

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**İç Hastalıkları Anabilim Dalı**

**MYELODİSPLASTİK SENDROM HASTALARINDA  
T REGÜLATÖR HÜCRELERİNİN DURUMUNUN  
ARAŞTIRILMASI**

**Seçil DOĞAN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Antalya, 2010**

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İç Hastahkları Anabilim Dalı**

**MYELODİSPLASTİK SENDROM HASTALARINDA  
T REGÜLATÖR HÜCRELERİNİN DURUMUNUN  
ARAŞTIRILMASI**

**Seçil DOĞAN**

**Yüksek lisans tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Ayşen TİMURAĞAOĞLU**

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2008.02.0122.006)

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

**Antalya, 2010**

## Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilimdalı İmmünohematoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. ..../..../2010

**Tez danışmanı** : Prof. Dr. Ayşen TİMURAĞAOĞLU  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. Levet ÜNDAR  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. İhsan KARADOĞAN  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. Akif YEŞİLİPEK  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. Burhan SAVAŞ  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

### ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun..../..../2010 tarih ve ..../.... sayılı kararıyla kabul edilmiştir. /..../..../2010

**Enstitü Müdürü**  
**Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL**

## ÖZET

Myelodisplastik Sendromlar, sitopeni veya sitopeniler, bir veya birden fazla majör myeloid hücre serisinde displazinin olduğu inefektif hematopoezle karakterize akut myeloid lösemi riskinin arttığı bir grup hematopoetik kök hücre hastalığıdır. MDS hematopoetik kök hücrelerin olgunlaşma aşamasında ortaya çıkan proliferasyonundaki çeşitli bozukluktan kaynaklanan kemik iliği hastalığıdır. Hücrelerde morfolojik anormaliteler, displastik değişiklikler vardır. MDS'in sebebi tam olarak bilinmemektedir. MDS genellikle yaşlı bireylerde meydana gelir. İmmünolojik, genetik, çevresel faktörlerin ve bazı alkilleyici ajanların hastalığa neden olduğu düşünülmektedir.

Regülatör T hücreler, otoimmün hastalıkları önleyen hücrelerdir. Treg'ler immün cevapta rol oynayan diğer hücrelerin fonksiyonlarını inhibe ederek immün cevabı kontrol edebilirler. Foxp3, Treg'lerin gelişimlerini ve fonksiyonlarını düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Foxp3, doğal Treg hücreleri için özel bir aktivasyon belirteçidir. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücreler otoimmün hastalıklarda önemli role sahiptirler.

MDS immün sistemin otoimmün bozuklukları etkilediği, bazı alt gruplarında immünespresif tedaviden fayda sağlandığı bilinen bir hastalıktır. Bu çalışmada bizim amacımız (otoimmün bozukluğun eşlik edebildiği "pre malign" kabul edilen bir grup hastalığı oluşturan) MDS'de kemik iliği ve periferik kan Treg hücrelerin etkilenip etkilenmediğini MDS alt gruplarına göre ayırarak göstermektir. Ayrıca hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda baskılayıcı CD3, yardımcı CD4 ve sitotoksik CD8 gruplarını araştırdık. MDS hastaları ile sağlıklı kontrollerin perifer Treg hücre yüzdeleri karşılaştırıldığında MDS hastalarında daha yüksek bulunmuştur fakat istatistiksel analiz sonucunda anlamlı bir fark bulunmamıştır. MDS hastalarını risk grubuna göre 2'ye ayırarak sağlıklı kontrollerle karşılaştırdığımızda perifer Treg hücre yüzdelerinin 2.grupta 1.gruba göre daha yüksek olduğu, sağlıklı kontrollerde ise 1. ve 2. gruptan daha düşük olduğu bulunmuş ancak istatistiksel analiz sonucunda anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. MDS 1.grup ve 2.gruptaki hastaların kemik iliği Treg hücre yüzdeleri karşılaştırıldığında 2.grupta daha yüksek olduğu bulunmuş fakat istatistiksel analiz sonucunda anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. MDS 1.grup ve 2.gruptaki hastalar ile sağlıklı kontrollerin perifer CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre yüzdeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. MDS 1.grup ve 2.gruptaki hastaların kemik iliği CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre yüzdeleri karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

**Anahtar kelimeler:** Myelodisplastik Sendrom, Treg, FoxP3

## ABSTRACT

The Myelodysplastic Syndromes are a group of clonal haematopoietic stem cell diseases characterized by cytopenia or cytopenias, dysplasia in one or more of the major myeloid cell lines, ineffective haematopoiesis, and an increasing risk of development of acute myeloid leukaemia. The Myelodysplastic Syndromes are a bone marrow disease resulting from the defects in proliferation during development and maturation of stem cells. Cells contain morphologic abnormalities, dysplastic features. The cause of MDS is not known accurately. MDS occur principally in older adults. It is accepted that immunologic, genetical, and environmental factors and some alkilizing agents may cause the disease.

Regulatory T cells are the cells that block resist autoimmune diseases. Tregs can control the immune response by inhibiting the functions of other cells involved in immunologic functions. FoxP3, which is a transcription factor, regulates the development and functions of Tregs. FoxP3, is an activation marker of natural Tregs. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg cells have an important role in autoimmune diseases.

