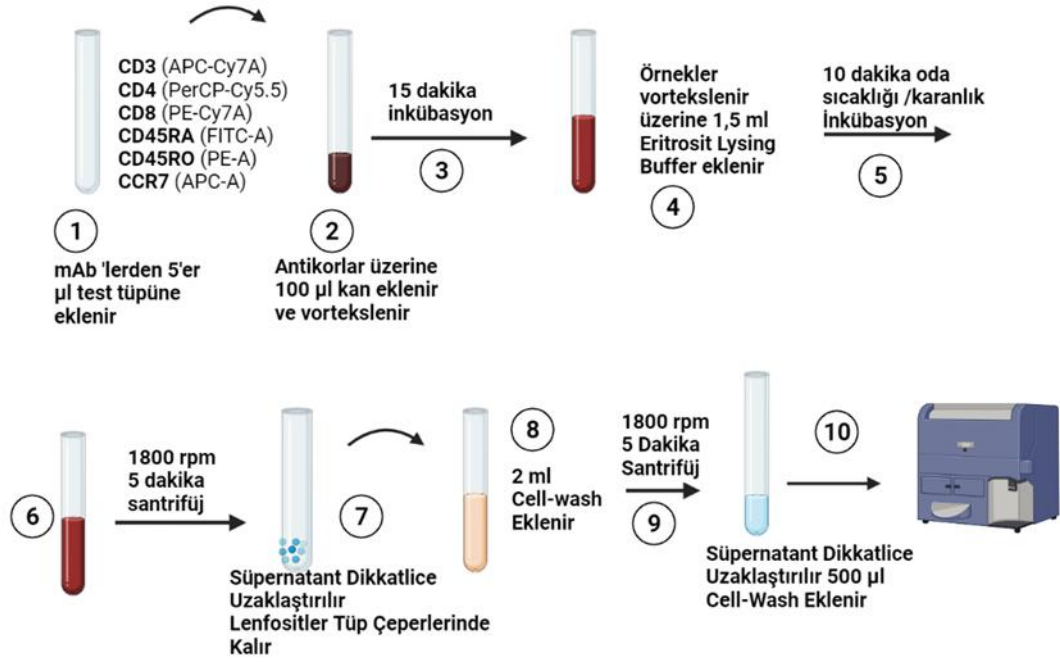
Bu çalışmada Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Allerji ve İmmünoloji Polikliniğinde takipli olan ve Artemis eksikliği saptanan ve nakil planlanan 5 olgunun nakil öncesi ve nakilden 1 yıl sonraki T hücre alt gruplarının akım sitometrik değerlendirilmesi yapılmıştır. Hastalarda gerek CD4+ gerekse CD8+ T hücre alt gruplarından T<sub>NAİF</sub>, T<sub>EM</sub>, T<sub>CM</sub> ve TEMRA oranlarına bakıldı. T hücre alt gruplarının dağılımının sağlıklı bireylerle karşılaştırılması için eş zamanlı pediatri polikliniklerine herhangi bir sebeple başvuran, kan alınması gereken ve immün yetmezlik düşündürecek bulguları olmayan yaş uyumlu 12 sağlıklı kontrollerden de kan alınmıştır. Bu kontrollerde immün yetmezlik olmadığı akım sitometrik analizlerle de doğrulanmıştır. Çalışma için Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurulu'ndan onay alınmış(Karar No: 2020/2778), Etik Kurul Kararı Ek-1'de verilmiştir. Hastalar ve sağlıklı kontrollere kan alınmadan önce "Gönüllü Bilgilendirme Formu" okutuldu ve onayı olan hastalar ve kontroller çalışmaya alındı. Gönüllü Bilgilendirme Formu ise Ek-2'dedir.

Hastaların dosya ve bilgisayar kayıtları incelenerek; demografik verileri, klinik ve laboratuvar bulguları kaydedildi. T hücre alt gruplarının dağılımını değiştirebilecek immunsupresan tedavi alan hastalar çalışmadan çıkarıldı.

#### 3.1. Çalışmanın Yöntemi

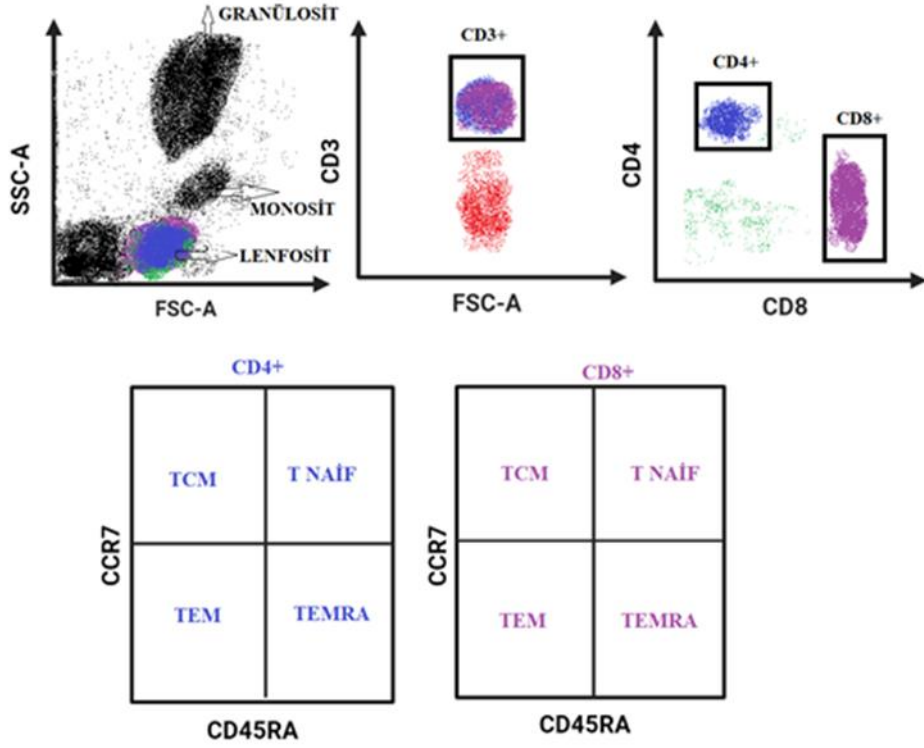
Testler Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Hastalardan ve o sırada başka bir sebeple kan alınacak olan yaş uyumlu sağlıklı bireylerden 2 ml EDTA'li tüpe kan alındı. Tam kandan yüzey boyama yapıldı. Bunun için 100 µl kanın üzerine 8'er µl CD3 (APC-Cy7-A), CD4 (PerCP-Cy5.5), CD8 (PE-Cy7-A), CD45RA (FITC-A), CD45RO (PE-A) ve CCR7 (APC-A) monoklonal antikorları eklendi ve vortekslendi. On beş dakika karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon ardından vorteklenerek eritrositleri ortamdan uzaklaştırmak adına hücrelerin üzerine eritrosit lysing buffer eklendi ve vortekslendi. On dakika karanlık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon ardından örnekler vortekslendi ve 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Pelet alınıp cell wash buffer ile yıkandı ve 500µl kadar cell wash buffer eklenerek T hücre alt grup analizi için BD FACS Canto II akım sitometri

cihazında analiz edildi. Elde edilen sonuçlar sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldı. Artemis eksikliği olan 5 hastada nakilden 1 yıl sonra aynı işlemler tekrarlandı. Tüm alt grup verileri kemik iliği naklinden önce ve nakilden 1 yıl sonra olarak değerlendirildi. Çalışmanın yöntemi Şekil 11’de şematize edilmiştir.



Şekil 11. Yüzey Boyama Süreci

Son aşamada uygulanan akımsitometrik analiz için; yardımcı (CD4+) ve sitotoksik (CD8+) T hücrelerinde  $T_{NAIF}$ ,  $T_{EM}$ ,  $T_{CM}$  ve  $TEMRA$  oranlarını belirlemek adına Şekil 12’de belirtilen kapılama yöntemi kullanıldı.



Şekil 12. Çalışmada izlenen kapılama yöntemi

### 3.2. İstatiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde ortanca (medyan), (minimum-maksimum) kullanıldı. Hasta verilerinin kontrol grubu ile karşılaştırmasında Mann Whitney U testi, tedavi öncesi-sonrası karşılaştırmasında Wilcoxon işaretli sıra testi kullanıldı.  $P < 0,05$  ise istatistiki olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS 16software kullanılarak yapıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri

Çalışmaya Artemis eksikliği tanısı alan, yaş ortalaması (13,6±2,5) olan 5 hasta ile yaş ortalaması (12,66±13,06) olan 12 kontrol dahil edildi. Hastaların 2 tanesi kız, 3'ü erkek; kontrollerin ise 5'i kız, 7'si erkekti. Hasta ve kontroller demografik veriler açısından kıyaslandığında aralarında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunmadı. Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların ebeveynleri kuzen evliliği yapmıştı. Volk ve arkadaşları ile yaptığımız çalışma sonucu üç hastamızda ekzon 3'te missense 2 hastamızda ise ekzon 3 ve 14'de bileşik heterozigot mutasyon saptanmıştı (Tablo 5) (Volk ve ark. 2015).