MDS is known as a disease effecting immune system, auto immune defects and can be recuperated by immune suppressive treatment in some subgroups of disease. In this study, our aim is to show by dividing MDS into subgroups whether the bone marrow tregs and periferic treg cells in MDS, a group of diseases accepted 'pre malign' and seen with autoimmune defects, are affected or not. Moreover, suppressor CD3, helper CD4, and cytotoxic CD8 subgroups in patients and control groups were searched. When percentages of perifer Treg cells of MDS patients and healthy controllers were compared, it was found to be higher in the former but there wasn't a significant difference in the outcomes of the statistical analysis. When we compared MDS patients to healthy controllers by dividing into two in terms of risk groups, percentages of perifer Treg cells is higher in the second group than that in the first group whereas in healthy groups it is lower than that in the first and second groups; however, it was discovered that there wasn't a significant difference in the outcomes of the statistical analysis. When percentages of bone marrow Treg cells in the first and second group of MDS patients were compared, it was found to be higher in the second group but it was found out that there wasn't a significant difference in the outcomes of the statistical analysis. When percentages of perifer CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells of MDS patients of first and second groups and healthy group were compared, it was discovered that there wasn't a significant difference in the outcomes of the statistical analysis. When percentages of bone marrow CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells between MDS patients of first and second groups were compared, it was found out that there wasn't a significant difference in the outcomes of the statistical analysis, either.

**Keywords:** Myelodysplastic Syndrome, Tregs, Foxp3

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin hazırlanışı sırasında desteğiyle her zaman yanımda olan tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Ayşen TİMURAĞAOĞLU'na, her konuda yardımcı olan Prof. Dr. Levent ÜNDAR'a ve Prof. Dr. İhsan KARADOĞAN'a,

Hasta grubumun oluşturulması aşamasında bana yardımcı olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı doktorlarına,

Özel Hematoloji laboratuvarındaki çalışma arkadaşlarıma, Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına ve istatistiksel analizlerdeki yardımlarından dolayı Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Arş.Gör. Selen BOZKURT'a ve Arş.Gör. Anıl AKTAŞ'a

Tez dönemi boyunca desteklerini esirgemeyen değerli aileme çok teşekkür ederim.

Arş.Gör. Seçil DOĞAN

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	<b>vii</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>ix</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>xi</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	<b>xiii</b>
<b>GİRİŞ ve AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
<b>2.1.</b> Myelodisplastik Sendromun Etiyoloj	<b>3</b>
<b>2.2.</b> Patogenez	<b>4</b>
<b>2.3.</b> Klinik	<b>4</b>
<b>2.4.</b> Sınıflandırma	<b>5</b>
<b>2.4.1.</b> Mds Alt Grupları	<b>6</b>
<b>2.5.</b> Bağışıklık sistemi	<b>7</b>
<b>2.6.</b> İmmünolojik Tolerans	<b>7</b>
<b>2.7.</b> Otoimmünite	<b>8</b>
<b>2.8.</b> T Hücrelerinde Merkezi Tolerans	<b>8</b>
<b>2.8.1</b> Periferik T Lenfosit Toleransı	<b>8</b>
<b>2.9.</b> B Lenfosit Toleransı	<b>9</b>
<b>2.9.1.</b> Merkezi B Lenfosit Toleransı	<b>9</b>
<b>2.9.2.</b> Periferik B Hücre Toleransı	<b>9</b>
<b>2.10.</b> Düzenleyici T Hücreleri ve İmmün Sistemin Kontrolünün Mekanizmaları	<b>9</b>
<b>2.10.1.</b> Doğal Olarak Oluşan CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Regülatör T Hücreler	<b>11</b>
<b>2.10.2.</b> Uyarılmış Treg Hücreler	<b>12</b>
<b>2.10.3.</b> Tr1 iTreg Hücreler	<b>12</b>
<b>2.10.4.</b> Th3 iTreg Hücreler	<b>12</b>
<b>2.10.5.</b> Diğer Düzenleyici T Hücreler	<b>12</b>
<b>2.10.6.</b> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Treg Hücrelerin Moleküler Karakteristikleri	<b>12</b>
<b>2.10.6.1.</b> CD25	<b>12</b>
<b>2.10.6.2.</b> Forkhead Box P3 (FOXP3)	<b>13</b>
<b>2.10.6.3.</b> GITR (Glucocorticoid-İnduced Tumor Necrosis Factor Receptor Family- Related Gene)	<b>13</b>
<b>2.10.6.4.</b> CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocyte Associated 4=CD152)	<b>13</b>
<b>2.10.6.5.</b> İntegrin $\alpha E\beta 7$	<b>14</b>
<b>2.10.6.6.</b> Lenfosit Aktivasyon Gen-3 (LAG-3)	<b>14</b>

2.10.6.7.	Programlanmış Ölüm Reseptörü-1 (PDR-1)	14
2.10.6.8.	Nörofilin-1 (NRP-1)	14
2.10.7.	Düzenleyici T Hücrelerinin Etki Mekanizmaları	15
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>		<b>16</b>
3.1.	Hastalar	16
3.2.	Akış sitometrik analiz	16
3.3.	İstatistiksel Değerlendirme	17
<b>BULGULAR</b>		<b>18</b>
4.1.	Hastaların Genel Özellikleri	18
4.2.	Akış sitometri sonuçları	18
<b>TARTIŞMA</b>		<b>31</b>
<b>SONUÇLAR</b>		<b>34</b>
<b>KAYNAKLAR</b>		<b>35</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>		<b>39</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AMP</b>	: Adenozin Mono Fosfat
<b>APC</b>	: Allophycocyanin
<b>ASH</b>	: Antijen Sunan Hücre
<b>APC-Cy7</b>	: Allophycocyanin-Cyanine 7
<b>CTLA-4</b>	: Cytotoxic T Lymphocyte Associated 4 (Cd 152)
<b>Dk</b>	: Dakika
<b>FAB</b>	: French American British
<b>FITC</b>	: Fluorescein İsothiocyanate
<b>FoxP3</b>	: Forkhead Box P3
<b>GITR</b>	: Glukokortikoidle İndüklenen Tumor Necrosis Factor Reseptörü
<b>HLA</b>	: Human Leukocyte Antigene
<b>IDO</b>	: Indolamin
<b>Ig</b>	: İmmünglobulin
<b>IL</b>	: Interleukin
<b>IPEX</b>	: Immune Dysregulation Polyendocrinopathy Enteropathy X- linked
<b>IPSS</b>	: International Prognostic Scoring System
<b>iTreg</b>	: İndüklenmiş Düzenleyici T hücre
<b>KMML</b>	: Kronik Myelomonositik Lösemi
<b>LAG-3</b>	: Lenfosit Aktivasyon Gen-3
<b>MDS</b>	: Myelodisplastik Syndrome
<b>MDS-5q</b>	: Myelodisplastik Sendrom - 5q Del Sendromu
<b>MHC</b>	: Major Histocompatibility Complex
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mRNA</b>	: Messenger Ribonucleid Asid
<b>NK</b>	: Naturel Killer
<b>PDR-1</b>	: Programlanmış Ölüm Reseptörü-1
<b>PE</b>	: Phyco Eritrin

<b>PE-Cy7</b>	: Phycoerythrin- Cyanine 7
<b>PERCP</b>	: Peridinin Chlorophyll Protein
<b>RA</b>	: Refrakter Anemi
<b>RARS</b>	: Refrakter Anemi ve Ringed Sideroblast
<b>RAEB</b>	: Refrakter Anemi ve Excess Sideroblastlar
<b>RAEB-T</b>	: Refrakter Anemi Transformasyonda Büyük Blast
<b>RCMD</b>	: Refrakter Sitopeni Multi Lineage Displazi
<b>TCR</b>	: T Cell Receptor
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Tumor Growth Factor –Beta
<b>Th1</b>	: T Helper 1
<b>Th2</b>	: T Helper 2
<b>Tn</b>	: Naif
<b>Tp</b>	: Timik prekürsör
<b>TNFRSF</b>	: Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily
<b>Tr1</b>	: T Regulatory 1
<b>Tr3</b>	: T Regulatory 3
<b>Treg</b>	: T Regulatory (Düzenleyici)
<b><math>\mu</math>L</b>	: Mikrolitre
<b>WHO</b>	: World Health Organization

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
2.1. Düzenleyici T hücre farklılaşması	11
2.2. ASH – T hücre etkileşimi	14
2.3. Treg'lerin etki mekanizmaları	15
4.1. Sağlıklı kontrollerde ve MDS hastalarında perifer CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> hücre yüzdeleri	19
4.2. MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> hücre yüzdeleri	20
4.3. MDS RA grubuna ait bir olgunun perifer T hücrelerinin akış sitometri görüntüsü	21
4.4. MDS RAEB grubuna ait bir olgunun perifer T hücrelerinin akış sitometri görüntüsü	22
4.5. Sağlıklı kontrol grubuna ait bir kişinin perifer T hücrelerinin akış sitometri görüntüsü	22
4.6. MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> ve CD8 <sup>+</sup> T hücre gruplarının yüzdelerinin ortalamaları	23
4.7. MDS RA grubuna ait bir olgunun perifer CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> ve CD8 <sup>+</sup> T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü	24
4.8. MDS RAEB grubuna ait bir olgunun perifer CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> ve CD8 <sup>+</sup> T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü	24
4.9. Sağlıklı kontrol grubuna ait bir kişinin perifer CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> ve CD8 <sup>+</sup> T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü	25
4.10.MDS 1.grup ve 2.grup hastalarında kemik iliği CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> hücre yüzdeleri	26
4.11. MDS RA grubuna ait bir olgunun kemik iliği T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü	27

<b>4.12.</b> MDS RAEB grubuna ait bir olgunun kemik iliği T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü	<b>28</b>
<b>4.13.</b> MDS 1.grup ve 2.grup hastalarının kemik iliği CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> ve CD8 <sup>+</sup> T hücre gruplarının yüzdelerinin ortalamaları	<b>29</b>
<b>4.14.</b> MDS RA grubuna ait bir olgunun kemik iliği CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> ve CD8 <sup>+</sup> T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü	<b>30</b>
<b>4.15.</b> MDS RAEB grubuna ait bir olgunun kemik iliği CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> ve CD8 <sup>+</sup> T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü	<b>30</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa No
2.1. MDS'da WHO Sınıflandırması	5
2.2. Treg hücre grupları ve özellikleri	10
4.1. Çalışma grubunun genel özellikleri	18
4.2. Sağlıklı kontrollerde ve MDS hastalarında perifer CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> hücre yüzdelerinin karşılaştırılması	19
4.3. MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> hücre yüzdelerinin karşılaştırılması	20
4.4. MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer T hücre gruplarının yüzdelerinin karşılaştırılması	21
4.5. MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> ve CD8 <sup>+</sup> T hücre gruplarının yüzdelerinin karşılaştırılması	23
4.6. MDS 1.grup ve 2.grup hastalarının kemik iliği CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> hücre yüzdelerinin karşılaştırılması	26
4.7. MDS 1.grup ve 2.grup hastalarının kemik iliği T hücre gruplarının yüzdelerinin karşılaştırılması	27
4.8. MDS 1.grup ve 2.grup hastalarının kemik iliği CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> ve CD8 <sup>+</sup> T hücre gruplarının yüzdelerinin karşılaştırılması	29