**Tablo 5.**Hastalarımızda saptanan DCLRE1C mutasyonları

Hastalar	Mutasyon	Mutasyon Tipi	Protein Gelişimi
H1	c.194 C>T P.t651	missense	Düşük protein üretimi
H2	c.194 C>T P.t651	missense	Düşük protein üretimi
H3	c.194 C>T P.t651	missense	Düşük protein üretimi
H4	c.1669_1670insA p.T557Nfs*21 c.194 C>T P.t651	çerçeve kayması mutasyonu	12 kDa daha az üretilmiş protein + Sağlıklı alellerden üretilmiş sağlıklı protein
H5	c.1669_1670insA p.T557Nfs*21 c.194 C>T P.t651	çerçeve kayması mutasyonu	12 kDa daha az üretilmiş protein + Sağlıklı alellerden üretilmiş sağlıklı protein

### 4.2.Klinik ve Laboratuvar Bulguları

Çalışmaya dahil edilen 5 hastanın klinik ve laboratuvar bulguları Tablo 6'da özetlenmiştir.

**Tablo 6.** Hastaların klinik ve laboratuvar bulguları

Hasta	Yakınma	Laboratuvar Bulguları	Klinik Bulgular	Tedavi
H1	Solunum yolu enfeksiyonları	T ve B hücre düşüklüğü, IgG, IgM ve IgA düşüklüğü, düşük izohemaglutinin titresi, Hepatit B aşılmasına yanıtızsızlık	ASYE, ÜSYE, ishal, astım, hipogamaglobüsemi, allerjik rinit	IVIG, anti biyotik profilaksisi, inhaler steroid
H2	Solunum yolu enfeksiyonları	T ve B hücre düşüklüğü, IgG, IgM ve IgA düşüklüğü, düşük izohemaglutinin titresi, Hepatit B aşılmasına yanıtızsızlık	ASYE, ÜSYE, pnömoni, aftöz stomolit, astım, diare	IVIG, anti biyotik profilaksisi, inhaler steroid
H3	Siğiller, öksürük	T ve B hücre düşüklüğü, IgG, IgM ve IgA düşüklüğü, düşük izohemaglutinin titresi, Hepatit B aşılmasına yanıtızsızlık	Siğiller, granülatöz cilt lezyonları, tüberküloz	IVIG, kortikosteroid, anti tüberküloz
H4	Solunum yolu enfeksiyonları,	Düşük IgA, IgG, Hepatit B aşılmasına yanıtızsızlık	ASYE, ÜSYE, granülatöz cilt lezyonları, vitiligo, gelişme geriliği, bronşit	IVIG
H5	Solunum yolu enfeksiyonları, ishal, karın ağrısı	Düşük IgA, Hepatit B ve <i>Varicella zoster</i> - IgG antikor oluşturmama	ASYE, ÜSYE, gastroenteritis, vitiligo, gelişme geriliği, otoimmün hemolitik anemi	IVIG, anti biyotik profilaksisi, inhaler kortikosteroid

Hastalarda nakil öncesi lenfosit absolü değerleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak düşüktü ( $P=0,05$ ). Nakil sonrası değerler kontrollere karşılaştırıldığında aralarındaki istatistiksel farklılık kaybolmuştur ( $P>0,05$ ) (Tablo 7).

Lenfosit alt grupları değerlendirildiğinde, total T (CD3+) lenfosit absolü değeri nakil öncesi kontrol grubundan belirgin olarak düşüktü ( $P=0,006$ ). Hastalarda CD3+T hücreleri nakil öncesi ve nakil sonrası karşılaştırıldığında ise beklendiği gibi nakil sonrası mikrolitre başına düşen hücre sayısının (mutlak, absolü) belirgin şekilde yükseldiği görülmüştür ( $P>0,05$  ;  $P=0,08$ ). Hastaların nakil sonrası CD3+T

hücre yüzdeleri sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık bulunamamıştır.

Hastalarda nakil öncesi CD4+ T hücre oranı kontrollerle kıyaslandığında belirgin düşüktü (P=0,04). NK hücre (CD3-CD16+56+) oranı, nakil sonrası değerler kontrollerden (P=0,011) ve nakil öncesi değerlerden (P=0,043) anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

CD19+B hücre sayısı, bakımından hastalar değerlendirildiğinde, hem nakil öncesi (P=0,006) hem nakil sonrası (P=0,035) değerler sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

**Tablo 7.** Periferik lenfosit alt grup analizi istatistik analiz bulguları

Değerler (Hücre/ $\mu$ l)	NÖ Ortanca $\pm$ SD	NS Ortanca $\pm$ SD	K Ortanca $\pm$ SD	P1	P2	P3
<b>Lenfosit Sayısı</b>	1240 $\pm$ 653,71	2060 $\pm$ 1303,7	2420 $\pm$ 1443,6	<b>0,05</b>	A	A
<b>CD3+</b>	58,59 $\pm$ 34,47	189,52 $\pm$ 72,47	187,80 $\pm$ 90,31	<b>0,006</b>	A	A
<b>CD3+CD4+</b>	17,36 $\pm$ 18,29	49,44 $\pm$ 55,83	107,77 $\pm$ 54,45	<b>0,04</b>	A	A
<b>CD3+CD8+</b>	60 $\pm$ 88,59	135,96 $\pm$ 68,78	65,85 $\pm$ 40,93	A	A	A
<b>CD19+</b>	2,4 $\pm$ 6,51	2,06 $\pm$ 26,82	33,23 $\pm$ 58,21	<b>0,006</b>	<b>0,035</b>	A
<b>CD16+CD56</b> +	30,4 $\pm$ 54,6	2,14 $\pm$ 4,56	14,29 $\pm$ 20,31	A	<b>0,011</b>	<b>0,043</b>

**P1:** Nakil Öncesi ve Kontrol ; **P2:** Nakil Sonrası ve Kontrol ; **P3:** Nakil öncesi ve Nakil Sonrası ; **A:** Anlamsız (P>0,05); **SD:** Standart Sapma

Tüm hastalarda selektif IgA eksikliği saptanmış, H1, H2,H3'te IgM ve H1 ve H3'te IgG eksikliği olduğu gözlemlenmiştir. Kemik iliği nakli ve intravenöz immünglobülin tedavisinin ardından antikor değerlerinin yükseldiği, normal seviye ve normalin üzerine çıktığı ölçülmüştür (Tablo 8).

**Tablo 8.** Kök hücre nakli öncesi ve sonrası ölçülen serum IgA, IgG, IgM değerleri

Olgu	KHN Öncesi Değerleri			KHN Sonrası Değerleri		
	(mg/dl)			(mg/dl)		
H1	<b>IgA:</b> 2,5↓(26-2960)	<b>IgG:</b> 13,5↓(60,4-194)	<b>IgM:</b> 3,5↓(83-282)	<b>IgA:</b> 91,4(70-123)	<b>IgG:</b> 84,5(30,4-123,1)	<b>IgM:</b> 35,4(32-203)
H2	<b>IgA:</b> 24↓(70-123)	<b>IgG:</b> 104(30,4-123,1)	<b>IgM:</b> 20,9↓(32-203)	<b>IgA:</b> 26,3(17-69)	<b>IgG:</b> 134(46,3-100,6)	<b>IgM:</b> 18,8(6,6-22,8)
H3	<b>IgA:</b> 0,667↓(13-72)	<b>IgG:</b> 24↓(29,4-116,5)	<b>IgM:</b> 3,5↓(7,1-33,5)	<b>IgA:</b> 26,3(17-69)	<b>IgG:</b> 695 (46,3-100,6)	<b>IgM:</b> 5,59↓(6,6-22,8)
H4	<b>IgA:</b> 6,43↓(7-12,3)	<b>IgG:</b> 48,9 (30,4-123,1)	<b>IgM:</b> 1,32(3,2-20,3)	<b>IgA:</b> 8↓ (9,6-46,5)	<b>IgG:</b> 71,4 ↓ (90,7-195,8)	<b>IgM:</b> 20 (8,3-28,2)
H5	<b>IgA:</b> 6,67↓(7-12,3)	<b>IgG:</b> 10,5(30,4-123,1)	<b>IgM:</b> 1(3,2-20,3)	<b>IgA:</b> 22,6(10-40,7)	<b>IgG:</b> 640(87,6-219,7)	<b>IgM:</b> 72,5 (7,5-44,8)