## GİRİŞ VE AMAÇ

Myelodisplastik Sendrom, sitopeni veya sitopenilerle, bir veya birden fazla majör myeloid hücre serisinde displazinin olduğu inefektif hematopoezle karakterize akut myeloid lösemi riskinin arttığı bir grup hematopoetik kök hücre hastalığıdır. Hematopoetik kök hücrelerin olgunlaşma aşamasında ortaya çıkan proliferasyonundaki çeşitli bozukluklardan kaynaklanan kemik iliği hastalığıdır. Hücrelerde morfolojik anormaliteler ve displastik değişiklikler vardır. MDS'in sebebi tam olarak bilinmemektedir. Genetik ve çevresel faktörler, alkilleyici ajanlar, bazı hastalıklarda yüksek doz radyoterapi uygulanması gibi faktörlerin hastalığa neden olduğu düşünülmektedir.

Myelodisplastik Sendromun morfolojik olarak sınıflaması yapıldıktan sonra primer veya sekonder MDS olarak ayrımı yapılır. Primer MDS daha çok ileri yaşta olmak üzere herhangi bir yaşta meydana gelebilir. Erkeklerde kadınlara göre daha sık görülür. Sekonder MDS daha çok gençlerde görülür.

Regülatör T hücreler otoimmün hastalıkların ve transplant rejeksiyon gelişiminin önlenmesinde rol alan önemli hücrelerdir. Treg'ler immün cevapta rol oynayan diğer hücrelerin fonksiyonlarını inhibe ederek immün cevabı kontrol edebilirler. Regülatör T hücreleri hakkında elde edilen yeni bilgiler doğrultusunda kalıcı tedavilere biraz daha yaklaşılmıştır.

Düzenleyici T hücreleri başlıca iki grup altında incelenmektedir. Bir grup doğal CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> düzenleyici T hücreleri olarak adlandırılmıştır. Düzenleyici T hücreleri (nTreg) timusta üretilip baskılayıcı T fonksiyonlarını periferde antijenle karşılaşmadan önce kazanmaktadırlar. nTreg'ler TCR pozitif seleksiyon sonrası sınıf II MHC öz peptidlere kuvvetli şekilde bağlanan hücre tipidir. Diğer grup ise adaptif Treg olarak adlandırılan ve periferde belli şartlar altında oluşan hücre tipidir. Daha sonra Regülatör T hücreleri üzerinde yoğunlaşan çalışma ve gözlemlerle diğer düzenleyici hücre tipleri belirlenmiştir. Bunlar CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>T, IL-10 salgılayan Tr1, TGF-β salgılayan Tr3, Qa1-restricted CD8, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T, CD8<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup> T, Yδ T ve doğal öldürücü T hücreleri olmak üzere birçok alt sınıfta detaylı olarak incelenmiştir.

İmmün disregülasyon, poliendokrinopati, X ilişkili sendrom (IPEX) yada Foxp3 geninde mutasyon olan hastalarda otoimmün hastalıkların yada yiyecek alerjisi ve egzamanın gelişmesi Foxp3 eksprese eden düzenleyici T hücrelerinin hem otoimmünitenin düzenlenmesinde hemde eksojen alerjenlere karşı alerjik yanıtın düzenlenmesinde önemli bir rol oynadıklarını göstermektedir.

MDS immün sistemin otoimmün bozuklukları etkilediği bazı alt gruplarında immünespresif tedaviden fayda sağlandığı bilinen bir hastalıktır. Foxp3<sup>+</sup> T regülatör hücreler ise immün tolerasta önemli rol oynayan ve otoimmün hastalıklarda

fonksiyonlarında bozulma olduğu gösterilmiş olan T hücre alt grubunu oluşturmaktadır.

Bizim amacımız otoimmün bozukluğun eşlik edebildiği "pre malign" kabul edilen bir grup hastalığı oluşturan MDS'de Treg hücrelerin etkilenip etkilenmediğini MDS alt gruplarına göre ayırarak göstermektir.

MDS olgularını iki gruba ayırmayı planladık. 1. gruba RA, RCMD 2. gruba RAEB (1 ve 2) olgularını alındı. RARS ve 5q del sendromuna nadir rastlandığı için bu tanılarla karşılaştığımızdan 1.gruba alındı. Çalışmaya 26 MDS hastası ve 26 sağlıklı kontrol alındı. Çalışmaya alınan hasta grubunda ve sağlıklı kontrol grubunda CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Treg hücrelerle, baskılayıcı CD3, yardımcı CD4 ve sitotoksik CD8 T hücre alt gruplarını araştırdık.

## GENEL BİLGİLER

Myelodisplastik Sendrom, periferik kanda sitopeni veya sitopenilerin eşlik ettiği, hiperselüler yada normoselüler kemik iliğinde inefektif hematopoezle karakterize, klonal bir hastalıktır. Klinik, morfolojik ve deneysel çalışmalarda MDS'da pluripotent kök hücrede eksiklik olduğu gösterilmiştir. Hücrelerde morfolojik anormaliteler ve displastik değişiklikler vardır. MDS içinde değerlendirilen bazı alt guruplarında lösemiye dönüşüm olmaktadır.