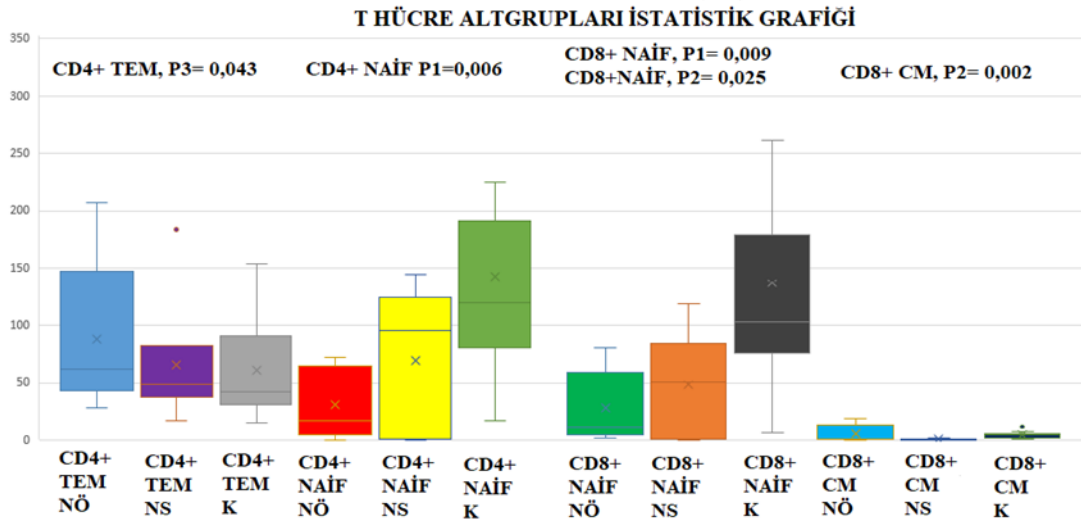
**KHN:** Kök hücre nakli

Çalışmada temel olarak odaklandığımız  $T_{NAIF}$ ,  $T_{CM}$ ,  $T_{EM}$ ,  $TEMRA$  verileri absölu değerler olarak Tablo 9’da özetlenmiştir. Hastalarda KHN öncesi hem  $CD4+$  ve  $CD8+$ naif T hücre sayısı kontrollerden belirgin olarak düşük bulunmuştur (sırasıyla;  $P=0,006$  ve  $P=0,009$ ).  $CD4+$ Naif hücre sayısı kemik iliği nakli ile artmasına rağmen, nakil sonrası  $CD8+$  Naif T hücre sayısı kontrollere göre hala belirgin düşüktü ( $P=0,025$ ), ancak nakil öncesine göre sayısal olarak artış vardı ( $P>0,05$ ). Bununla birlikte hastalarda  $CD4+$ Tefektör bellek hücre oranı kök hücre nakli öncesinde nakil sonrasında daha yüksek olarak bulunmuş ve bu yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ( $P= 0,043$ ).

**Tablo 9.** T Hücre altgrupları bulguları

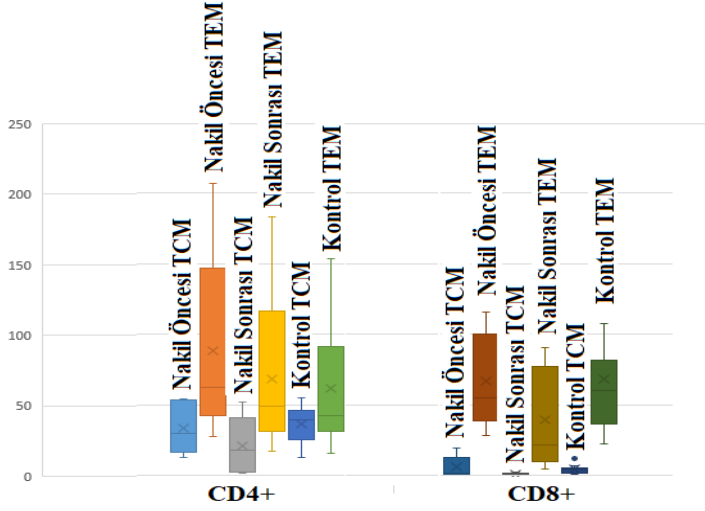
Değerler (Hücre/ $\mu$ l)	Nakil Öncesi (Ortanca $\pm$ SD)	Nakil Sonrası (Ortanca $\pm$ STD)	Kontrol (Ortanca $\pm$ STD)	P1	P2	P3
<b>CD4 Naif</b>	16,77 $\pm$ 31,65	95,37 $\pm$ 65,16	119,5 $\pm$ 94,78	<b>0,006</b>	A	A
<b>CD4+ CM</b>	29,54 $\pm$ 18,63	17,54 $\pm$ 20,86	42,19 $\pm$ 12,43	A	A	A
<b>CD4+ TEM</b>	62,12 $\pm$ 69,65	48,82 $\pm$ 59,27	42,28 $\pm$ 41,55	A	A	<b>0,043</b>
<b>CD4+ TEMRA</b>	2,06 $\pm$ 13,68	10,33 $\pm$ 86,77	15,14 $\pm$ 33,77	A	A	A
<b>CD8+ Naif</b>	11,70 $\pm$ 31,83	51,375 $\pm$ 44,6	102,61 $\pm$ 105,43	<b>0,009</b>	<b>0,025</b>	A
<b>CD8+ CM</b>	1,14 $\pm$ 8,075	0,428 $\pm$ 0,62	4,09 $\pm$ 2,98	A	<b>0,002</b>	A
<b>CD8+ TEM</b>	54,96 $\pm$ 34,19	21,68 $\pm$ 33,64	60,20 $\pm$ 42,32	A	A	A
<b>CD8+ TEMRA</b>	20,80 $\pm$ 67,86	68,59 $\pm$ 124,33	59,6 $\pm$ 36,71	A	A	A

**P1:** Nakil Öncesi ve Kontrol ; **P2:** Nakil Sonrası ve Kontrol ; **P3:** Nakil öncesi ve Nakil Sonrası ;  
**A:** Anlamsız (P>0,05); **SD:** Standart Sapma



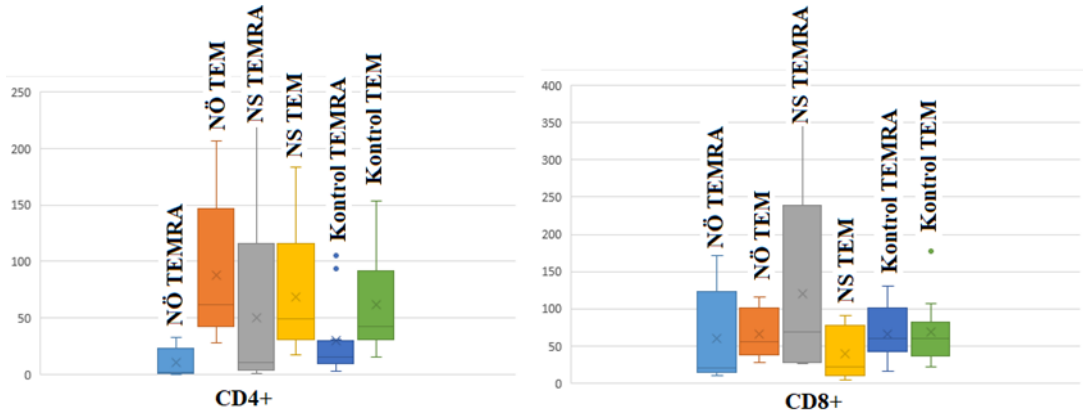
**Şekil 13.** T hücre altgrup analizi anlamlı bulunan değerlerin şematik gösterimi (NÖ: Nakil öncesi ; NS: Nakil sonrası; K: Kontrol)

Nakil öncesi nakil sonrası ve kontrol grupları arasında  $T_{CM}/T_{EM}$  korelasyonları değerlendirilmiş,  $T_{EM}/T_{CM}$  arasında doğru orantı gözlemlenmiştir (Şekil 14).



Şekil 14.  $T_{EM}$  ve  $T_{CM}$  hücreleri arasında korelasyon

$TEMRA$  ve  $T_{EM}$  hücrelerinin ise ters orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Bu korelasyona ise Şekil 15’de gösterilmiştir.



Şekil 15.  $T_{EM}/TEMRA$  hücreleri ters orantılı olarak artmaktadır.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Artemis eksikliği T-B-NK+ AKİY'ler içinde yer alan bir immün yetmezliktir. Lenfopeni bu hastalığın en belirgin bulgusudur(Schuetz 2014; Picard 2018). Hastalarımızda kontrollere göre lenfosit sayısının, total T ve B hücre oranlarının düşük olması Artemis eksikliği gibi AKİY'de beklenen bir bulgudur. Ayrıca hastalarda saptadığımız serum immunglobulin düzeylerinin düşüklüğü B hücrelerinin sadece sayısal olarak değil, fonksiyonel olarak da yetersiz olduğunu göstermektedir. Bu durum hastalarda gözlemlenen tekrarlayan enfeksiyonları açıklamaktadır. Bu durum hastalarda gözlenen tekrarlayan enfeksiyonların kısıtlı T ve B hücre repertuarından kaynaklandığını göstermektedir.

DCLRE1C geninde oluşan mutasyonların çoğunluğu AKİY tablosuna neden olurken bazı hipomorfik mutasyonların bir miktar protein ekspresyonu ve fonksiyonuna izin vererek daha hafif bir kliniğe neden olduğu bilinmektedir. Çalışmaya dahil edilen hastalarımızın hepsinin mutasyonlarının hipomorfik olduğu Volk ve arkadaşları ile yaptığımız çalışmada gösterilmiştir (Volk ve ark. 2015). Hastalarımızın üçünde yanlış anlamlı; ikisinde ise bileşik heterozigot mutasyon vardı. Bu mutasyonların üçü Artemis proteinin VDJ rekombinasyondan sorumlu olan N terminal domaininde (ekzon 3), ikisi ise hem N terminal hem de C terminal bölgesinde (ekzon 3/ 14) yer almaktaydı. Bu durum iki mutasyonun farklı klinik ve laboratuvar bulgulara neden olabileceğini düşündürmüştür. Bununla birlikte her iki mutasyonu taşıyan hastaların klinik, laboratuvar ve T hücre alt grupları bulguları arasında herhangi bir fark saptanmadı. Bu durum hasta sayısının azlığından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızın en önemli bulgusu hastalarda kontrollere göre CD4+ ve CD8+ naif T hücre oranının düşük olmasıdır. Aslında bu bulgu Volk ve arkadaşlarının çalışmasında farklı bir yöntemle gösterilmişti. Bizim çalışmamız ise hafıza T hücre dağılımını nakil öncesi ve sonrası değerlendirmesi açısından Volk ve arkadaşlarının çalışmasından farklı bir çalışmadır (Volk ve ark. 2015). Naif T hücre sayısı ve klonal çeşitliliği, adaptif immün sistemin yabancı patojenleri ve işleyişi bozulmuş hücreleri algılama, bunlara yanıt verme potansiyelini temsil eder. Vücudumuzda yaşamımızın ilk yıllarında, timustan milyarlarca naif T hücresi üretilmektedir (Mahnke 2013). Bu naif T hücreleri antijenle karşılaştıklarında, klonal genişlemeye başlar ve efektör

hücrelere dönüşerek enfeksiyon bölgesine göç eder. Timusta kısıtlı çeşitlilikte üretilmiş reseptörler kısıtlı antijen tanıma çeşitliliğine sahiptir. Naif T hücre sayısında düşüklüğün, sınırlı repertuvara işaret ediyor olabileceği daha önce gösterilmiştir (Greef 2020). Hastalarımızda saptanan naif T hücre oranlarındaki düşüklük Artemis eksikliği sonucu THR çeşitliliğinin ve immün repertuarı azaltmasının bir göstergesi olabilir.

Efektör bellek hücrelerinin kronik bakteriyel, viral ve parazitik enfeksiyonlarda önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (Akondy 2017). Hastalarda nakil öncesi CD4+TEM (CD4+ efektör bellek) hücre oranlarının nakil sonrasında istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulunması ve kontrollerden sayısal olarak yüksek oluşu nakil öncesi kronik enfeksiyon varlığına işaret etmektedir. (Willinger 2005).

CD4 TEMRA hücrelerinin sıklığı, sağlıklı görünen bir popülasyondaki toplam CD4 T hücrelerinin yaklaşık <math>0,3\%</math> ile <math>18\%</math> arasında değişir ve bunların işlevsel rolü tam olarak bilinmemektedir (Kared 2020). Bizim çalışmamızda CD4 TEMRA oranı nakil öncesinde <math>0,1-24,9\%</math>, nakil sonrası <math>1,3-53,6\%</math> arasında değerlerde bulundu. Kontrollerde ise bu oran <math>5,6-10,5\%</math> idi. Bu oran kontrol grubunun daha homojen bir TEMRA profili çizdiğini ve kemik iliği nakliyle CD4+TEMRA oranının yükseldiğini göstermiştir.

CD8+TEMRA diğer adı ile yorgun (exhausted) T hücrelerinin kronik viral hastalıklarda yükseldiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Akondy 2017). Hastalarımızın üçünde kronik HPV enfeksiyonu olmasına rağmen kontrollerle kıyaslandığında CD8+TEMRA hücre oranında artış saptanmamıştır. Bu durum çalışmaya dahil edilen hasta sayısının az olmasından kaynaklanabilir.

Sonuç olarak, Artemis eksikliği tekrarlayan enfeksiyonlar ve lenfopeni ile karakterize, nadir görülen, AKİY tablosuna yol açan bir immün yetmezliktir. Artemis proteininin geni olan DCLRE1C'de görülen mutasyonların çoğu AKİY tablosuna yol açarken özellikle ekzon 3'te görülen c.194 C>T mutasyonu hipomorfik bir mutasyon olup, atipik AKİY tablosuna yol açmaktadır. Bu hastalarda gerek sitotoksik gerekse helper T hücre alt gruplarından Tnaif hücre oranları belirgin olarak düşüktür. Bununla birlikte çalışmamızda hasta sayısının az olması sebebiyle daha geniş bir seri ile T hücre alt gruplarını değerlendirecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKLAR

- Aandahl EM, Sandberg JK, Beckerman KP, Taskén K, Moretto WJ, Nixon DF. CD7 Is a Differentiation Marker That Identifies Multiple CD8 T Cell Effector Subsets. *J Immunol.* 2003; 170 (5) 2349-55
- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Temel İmmünoloji . Elsevier, 4.Baskı , Amerika, 2014.
- AbbasA, LichtmanA, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. Elsevier. 2007
- Abel AM, Yang C, Thakar MS, Malarkannan S. Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. *Front Immunol.* 2018; 13;9:1869
- Afkarian M, Sedy JR, Yang J, Jacobson NG, Cereb N ve diğerleri. T-bet is a STAT1-induced regulator of IL-12R expression in naive CD4+ T cells. *Nat. Immunol.* 2002; 3:549–57.
- Ahmed R, Bevan MJ, Reine SL, Fearon DT. The precursors of memory: Models and controversies. *Nat. Rev. Immunol.* 2009;9:662–8
- Aisen P. Transferrin receptor 1. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2004; 36 (11): 2137–43
- Akondy RS, Fitch M, Edupuganti S ve diğerleri. Origin and differentiation of human memory CD8 T cells after vaccination. *Nature.* 2017; 21; 552(7685): 362–7.
- Al-Shura AN. "Lymphocytes". *Advanced Hematology in Integrated Cardiovascular Chinese Medicine.* Elsevier. 2020. p. 41–6.
- Anderson G, Jenkinson EJ. Lymphostromal interaction in thymic development and function. *Nat Rev Immunol.* 2001; 1: 31-40
- Anderson M, Anderson SK, Farr AG. Thymic vasculature: organizer of the medullary epithelial compartment? *Int Immunol.* 2000; 12:1105–10
- Attaf M., Legut D, Cole K, Sewell W. The T cell antigen receptor: the Swiss army knife of the immune system. *Clin Exp Immunol.* 2015; 181(1): 1–18.
- Azzam HS, DeJarnette JB, Huang K, Emmons R, Park CS ve diğerleri. Fine tuning of TCR signaling by CD5. *J Immunol.* 2001; 166: 5464–72.
- Barbee SD, Alberola-Ila J. Phosphatidylinositol 3-kinase regulates thymic exit. *J Immunol.* 2005; 1;174(3):1230-8.
- Bassing CH, Swat W, Alt WF. The mechanism and regulation of chromosomal V(D)J recombination. *Cell.* 2002; 109 Suppl: S45-55.
- Baumgartner CK, Yagita H, Malherbe LP. A T cell receptor affinity threshold regulates memory CD4 T cell differentiation following vaccination. *J Immunol.* 2012; 189(5): 2309–17.
- Benedict CL, Gilfillan S, Kearney JF. The long isoform of terminal deoxynucleotidyl transferase enters the nucleus and, rather than catalyzing nontemplated nucleotide addition, modulates the catalytic activity of the short isoform. *J Exp Med.* 2001; 193(1):89–99.
- Birnbaum ME, Berry R, Hsiao Y, Chen Z. Molecular architecture of the  $\alpha\beta$  T cell receptor–CD3 complex. *Proc Natl Acad Sci.* 2014; 111(49):17576-81.