1930'lu yıllarda Wilkinson ve Israel tarafından akrestik anemi, 1932'de Peterson ve Hamilton tarafından prelösemi, 1950'lerde myelodisplazi gibi adlarla anılan bu anemi grubu refrakter anemi, prelösemik anemi, sideroblastik anemi, smoldering lösemi, sublösemi ve hipersellüler kemik iliği ile seyreden panmyelopati gibi değişik isimler almıştır.

Myelodisplastik Sendromun morfolojik olarak sınıflaması yapıldıktan sonra primer veya sekonder MDS olarak ayrımı yapılır. Primer MDS daha çok ileri yaşta olmak üzere herhangi bir yaşta meydana gelebilir. Erkeklerde kadınlara göre daha sık görülür. Sekonder MDS daha çok gençlerde görülür. Tedaviye bağlı olarak gelişebilir.

Myelodisplastik Sendrom genellikle yaşlı bireylerde daha çok görülmektedir. Erkeklerde kadınlara göre daha çok görülmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde yıllık insidens 12.000 yada her 100.000 kişide yaklaşık 6-10 olgu olarak belirtilmiştir. Bu insidens yaşlılık ile artmaktadır, 70 yaş üzerinde 20-30'a ve 80'li yaşlarda ise 65-100 gibi değerlere ulaştığı bildirilmiştir. Dünyada ise genel olarak insidens farklılıkları olmadığı fakat alt tip sınıflandırmalar ve hastalık median yaş farklılıkları olduğu kabul edilmektedir.

### 2.1. Myelodisplastik Sendromun Etiyolojisi

#### ▪ İmmünolojik Faktörler

MDS'de kemik iliğindeki displazinin apoptoz ve sitokinlerle ilgili olduğu gösterilmiştir. TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 ve TGF- $\beta$ 'nin hematopoetik dokuda apoptozise, sonuç olarak displaziye neden olduğu belirtilmektedir. Bazı MDS'li hastalarda sellüler ve humoral immün anormallikler saptanmıştır. Hastalarda CD4<sup>+</sup> T lenfositlerin sayısında azalma vardır. CD8<sup>+</sup> T lenfositlerin sayısı ise normaldir yada artmıştır. Mutlak lenfosit sayısındaki azalma natürel killer (NK) hücrelerinin sayısındaki azalma ile orantılıdır (1,2,3).

İmmunglobulin yapımı genellikle normaldir. Hastaların 1/3'ünde poliklonal hipergammaglobulinemi, 1/8'inde monoklonal gamopati vardır (3). KMML'li hastalarda eritrosit antijenine karşı antikor bulunmuştur.



### ▪ Genetik Faktörler

En çok görülen sitogenetik anomaliler 5ve 7 nolu kromozomun kısmi yada tüm kaybı, trizomi 8, del 17p, del 20q X ile Y kaybıdır. Diğer önemli genetik özellikler ise del13, 3q anomalileri veya RAS mutasyonu, p15 metilasyonu, p53 mutasyonudur. Özellikle monozomi 7 çocuklarda MDS'in insidansı artmıştır.

### ▪ Çevresel Faktörler

Benzen ve radyasyon MDS'a neden olmaktadır.

### ▪ Sekonder MDS

Tedavi amacıyla kullanılan alkilleyici ajanlar ve bazı hastalıklarda yüksek doz radyoterapi uygulanması sekonder MDS'a neden olmaktadır.

## 2.2 Patogenez

Myelodisplastik Sendromda, çevresel yada kalıtsal faktörler neoplastik kök hücre klonu gelişmesinde etkili olurlar. MDS hücre klonu apoptoza yatkınlığı olan birçok değişmiş gen fonksiyonu ile karakterizedir. Apoptoz artışına ikincil olarak gelişen inefektif hematopoez hiperselüler kemik iliğine rağmen periferde saptanan sitopenide rol oynadığı kabul edilmektedir. MDS klonu immün sistem tarafından da tanımlanabilir. Gelişen klonal T hücre proliferasyonu ve TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 ve TGF- $\beta$ 'nın hematopoetik dokuda apoptoza ve sonuçta displaziye sebep olduğu belirtilmektedir (4).

## 2.3. Klinik

MDS genel olarak ileri yaşta kişilerde görülür. En sık görülen şikayet anemiye bağlı halsizliktir. Nefes darlığı ve çarpıntı ile birlikte olabilir. Bazı hastalarda baş dönmesi, göz kararması, kulaklarda işitme azlığı olabilir. Kol ve bacak ağrısı ya da uyuşması da olabilir. Bazı hastalar enfeksiyonlara kolay yakalanır. Enfeksiyonlar üst veya alt solunum yollarında daha siktir. Ancak deri veya idrar yollarında da oluşabilir. Nadiren MDS'li hastalarda kan hücrelerinin yıkılması sonucu oluşan idrarda koyulaşma ve gözlerin beyaz kısmında sararma oluşabilir. Gece terlemesi ve ateş meydana gelebilir. Bu şikayetler ile hekime başvuran hastanın muayenesinde deride, dudaklarda solukluk vardır. Bazı hastalarda boyun ve koltuk altlarında ya da kasıklarda lenf bezlerinde büyüme bulunabilir. Karaciğer veya dalak büyük saptanabilir. Kol veya bacaklarda küçük kanama odakları gözlenebilir. Ateşi olan hastalarda enfeksiyon bölgesi ile ilgili belirtiler bulunabilir. Tam kan sayımında kırmızı kan hücrelerinde azalma hemen tüm hastalarda vardır. Beyaz kürelerde ve trombositlerde azalma gözlenebilir. Periferik yayma ile kan hücreleri hakkında bilgi sahibi olunur. Burada kırmızı kan hücreleri, beyaz küre ve kan pulcuklarının sayı ve görünümleri hekime teşhis koymada yardımcıdır. Teşhisin kesinleşmesi için tetkiklere ihtiyaç olabilir. Bunlar kemik iliği aspirasyonu, biyopsisi, sitogenetik, immünofenotipik incelemelerdir.