- Brekelmans P, van Soest P, Voerman J, Platenburg PP, Leenen PJ, van Ewijk W. Transferrin receptor expression as a marker of immature cycling thymocytes in the mouse. *Cell Immunol.* 1994; 159(2):331-9.
- Brenchley JM, Douek DC ve diğerleri. Expansion of activated human naïve T-cells precedes effector function. *Clin Exp Immunol.* 2002; 130(3): 431–40.
- Brincks EL, Roberts AD, Cookenham T, Sell S, Kohlmeier JE, Blackman MA, Woodland DL. Antigen-specific memory regulatory CD4+Foxp3+ T cells control memory responses to influenza virus infection. *J Immunol.* 2013; 1;190(7):3438–46
- Buck D, Malivert L, Chasseval R, Barraud A., ve diğerleri. Cernunnos, a novel nonhomologous end-joining factor, is mutated in human immunodeficiency with microcephaly. *Cell.* 2006; 27;124(2):287-99.
- Busch DH, Fräßle SP, Sommermeyer D ve diğerleri. Role of memory T cell subsets for adoptive immunotherapy. *Semin Immunol.* 2016; 28:28–34.
- Callebaut I, Moshous D, Mornon J.-P, de Villartay J.-P. Metallo- $\beta$ -lactamase fold within nucleic acids processing enzymes: the  $\beta$ -CASP family. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30, 3592–601
- Calsou P, Delteil C, Frit P, Drouet J, Salles B. Coordinated assembly of Ku and p460 subunits of the DNA-dependent protein kinase on DNA ends is necessary for XRCC4-ligase IV recruitment. *J Mol Biol.* 2003; 7;326(1):93-103
- Carbone FR, Mackay LK, Heath WR, Gebhardt T. Distinct resident and recirculating memory T cell subsets in non-lymphoid tissues. *Curr Opin Immunol.* 2013;25(3):329-33.
- Carlson CM, Endrizzi BT, Wu J, Ding X ve diğerleri. Kruppel-like factor 2 regulates thymocyte and T-cell migration. *Nature.* 2006; 20;442(7100):299-302.
- Cherayil BJ. Iron and immunity: immunological consequences of iron deficiency and overload. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2010; 58(6): 407–15.
- Clénet ML ve diğerleri. Peripheral human CD4+CD8+ T lymphocytes exhibit a memory phenotype and enhanced responses to IL-2, IL-7 and IL-15. *Sci Rep.* 2017; 7: 11612.
- Cordes S, Wu C, Dunbar CE. Clonal tracking of haematopoietic cells: insights and clinical implications. *Br J Haematol.* 2021; 192(5):819-31.
- Couedel C, Mills KD, Barchi M, Shen L, Olshen A, Johnson RD ve diğerleri. Collaboration of homologous recombination and nonhomologous end-joining factors for the survival and integrity of mice and cells. *Genes Dev.* 2004; 18: 1293-304
- Croft M. The role of TNF superfamily members in T-cell function and diseases. *Nature Reviews Immunology.* 2019; vol. 9, no. 4, pp. 271–85.
- Cyster JG, Schwab SR. Sphingosine-1-phosphate and lymphocyte egress from lymphoid organs. *Annu Rev Immunol.* 2012; 30:69–94.10.1146.
- Daniels MA, Teixeira E. TCR Signaling in T Cell Memory. *Front. Immunol.* 2015; 6:617.
- Dorota Boćko, Irena Frydecka. Structure and function of lymphocyte TCR/CD3 complex. *Postepy Hig Med Dosw.* 2003; 57(5):519-29.
- Douaisi M, Resop RS, Nagasawa M, Craft J, Jamieson BD, Blom B, Uittenbogaart CH. CD31, a valuable marker to identify early and late stages of T cell differentiation in the human thymus. *J Immunol.* 2017; 198(6): 2310–9.

- Drouet J, Frit P, Delteil C, de Villartay J-P, Salles B, Calsou P. Interplay between Ku, Artemis, and the DNA-dependent Protein Kinase Catalytic Subunit at DNA Ends. *J Biol Chem.* 2006; 22;281(38):27784-93
- Dueva R., Iliakis G. Alternative pathways of non-homologous end joining (NHEJ) in genomic instability and cancer. *TCR.* 2013; Vol 2, No 3
- Ege M, Ma Y, Manfras B, Kalwak K, Lu H, Lieber MR, Schwarz K, Pannicke U. Omenn syndrome due to ARTEMIS mutations. *Blood.* 2005; 105, 4179–86
- Esensten YJ, Helou YA, Chopra G, Weiss A, Bluestone JA. CD28 costimulation: from mechanism to therapy. *Immunity.* 2016; 17; 44(5): 973–88.
- Farber DL. Biochemical Signaling Pathways for Memory T cell Recall. *Semin Immunol.* 2009; 21(2): 84–91.
- Fayard E, Moncayo G, Hemmings BA, Holländer GA. Phosphatidylinositol 3-Kinase Signaling in Thymocytes: The Need for Stringent Control. *Sci Signal.* 2010; 17;3(135):re5.
- Flynn JK, Gorry PR. Stem memory T cells (T<sub>SCM</sub>) – their role in cancer and HIV immunotherapies. *Clin Transl Immunology.* 2014; 3:1–7.
- Franco R., Martinez-Pinilla E ve diğerleri Basic Pharmacological and Structural Evidence for Class A G-Protein-Coupled Receptor Heteromerization. *Front. Pharmacol.* 2016; 7: 76.
- Franzone FS, Cirillo R, Biffignandi P. Doxofylline exerts a prophylactic effect against bronchoconstriction and pleurisy induced by PAF. *Eur J Pharmacol.* 1989; 20;165(2-3):269-77.
- Fu B, Tian Z, Wei H. Subsets of human natural killer cells and their regulatory effects. *Immunology.* 2014; 141(4): 483–9
- Funaro A, Spagnoli GC, Ausiello CM, Alessio M, Roggero S, Delia D ve diğerleri. Involvement of the multilineage CD38 molecule in a unique pathway of cell activation and proliferation. *J Immunol.* 1990; 145:2390–6.
- Gasper DJ, Tejera MM, Suresh M. CD4 T-Cell Memory Generation and Maintenance. *Crit Rev Immunol.* 2014; 34(2): 121–46.
- Gattinoni L, Lugli E, Ji Y ve diğerleri. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. *Nat Med.* 2011; 17:1290–7
- Gebhardt T, Mueller SN, Heath WR, Carbone FR. Peripheral tissue surveillance and residency by memory T cells. *Trends Immunol.* 2013; 34(1):27–32.
- Geginat J, Sallusto F, Lanzavecchia A. Cytokine-driven proliferation and differentiation of human naive, central memory, and effector memory CD4+ T cells. *J Exp Med.* 2001; 194:1711–9.
- Gerlach C, Rohr JC, Perié L ve diğerleri. Heterogeneous differentiation patterns of individual CD8+ T cells. *Science.* 2013; 20340:635–9.
- Gholami S, Mohammadi SM, Akbari MA, Abedelahi A ve diğerleri. Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT) Inhibiti on of Cord Blood Derived B and T Cells Expansion. *Adv Pharm Bull.* 2017; 7(2): 215–20.
- Golubovskaya V, Wu L. Different subsets of T cells, memory, effector functions and CAR-T immunotherapy. *Cancers.* 2016; 8:36.
- Goodarzi AA, Yu Y, Riballo E, Douglas P ve diğerleri. DNA-PK autophosphorylation facilitates Artemis endonuclease activity. *EMBO J.* 2006; 25, 3880–9

- Greef PC, Oakes T, Gerritsen B ve diğeri. The naive T-cell receptor repertoire has an extremely broad distribution of clone sizes. *eLife*. 2020; 9: e49900.
- Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annual Review of Immunology*. 2005; vol. 23, p. 515–48.
- Haeryfar SM, Hickman HD, Irvine KR, Tschärke DC, Bennink JR, Yewdell JW. Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Establishes and Broadens Anti-Viral CD8+ T Cell Immunodominance Hierarchies. *Journal of Immunology*. 2008; 181 (1): 649–59.
- Harrington LE, Janowski KM, Oliver JR, Zajac AJ, Weaver CT. Memory CD4 T cells emerge from effector T-cell progenitors. *Nature*. 2008; 452:356–60.
- Hayday CA.  $\gamma\delta$  Cells: A Right Time and a Right Place for a Conserved Third Way of Protection. *Annu Rev Immunol*. 2000; 18:975-1026.
- Hernández L, Terradas M, Martín M, Tusell L, Genescà A. Highly Sensitive Automated Method for DNA Damage Assessment: Gamma-H2AX Foci Counting and Cell Cycle Sorting. *Int J Mol Sci*. 2013; 30;14(8):15810-26.
- Hesterberg RS, Cleveland JL, Epling-Burnett PK. Role of Polyamines in Immune Cell Functions. *Medical Sciences*. 2018; 6(1):22
- Honjo T, Reth M, Radbruch A, Alt F. Molecular Biology of B Cells. 2<sup>nd</sup> Edition. Germany , 2015, p: 13-34
- Hosokawa H, Rothenberg V. Cytokines, Transcription Factors, and the Initiation of T-Cell Development. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018; 10(5): a028621
- Huppa JB, Davis MM. T-cell-antigen recognition and the immunological synapse. *Nature Reviews Immunology*. 2003; 3, 973–83
- <https://www.biorender.com>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- <https://www.Omim.org>
- <https://www.rcsb.org/>
- Hwang J-R, Byeon Y, Kim D, Park S-G. Recent insights of T cell receptor-mediated signaling pathways for T cell activation and development. *Experimental & Molecular Medicine*. 2020; volume 52, p: 750–61
- Jaigirdar SA, MacLeod MKL. Development and function of protective and pathologic memory CD4 T cells. *Front Immunol*. 2015;8;6:456.
- Jaleco S, Swainson L, Dardalhon V ve diğeri. Homeostasis of Naive and Memory CD4+ T Cells: IL-2 and IL-7 Differentially Regulate the Balance Between Proliferation and Fas-Mediated Apoptosis. *J Immunol*. 2003; 171 (1) 61-8
- Jenkins MK, Moon JJ. The role of naive T cell precursor frequency and recruitment in dictating immune response magnitude. *J. Immunol*. 2012; 188:4135–40
- Jung LKL, Fu SM, Hara T, Kapoor N, Good RA. Defective expression of T cell-associated glycoprotein in severe combined immunodeficiency. *J. Clin. Invest*. 1986; 77: 940-6.
- Junqueira C, Corneiro J. Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitabevi. Ankara, 2009

- Kared H, Tan SW, Lau MC, Chevrier M ve diğerleri. Immunological history governs human stem cell memory CD4 heterogeneity via the Wnt signaling pathway. *Nat Commun.* 2020; 11: 821.
- Karim MF, Liu S, Laciak AR. ve diğerleri. Structural analysis of the catalytic domain of Artemis endonuclease/SNM1C reveals distinct structural features. *J Biol Chem.* 2020; 28; 295(35): 12368–77.
- Kennedy AK, Guhathakurta A, Kleckner N, Haniford DB. Tn10 transposition via a DNA hairpin intermediate. *Cell.* 1998; 95:125–34.
- Kumar B, Connors T, Farber DL. Human T cell development, localization, and function throughout life. *Immunity.* 2018; 48(2): 202–13.
- Kurobe H, Liu C, Ueno T, Takahama Y ve diğerleri. CCR7-dependent cortex-to-medulla migration of positively selected thymocytes is essential for establishing central tolerance. *Immunity.* 2006 Feb;24(2):165-77.
- Ladi E, Yin X, Chtanova T, Robey EA. Thymic microenvironments for T cell differentiation and selection. *Nature Immunology.* 2006, volume 7, p: 338–43
- Lagresle-Peyrou C, Benjelloun F, Hue C, Andre-Schmutz I, Bonhomme D, Forveille M, Beldjord K ve diğerleri. Restoration of human B-cell differentiation into NOD-SCID mice engrafted with gene-corrected CD34<sup>+</sup> cells isolated from Artemis or RAG1-deficient patients. *Mol. Ther.* 2008; 16, 396–403
- Lai AY ve Kando M. T and B lymphocyte differentiation from hematopoietic stem cell. *Semin Immunol.* 2008 ; 20(4): 207–12.
- Larbi A. From “truly naïve” to “exhausted senescent” T cells: When markers predict functionality. *Cytometry A.* 2013; 85(1):25-35.
- Larosa DF, Orange JS. Lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121(2 Suppl):S364-9; quiz S412
- Lieber MR. The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway. *Annu. Rev. Biochem.* 2010; 79, 181–211
- Lobachev KS, Gordenin DA ve Resnick MA. The Mre11 complex is required for repair of hairpin-capped double-strand breaks and prevention of chromosome rearrangements. *Cell.* 2002; 108:183–93.
- Ma Y, Pannicke U, Schwarz K, Lieber MR. Hairpin opening and overhang processing by an Artemis/DNA-dependent protein kinase complex in nonhomologous end joining and V(D)J recombination. *Cell.* 2002; 108:781–94.
- MacLeod MK, Kappler JW, Marrack P. Memory CD4 T cells: Generation, reactivation and re-assignment. *Immunology.* 2010; 130:10–15.
- Mahnke YD, Brodie TM, Sallusto F, Roederer M, Lugli E. The who's who of T-cell differentiation: Human memory T-cell subsets. *Eur. J. Immunol.* 2013; 43: 2797–809
- Mahnke YD, Brodie TM, Sallusto F, Roederer M, Sallusto EL ve diğerleri. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature.* 1999; 401, 708–12
- Male D, Brostoff J, Roth BD, Roitt MI. *Immunoloji.* Elsevier, 7.Baskı, Amerika, 2009
- Mandel CR., Kaneko K, Zhang H, Gebauer D ve diğerleri. Polyadenylation factor CPSF-73 is the pre-mRNA 3'-end-processing endonuclease. *Nature.* 2006; 444, pp. 953-6

- Mao Z, Bozzella M, Seluanov A, Gorbunova V. Comparison of nonhomologous end joining and homologous recombination in human cells. *DNA Repair (Amst)*. 2008; 7(10): 1765–71.
- Masuda K, Kubagawa H, Ikawa T ve diğerleri. Prethymic T-cell development defined by the expression of paired immunoglobulin-like receptors. *EMBO J*. 2005; 7; 24(23): 4052–60.
- Matloubian M, Lo CG, Cinamon G, Lesneski MJ, Xu Y ve diğerleri. Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on SIP receptor 1. *Nature*. 2004; 22;427(6972):355-60
- McVey M, Lee SE. MMEJ repair of double-strand breaks (director's cut): deleted sequences and alternative endings. *Trends Genet*. 2008; 24:529–38.
- Meraviglia S, Carlo PD, Pampinella D ve diğerleri. T-Cell Subsets (T<sub>CM</sub>, T<sub>EM</sub>, T<sub>EMRA</sub>) and Poly-Functional Immune Response in Patients with Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection and Different T-CD4 Cell Response. *Ann Clin Lab Sci*. 2019; 49(4):519-28.
- Mold JE, Réu Pedro, Olin A, Bernard S ve diğerleri. Cell generation dynamics underlying naive T-cell homeostasis in adult humans. *PLoS Biol*. 2019; 17(10): e3000383
- Mollo SB, Ingram JT, Kress RL, Zajac AJ, Harrington LE. Virus-specific CD4 and CD8 T cell responses in the absence of Th1-associated transcription factors. *J. Leukoc. Biol*. 2014; 95:705–13.
- Morandi F, Horenstein AL, Costa F, ve diğerleri. CD38: A Target for Immunotherapeutic Approaches in Multiple Myeloma. *Front Immunol*. 2018; 9: 2722.
- Moshous D, Cellebaut I, Chasseval R. Artemis, a Novel DNA Double Strand Break Repair V(D)J Recombination is Mutated in Human Severe Combined Immune Deficiency. *Cell*. 2001; 20;105(2):177-86.
- Moshous D, Pannetier C, Chasseval R, Deist FI, Cavazzana-Calvo. T and B lymphocyte immunodeficiency and predisposition to lymphoma in patients with hypomorphic mutations in Artemis. *J. Clin. Invest*. 2003; 111, 381–7
- Motea EA, Berdis AJ. Terminal Deoxynucleotidyl Transferase: The Story of a Misguided DNA Polymerase. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1804(5): 1151–66.
- Munoz P, Mittelbrunn M, Fuente DL, Perez-Martinez H ve diğerleri. Antigen-induced clustering of surface CD38 and recruitment of intracellular CD38 to the immunologic synapse. *Blood*. 2008; 111:3653–64.
- Ned M, Swat W, Andrews NC. Transferrin receptor 1 is differentially required in lymphocyte development. *Blood*. 2003;102:3711–8.
- Nicolas N, D Moshous, M Cavazzana-Calvo, D Papadopoulo ve diğerleri. A human severe combined immunodeficiency (SCID) condition with increased sensitivity to ionizing radiations and impaired V(D)J rearrangements defines a new DNA recombination/repair deficiency. *J. Exp. Med*. 1998; 188:627–34.
- Pannicke U, Ma Y, Hopfner K-P ve diğerleri. Functional and biochemical dissection of the structure-specific nuclease ARTEMIS. *EMBO J*. 2004; 23, 1987–97
- Pannicke U, Hönig M, Schulze I, Rohr J, Heinz GA, Braun S, Janz I, Rump E-M ve diğerleri. The most frequent DCLRE1C (ARTEMIS) mutations are based on homologous recombination events. *Hum. Mutat*. 2010; 31, 197–207
- Parvaneh N, Casanova JL, Notarangelo LD, Conley ME. Primary immunodeficiencies: a rapidly evolving story. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 131 (2) , 314-23