**Tanı:** MDS tanısı periferik yayma ve kemik iliği incelemesi ile konulur.

**Periferik kan:** MDS'li hastalarda sitopeni bir veya daha fazla seride olabilir. Ortalama eritrosit hacmi normal veya artmıştır. Anizositoz, bazofilik noktalanma ve hemoglobin beta zincir presipitasyonuna bağlı olarak inklüzyon cisimciklerinin varlığı görülebilir. Hemoglobin F'de artma olabilir. Kan grubu antijenlerinde artma olabilir (5,6). Olgun nötrofiller hipolobüler nukleus içerebilir (Psödo Pelger Huet anomalisi). İntrasitoplazmik granüller çok azdır yada hiç yoktur. İmmatür granülositler periferik kanda görülebilir (7).

**Kemik iliği:** MDS'de kemik iliği normal veya hiperselülerdir. Eritroid seride displastik şekiller görülür. Preparatlar demir boyası ile boyandığında ring sideroblastlar görülebilir. Nukleostoplazmik olgunlaşma uygunsuzluğu, eritroblastların içinde çekirdek artıkları, bazofilik noktalanma ve nükleer fragmentasyon görülür (8). Megakaryositler genellikle küçüktürler bazende megakaryoplast görünümünde olabilirler (9,10). Mononükleer, multinükleer megakaryositler olabilir. Granülositik seride blastlar artmış olabilir.

#### 2.4. Sınıflandırma

İlk kez 1976'da Fransız, Amerikan ve İngiliz hematologlar tarafından yapılan ve Dismyelopoyetik Sendrom adında kaydedilen ilk yayında 1) Fazla blastlı refrakter anemi 2) Kronik myelomonositer lösemi olarak iki grup tanımlanmıştır. Fakat bu sınıflama lösemiye ilerlemeyi iyi belirlemediği için aynı grup tarafından 1982'de FAB sınıflaması yayınlanmıştır. Fakat 2002 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) MDS için yeni bir sınıflandırma önermiştir. Günümüzde her iki sınıflamada kullanılmaktadır.

**Çizelge 2.1.** MDS'da WHO Sınıflandırması (42)

1	Refrakter anemi	RA
2	Refrakter anemi, Ringed sideroblastlı	RARS
3	Refrakter sitopeni, multi-lineage displazi	RCMD
4	Dirençli olarak hücre serisinde azalma, birden fazla hücre serisinde azalma	RCMD-RS
5	Blast artışlı Refrakter anemi - 1	RAEB - 1
6	Blast artışlı Refrakter anemi - 2	RAEB - 2
7	İzole 5q- del sendromlu MDS	Mds-5q
8	MDS-u	Sınıflandırılmayan (unklasifiye)

### 2.4.1. Mds Alt Grupları

MDS alttipini belirlemede blast sayısı ve ringed sideroblast sayısı önemlidir.

**Refrakter anemi (RA):** Granülositopeni veya trombositopeni vardır. Retikülosit sayısı azalmıştır. Nötrofillerde granülasyon azlığı vardır. Periferik kanda genellikle blastik hücre yoktur. Nadir olarak %1'in altında blast olabilir. Kemik iliğinde blastik hücre oranı %5'den azdır. RA'lı olgular MDS'in %17'sini oluşturur (11).

**Refrakter Anemi Ring Sideroblast (RARS):** Eritrositler makrositer karakterdedir. Eritrosit öncü hücrelerinin sitoplazmaları lameller yapı gösterir. Kemik iliğinde ring sideroblast oranı %15'den fazladır (11,12).

**Kronik Myelomonositik Lösemi (KMML):** Periferik kandaki monosit sayısında belirgin artış vardır. Periferik kan ve kemik iliği hücrelerinde displazi ve kromozom anormallikleri görülebilir (13).

**Aşırı Blastla Birlikte Olan Refrakter Anemi (RAEB):** Nötrofiller hipogranüler yada agranülerdir. Trombositopeni sık görülür. Periferik kanda blastik hücre oranı %5'den azdır. Kemik iliğinde blast oranı %5-20'dir.

**Transformasyondaki Aşırı Blastla Birlikte Olan Refrakter Anemi (RAEB-t):** Periferik kanda blastik hücre oranı %5-20'dir. Kemik iliğinde ise blastik hücre oranı %21-30'dur.

**5q del sendromu:** 5q del sendromu olarak tanımlanan grup, tedaviye dirençli makrositik anemi, normal yada artmış trombosit sayısı, morfolojik anormallik gösteren artmış megakaryosit varlığıyla daha ilımlı bir klinik gidiş ile karakterizedir.