- Quast I ve Tarlinton D. B cell memory: understanding COVID-19. *Immunity*. 2021; 54(2): 205–10.
- Pena-Rossi C, Zuckerman LA, Strong J, Kwan J, Ferris W, Chan S ve diğerleri. Negative regulation of CD4 lineage development and responses by CD5. *J Immunol*. 1999; 163:6494–501.
- Peng YM ve diğerleri. Specific expression of GPR56 by human cytotoxic lymphocytes. *J. Leukoc. Biol*. 2011; 90, 735–40.
- Pennock ND, White JT, Cross EW, Cheney EE, Tamburini AB, Kedl RM. T cell responses: naïve to memory and everything in between. *Adv Physiol Educ*. 2013; 37(4): 273–83.
- Petrie HT, Zúñiga-Pflücker JC ve diğerleri. Commitment and Developmental Potential of Extrathymic and Intrathymic T Cell Precursors: Plenty to Choose from. *Immunity*. 2007;26(6):678-89.
- Picard C, Bobby GH, Al-Herz W, Bousfiha A ve diğerleri. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2018; 38(1):96-128.
- Poinsignon C, Moshous D, Callebaut I, de Chasseval R, Villey I, de Villartay J-P. The metallo- $\beta$ -lactamase/ $\beta$ -CASP domain of Artemis constitutes the catalytic core for V(D)J recombination. *J. Exp. Med*. 2004; 199, 315–21
- Porter NM, Bohannon JH, Curran-Rauhut M, Buechel HM, Dowling AL, Brewer LD, Popovic J, Thibault V, Kraner SD, Chen KC, Blalock EM. Hippocampal CA1 Transcriptional Profile of Sleep Deprivation: Relation to Aging and Stress. *PLoS One*. 2012; 7(7): e40128.
- Punt J, Strandford S, Jones P, Owen JA. *Kuby Immunology*. 7th Edition, Macmillian, USA, 2018.
- Raphael I, Joern RR, Forsthuber TG. Memory CD4+ T Cells in Immunity and Autoimmune Diseases. *Cells*. 2020; 9(3): 531.
- Rappi G, Schrama D, Hombach A, Meuer EK ve diğerleri. CD7(-) T cells are late memory cells generated from CD7(+) T cells. *Rejuvenation Res*. 2008; 11(3):543-56.
- Ratajczak W, Niedźwiedzka-Rystwej P, Tokarz-Deptuła B, Deptuła W. Immunological memory cells. *Cent Eur J Immunol*. 2018; 43(2): 194–203
- Reinhold U ve Abken H. CD4+ CD7- T cells: a separate subpopulation of memory T cells? *J Clin Immunol*. 1997; 17(4):265-71.
- Res P, Blom B, Hori T, Weijer K, Spits H. Downregulation of CD1 Marks Acquisition of Functional Maturation of Human Thymocytes and Defines a Control Point in Late Stages of Human T Cell Development. *J Exp Med*. 1997 Jan 6; 185(1): 141–52
- Rodgers Karla. Riches in RAGs: Revealing the V(D)J Recombinase Through High-Resolution Structures. *Trends in Biochemical Sciences*. 2017; 42 (1): 72–84
- Rooney S, J Sekiguchi, C Zhu, H-L Cheng ve diğerleri. Leaky scid phenotype associated with defective V(D)J coding end processing in artemis-deficient mice. *Mol. Cell*. 2002; 10:1379–90.
- Rosenblum MD, Way SS, Abbas AK. Regulatory T cell memory. *Nat Rev Immunol*. 2016; 16(2): 90–101.
- Shrivastav M, De Haro LP, Nickoloff JA. Regulation of DNA double-strand break repair pathway choice. *Cell Res*. 2008; 18(1):134–47
- Sadofsky MJ. The RAG proteins in V(D)J recombination: more than just a nuclease. *Nucleic Acids Res*. 2001; 1; 29(7): 1399–409.

- Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation and maintenance. *Annu Rev Immunol.* 2004; 22:745–63.
- Samelson LE. Signal transduction mediated by the T cell antigen receptor: the role of adapter proteins. *Annu Rev Immunol.* 2002;20:371–94
- Schuetz C, Neven B, Dvorak CC, Leroy S, Ege MJ ve diğerleri. SCID patients with ARTEMIS vs RAG deficiencies following HCT: increased risk of late toxicity in ARTEMIS-deficient SCID. *Blood.* 2014; 123 (2): 281–9.
- Shedlock DJ, Shen H. Requirement for CD4 T cell help in generating functional CD8 T cell memory. *Science.* 2003; 11;300(5617):337-9.
- Smith A, Scott JF, Boyes J. The ESC : Dangerous By Product of V(D)J Recombination. *Front Immunol.* 2019; 10:1572.
- Soulas-Sprauel P, Rivera-Munoz P, Malivert L, Guyader G, Abramowski V, Revy P, Villartay de J-P. *Oncogene.* 2007; volume 26, s: 7780–91
- Suda T, Arai F, Shimmura S. Regulation of stem cells in the niche. *Cornea.* 2005 ;24(8 Suppl):12-7.
- Suzawa K, Kobayashi M, Sakai Y, Hoshino H, Watanabe M, Harada O, Ohtani H, Fukuda, M, Nakayama J. Preferential induction of peripheral lymph node addressin on high endothelial venule-like vessels in the active phase of ulcerative colitis. *The American Journal of Gastroenterology.* 2007; 102 (7): 1499–509.
- Takamura S. Niches for the Long-Term Maintenance of Tissue-Resident Memory T Cells. *Front Immunol.* 2018; 9: 1214.
- Takashi O, Wu Q, Wulundell TL. The spatial organization of non-homologous end joining: from bridging to end joining. *DNA Repair (Amst).* 2014;17(100):98-109
- Tenca C, Merlo A, Zarcone D, Saverino D, Bruno S, ve diğerleri. Death of T cell precursors in the human thymus: a role for CD38. *Int Immunol.* 2003;15(9):1105-16.
- Thieu VT, Yu Q, Chang HC, Yeh N, Nguyen ET, Sehra S, Kaplan MH. Signal transducer and activator of transcription 4 is required for the transcription factor T-bet to promote T helper 1 cell-fate determination. *Immunity.* 2008; 29:679–90.
- Thome JJC, Yudanin N, Ohmura Y, ve diğerleri. Spatial Map of Human T Cell Compartmentalization and Maintenance over Decades of Life. *Cell.* 2015; Volume 159, Issue 4, 6; s: 814-28.
- Tokgoz H, Çalışkan U, Keles S, ve diğerleri. Variable presentation of primary immune deficiency: two cases with CD3 gamma deficiency presenting with only autoimmunity. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013;24:257–62.
- Treanor B. B-cell receptor: from resting state to activate. *Immunology.* 2012;136(1): 21–27
- Truong LN, ve diğerleri. Microhomology-mediated End Joining and Homologous Recombination share the initial end resection step to repair DNA double-strand breaks in mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2013;110:7720–5.
- Tsukumo, S., Yasutomo, K. Regulation of CD8+ T Cells and Antitumor Immunity by Notch Signaling. *Front Immunol.* 2018; 30:9:101.
- Ueno T, Saito F, Gray DHD, Kuse S ve diğerleri. CCR7 signals are essential for cortex-medulla migration of developing thymocytes. *J Exp Med.* 2004; 16;200(4):493-505.

- Ural AU. Hematopoietik Kök Hücre. 7. ULUSAL KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYONU ve KÖK HÜCRE TEDAVİLERİ KONGRESİ. 08 - 10 Mart 2012, ANTALYA/Türkiye
- Vadasz Z, Haj T, Kessel A, Elias Toubi. Age-related autoimmunity. *BMC Med.* 2013;4;11:94
- Valbon SF, Condotta SA, Richer MJ. Regulation of effector and memory CD8+ T cell function by inflammatory cytokines. *Cytokine.* 2016; 82:16–23
- van der Burg M, Gennery AR Educational paper. The expanding clinical and immunological spectrum of severe combined immunodeficiency. *Eur J Pediatr.* 2011; 170 (5), 561-71
- Venkataraman K, Hla T, Michaud J. The vascular S1P gradient-cellular sources and biological significance. *Biochim Biophys Acta.* 2008 Sep;1781(9):477-82
- Villartay J-P. Congenital defects in V(D)J recombination. *Br Med Bull.* 2015; 114(1):157-67.
- Volk T, Pannicke U, Reisli I, Bulashevskaya A. DCLRE1C (ARTEMIS) mutations causing phenotypes ranging from atypical severe combined immunodeficiency to mere antibody deficiency. *Hum Mol Genet.* 2015; 20;24(25):7361-72.
- Voisinne G, Peredo AG, Roncagalli R. CD5, an Undercover Regulator of TCR Signaling. *Front Immunol.* 2018; 9: 2900.
- Wang J, ve diğerleri. PTIP associates with Artemis to dictate DNA repair pathway choice. *Genes Dev.* 2014; 15; 28(24): 2693–8.
- Wang Z, Fast W, Valentine AM, Benkovic SJ. Metallo-beta-lactamase: structure and mechanism. *Curr Opin Chem Biol.* 1999; 3: 614–22
- Wang D, Yuan R, Feng Y, El-Asady R, Farber DL, Gress RE, Lucas PJ, Hadley GA. Regulation of CD103 expression by CD8+ T cells responding to renal allografts. *J. Immunol.* 2004;172:214–21.
- Whitmire JK, Eam B, Benning N, Whitton JL. Direct interferon-gamma signaling dramatically enhances CD4+ and CD8+ T cell memory. *J. Immunol.* 2007; 179:1190–7.
- Willinger T, Freeman T, Hasegawa H, McMichael AJ, ve diğerleri. Cytokine-driven proliferation and differentiation of human naive, central memory, and effector memory CD4+ T cells. *J Exp Med.* 2001; 194:1711–9.
- Willinger T, Freeman T, Hasegawa H, McMichael AJ, Callan MFC. Molecular Signatures Distinguish Human Central Memory from Effector Memory CD8 T Cell Subsets. *J Immunol.* 2005; 175 (9) 5895-903
- Woodbine L, Grigoriadou S, Goodarzi AA, Riballo E, Tape C, Oliver AW, van Zelm MC, Buckland MS, Davies EG, Pearl LH, Jeggo PA. An Artemis polymorphic variant reduces Artemis activity and confers cellular radiosensitivity. *DNA Repair.* 2010; 9, 1003–10
- Woodland LD, Kohlmeier JK. Migration, maintenance and recall of memory T cells in peripheral tissues. *Nature Reviews Immunology.* 2009; volume 9, s: 153–61
- Xiong SQ, Lin BL, Gao X, Tang H, Wu CY. IL-12 promotes HBV-specific central memory CD8+ T cell responses by PBMCs from chronic hepatitis B virus carriers. *Int. Immunopharmacol.* 2007; 7:578–87.
- Yang H, Parkhouse MRE, Wileman T. Monoclonal antibodies that identify the CD3 molecules expressed specifically at the surface of porcine  $\gamma\delta$ -T cells. *Immunology.* 2005; 115(2): 189–96.
- Yin T, Li L. The stem cell niches in bone. *The Journal of Clinical Investigation.* 2006; 116:1195-1201

- Youngblood B, Hale JS, Kissick TH, Ahn E, ve diğerleri. Effector CD8 T cells dedifferentiate into long-lived memory cells. *Nature*. 2017; volume 552, s: 404–9.
- Zhang X, Succi J, Feng Z, Prithivirajasingh, S, Story MD, Legerski RJ. Artemis is a phosphorylation target of ATM and ATR and is involved in the G<sub>2</sub>/M DNA damage checkpoint response. *Mol. Cell. Biol.* 2004; 24, 9207–20
- Zhao Y, Dai ZP, Lv P., Gao XM. Phenotypic and functional analysis of human T lymphocytes in early second- and third-trimester fetuses. *Clin. Exp. Immunol.* 2002; 129, 302-8.
- Zhuang Q., Peng B, Wei W, Gong H, Yu M., Yang M., Liu Ming. The detailed distribution of T cell subpopulations in immune-stable renal allograft recipients: a single center study. *PeerJ*. 2019;8;7:e6417



## 7. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Gülizar Gülnur	<b>Soyadı</b>	İTEZ
<b>Doğum Yeri</b>		<b>Doğum Tarihi</b>	
<b>E-mail</b>		<b>Uyruğu</b>	T.C

### Eğitim Düzeyi

	<b>Mezun Olduğu Kurumun Adı</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Lisans</b>	Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik	2017
<b>Yüksek Lisans</b>	Necmettin Erbakan Üniversitesi İmmünoloji	2021
<b>Doktora</b>		

### İş Deneyimi

<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (Yıl - Yıl)</b>
.		-
.		-

<b>Yabancı Dil</b>	İngilizce
--------------------	-----------

### Yayınları/Tebliğleri/Sertifikalari/Ödülleri

5.Klinik İmmünoloji Kongresi Poster Sunumu-RFLP yöntemiyle tanı alan Artemis olgusu (2019)

Python ve Programlama, Django , Web Geliştirme , Veri Analizi (Pandas , Numpy), Selenium online 40 saatlik eğitimi- Udemy (2021)

2. Kök Hücrelerde 3 Boyutlu Doku Mühendisliği ve Gen Aktarımı Uygulamalı Eğitimi – İstinye Üniversitesi (2020)

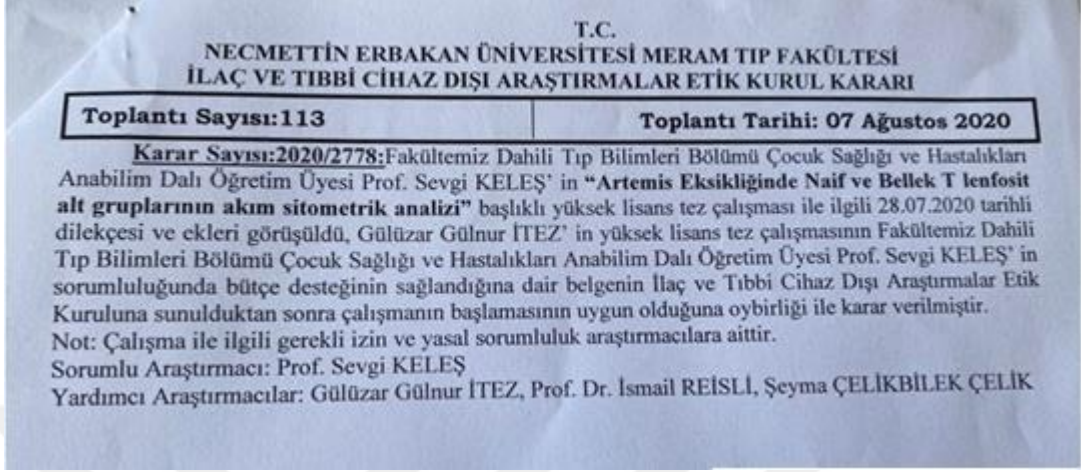
5.Klinik İmmünoloji Kongresi (2019, Antalya)

Subkutan İmmünglobülin Uygulama Sertifikası (2019, Antalya)

**Özel İlgi Alanları:**Matematik, Müzik, Felsefe, Edebiyat

## 8. EKLER

### 8.1. EK-1 : Etik Kurul Onayı



### 8.2. EK-2 : Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

**Çalışmanın Adı:** *Artemis Eksikliğinde Naif ve Bellek T Lenfosit Altgruplarının Akım Sitometrik Analizi*

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağını çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını, risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirseniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz.

**ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI:** Artemis proteini bağışıklık hücreleri olan T hücre ve B hücrelerinin sağlıklı bir şekilde olgunlaşmasını sağlayan vücudumuzun bir ürünüdür. Bu protein ve onun geninde (DCLRE1C) oluşan defektler, bu bağışık hücrelerinin olgunlaşmasını bozar ve bağışıklık sistemimizde eksikliğe sebep olarak, hastalarda tekrarlayan enfeksiyonlara neden olur. Bu proteinin geni olan DCLRE1C'de oluşan mutasyonların otoimmün hastalıklara neden olduğu da gösterilmiştir. Artemis geninde pek çok mutasyon olduğu gösterilmesine rağmen bu mutasyonlardan iki tanesinin bölgemizde sık görüldüğü tespit edilmiştir. Bununla birlikte bugüne kadar yapılan çalışmalarda Artemis eksikliğinin T hücrelerde bellek hücreye dönüşme yeteneğine bakılmamıştır. Bu çalışma ile; Artemis eksikliği olan hastaların naif ve hafıza T hücrelerinin analiz edilmesi amaçlanmıştır.

**ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:** Sizden veya çocuğunuzdan bir tüp (5 ml) kan alınacaktır.

**ÇALIŞMAYA KATILMAMIN OLASI YARARLARI NELERDİR?:**

Sizden/çocuğunuzdan alınacak kan ile bağışık hücrelerinden T hücrelerinin alt gruplarının sayısının normal olup olmadığı değerlendirilecektir. T hücrelerinizde aşırı düşüklük tespit edilmesi hastalığınızın gerçek tedavisi olan kök hücre nakli tedavisinin daha erken yapılması gerektiğini bize gösterebilir. Ayrıca bellek hücrelerde belirgin düşüklük saptanması ise

sizin/çocuğunuzun kronik bakteriyel ve viral hastalıklara ne kadar yatkın olduğunuzun bir belirtecidir.

**CALIŞMAYA KATILMAMIN OLASI RİSKLERİ NELERDİR?:** Bu çalışmaya katılmanız sonucunda kan alınması için batırılacak iğneye bağlı siz/çocuğunuz sadece küçük bir ağrı hissedebilir. Bunun dışında çalışma, siz veya çocuğunuz için herhangi bir risk oluşmayacaktır.

**KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?:**Bu formu imzalayarak araştırmaya katılım için onay vermiş olacaksınız. Bununla birlikte kimlik bilgileriniz çalışmanın herhangi bir aşamasında açıkça kullanılmayacaktır. Bu çalışma sırasında sizin/çocuğunuzun klinik dosyasındaki hastalık ile ilgili bilgiler, varsa daha önceki kan, idrar veya herhangi bir vücut salgısından elde edilen örneklerde değerlendirilecektir. Araştırma süresince elde edilen her türlü bilgi yalnızca bilimsel amaçlar için kullanılacaktır. Bilgileriniz hiçbir kimse ile ya da ticari bir amaç için paylaşılmayacaktır.

**SORU VE PROBLEMLER İÇİN BAŞVURULACAK KİŞİLER :**Prof. Dr Sevgi Keleş, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, Konya. Telefon: 0332 223 7644

<b><i>Gönüllü Adı Soyadı:</i></b>		<b><i>Tarih ve İmza:</i></b>
<b><i>Adres ve Telefon:</i></b>		
<b><i>Veli / Vasinin Adı Soyadı:</i></b>		<b><i>Tarih ve İmza:</i></b>
<b><i>Adres ve Telefon:</i></b>		
<b><i>Tanık Adı Soyadı:</i></b>		<b><i>Tarih ve İmza:</i></b>
<b><i>Adres ve Telefon:</i></b>		
<b><i>Araştırmacı Adı Soyadı:</i></b>		<b><i>Tarih ve İmza:</i></b>
<b><i>Adres ve Telefon:</i></b>		