**MDS-u:** Tanımlanan gruplarla uyumlu olmayanlar, sınıflandırılmayan MDS grupları olarak sisteme eklenmiştir.

## 2.5. Bağışıklık sistemi

Bağışıklık sistemi, çeşitli bakteri, virüs, mantar, parazit ve diğer birçok zararlı kimyasal madde içeren, bizden olanı olmayandan ayırabilen ve bizden olmayana karşı özgü bir yanıt oluşturur. Yani doğada olan veya yeni oluşan bütün antijenik özelliğe sahip maddeye özgül yanıt geliştirebilme özelliğine sahiptir. Bağışıklık sistemi algılar, tanır, öğrenir ve hatırlar.

Bağışıklık sistemi, hemen hemen bütün yabancı antijenleri yada antijen taşıyan hücreleri tanıyabilir ve ortadan kaldırabilir ancak organizmanın kendine ait hücrelerin antijenleriyle yabancı antijenleri birbirine karıştırmaması gerekir. Doku nakli deneyleri, kendinden olanın tanınması yada kendinden olana hoşgörü gösterme özelliğinin, bağışıklık sisteminin erken embriyonik gelişme aşamasında kazandığı bir özellik olduğunu ortaya koymuştur: bir organizmaya ait doku parçası başka bir erişkin hayvanın vücuduna nakledildiğinde yada derisine yerleştirildiğinde, alıcının bağışıklık sistemi hemen daima vericinin antijenlerine karşı reaksiyon vererek nakledilen dokuyu reddeder. Fakat yabancı doku: alıcının bağışıklık sistemi henüz vücudun kendi hücrelerini tanıma konusunda yeterli deneyimi edinmeden önce yani doğum öncesi evrede nakledildiğinde kabul edilir. Bu bireyin bağışıklık sistem, erişkin dönemde iken bile aynı vericiden nakledilen dokuyu kabul eder.

Bağışıklık sistemi 4 aşamada görevini tamamlamaktadır.

1. Yabancı olanın algılanması ve tanınması. Bu tanıma T ve B lenfositlerinin yüzeyinde bulunan resöptörler aracılığıyla olmaktadır.
2. Ajana yönelik yanıtta önemli rol oynayan aktif moleküllerin yapımı yada zaten var olanların aktive edilmesi. Komplemen sistemi, antikorlar, interlökinler, kemotaktik faktörler, lökotrienler ve birçok aktif maddeyi örnek verebiliriz.
3. Etkin hücrelerin ajanın girdiği bölgede toplanmaları. Bu hücrelere nötrofiller, eozinofiller, monosit veya makrofajlar, lenfositleri örnek verebiliriz.
4. Ajanın fagositoz, sitolizis, hücresel toksisite gibi mekanizmalarla yok edilmesi.

Bu olaylar dizisindeki herhangi bir eksiklik, aksama, düzensizlik veya hata; tekrarlayan enfeksiyonlardan malignite gelişimine yatkınlığa veya otoimmüniteye neden olan olayların gelişimine neden olmaktadır (14).

## 2.6. İmmünolojik Tolerans

Normal bir immün sistemin belirgin özelliklerinden biri, birçok mikroba karşı yanıt oluştururken bireyin öz antijenlerine karşı yanıt oluşturmamasıdır. Öz antijenlerine yanıtızsızlık durumuna immünolojik tolerans denir. Bir antijene özgül reseptörü olan lenfosit, o antijenle karşılaştığında üç olasılıktan biri meydana gelir. Lenfosit etkili konuma geçer ve immün yanıt gelişir. Lenfositler işlevsel olarak etkisiz kılınır veya öldürülürler ve sonuç olarak, o antijene tolerans gelişir. Bazı durumlarda antijene özgül lenfositler bu iki durumda göstermezler antijeni yok sayarlar, antijen yokmuş gibi davranırlar. Aktivasyon, tolerans yada yok sayma

yanıtı, antijene özgül lenfositin tipi, antijenin yapısı, immün sisteme nasıl sunulduğuna göre değişir (15).

## **2.7. Otoimmünite**

Otoimmünite, öz (otolog) antijenlere yönelik immün aktivasyon yanıtı geliştirmeyi tanımlar. İmmün tolerans herhangi bir nedenle zayıflarsa; konak, öz antijenlerine karşı oluşan otoantikor veya öz antijenlerine karşı duyarlanmış sitotoksik lenfositleri aracılığıyla, kendi hücre ve dokularına yönelik bir reaksiyon göstermeye başlayabilir. Böyle bir durum, doku ve organlarda hasarlanmaya veya belirgin fonksiyon bozulmasına yol açarsa, birtakım otoimmün hastalıklar ortaya çıkabilir. Otoimmün hastalıklarda, hastalık tablosunun ortaya çıkmasındaki mekanizmalar 4 temel gruba ayrılabilir (14).

- 1.** Antikorum oto antijene veya değişmiş antijene bağlanması ve bunun sonucu aktive olan komplemanında olaya katılmasıyla veya antikora bağımlı sitotoksikite yoluyla hücre veya dokuların zedelenmesi.
- 2.** Reseptörlere yönelik oto antikorum reseptörlere bağlanması sonucu reseptörün uyarılması veya reseptörün normal uyarıyı almasının engellenmesi sonucu o reseptörün işlevini fazla yapması veya yapamaması.
- 3.** Oto antijen ile antikor kompleksinin oluşması ve bu kompleksin vücudun değişik bölgelerinde çökmesi sonucu oluşan komplemanın aktivasyonu, nötrofil, makrofaj birikimi ve sonuçta doku zedelenmesi.
- 4.** Oto antijene karşı duyarlanmış T hücrelerinin doku yıkıcı interlökinler salması veya direkt sitotoksik etki göstermeleri sonucu doku yıkımına yol açmaları.

Günümüzde otoimmün hastalıkların temel mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Otoimmün hastalıkların gelişmesinde; genetik yatkınlık, araya giren enfeksiyonlar, hormonlar, ilaçlar, HLA-antijenleri, moleküler benzerlikler, immün sistem hataları gibi birçok faktörle yakın ilişki gösterdiği bilinmektedir.

## **2.8. T Hücrelerinde Merkezi Tolerans**

Timusta olgunlaşmamış T hücresi MHC'ye bağlı olarak sunulan öz antijenlerle kuvvetli etkileşime girerse apoptozu tetikleyen sinyal alır ve henüz olgunlaşmasını tamamlamadan ölür. Bu olay negatif seçim yada elenme şeklinde tanımlanmaktadır. Bu durum merkezi toleransın esas düzeneğini oluşturur. Merkezi toleranstan, hem antijenik peptidi MHC sınıf I antijenleri üzerinde algılayan öze tepkili CD8<sup>+</sup> hemde MHC sınıf II antijenleri üzerinde algılayan öze tepkili CD4<sup>+</sup> T hücreleri etkilenir.

### **2.8.1. Periferik T Lenfosit Toleransı**

Periferik tolerans, olgunlaşmış perifere çıkmış T lenfosit öz antijenleri tanıdığı anda oluşmaktadır. Sonuç olarak anergi veya ölüme neden olur veya düzenleyici T hücreleri tarafından öze tepkili lenfositler baskılanır. Periferik tolerans, temelde periferik dokularda olan, öz antijenlere T hücre yanıtının önlenmesinde önemlidir.

## **2.9. B Lenfosit Toleransı**

T hücrelerinin tanımadığı T bağımsız antijenler öz polisakkaritler, lipidler ve nükleik asitlerdir. Bu antijenlerin, otoantikor yapımının engellenmesi için B lenfosit toleransı oluşturmaları gerekmektedir.

### **2.9.1. Merkezi B Lenfosit Toleransı**

Kemik iliğindeki olgunlaşmamış B lenfositler öz antijenlere kuvvetle bağlanırsa negatif seçim yoluyla öldürülür veya reseptörlerinin özgüllüğünü değiştirirler. Olgunlaşmamış B hücreleri, yaygın olarak eksprese edilen hücre zarı veya çözünür öz antijenlere yüksek afiniteli algaçlarla bağlanması sonucunda elenirler. Olgunlaşmamış B lenfositleri otoimmüniteyi engellemek için ikinci bir mekanizma kullanırlar. B hücreleri, kemik iliğinde öz antijenleri tanıdığına, immünoglobülin genleri yeniden düzenleyerek yeni bir Ig gafif zinciri yapabilirler. Yeni yapılan hafif zincir daha önceden düzenlenmiş ağır zincirle birleşerek önceki öz antijenlere özgül olmayan yeni bir algaç oluşturabilirler. B lenfositlerinin bu iki mekanizmadan birini seçme kararını nasıl verdiği bilinmemektedir.

### **2.9.2. Periferik B Hücre Toleransı**

B lenfosit, periferik dokularda yüksek yoğunlukta öz antijenlerle karşılaşınca anerjik duruma geçer. Bu durumda o antijene bir daha yanıt vermez. Anerjik durumdaki B lenfositleri, lenfoid foliküllerini terk edebilir yada daha sonra lenfoid foliküllerinden dışlanabilir ve yaşamsal uyarıları alamadıkları için ölürler.

## **2.10. Düzenleyici T Hücreleri ve İmmün Sistemin Kontrolünün Mekanizmaları**

Düzenleyici T hücreleri başlıca iki grup altında incelenmektedir. Bir grup doğal CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> düzenleyici T hücreleri olarak adlandırılmıştır. Düzenleyici T hücreleri (nTreg) timusta üretilip baskılayıcı T fonksiyonlarını periferde antijenle karşılaşmadan önce kazanmaktadırlar. nTreg'ler TCR pozitif seleksiyon sonrası sınıf II MHC öz peptidlere kuvvetli şekilde bağlanan hücre tipidir. Diğer grup ise adaptif Treg olarak adlandırılan ve periferde belli şartlar altında oluşan hücre tipidir.

Doğal Treg hücrelerinin timusta kendi antijenlerine maruz kalarak pozitif seleksiyon ile seçildikleri bilinmesine rağmen, alerjene özgü adaptif Treg hücreleri eksojen alerjenlerle karşılaştıktan sonra, timustan ziyade periferde oluşurlar. Bu durum, adaptif Treg hücrelerinin doğal Treg hücrelerinden farklı yollarla oluştuğunu göstermektedir. Adaptif Treg hücreleri, doğal Treg hücrelerinin kaynak aldığı aynı Treg hücre dizisinden kaynaklanıyor ve timusta farklılaşarak ancak alerjenle karşılaştıktan sonra perifere çıkıyor olabilirler.

İmmün disregülasyon, poliendokrinopati, X ilişkili sendrom (IPEX) yada Foxp3 geninde mutasyon olan hastalarda otoimmün hastalıkların yada yiyecek alerjisi ve egzamanın gelişmesi Foxp3 eksprese eden düzenleyici T hücrelerinin hem otoimmünitenin düzenlenmesinde hemde eksojen alerjenlere karşı alerjik yanıtın düzenlenmesinde önemli bir rol oynadıklarını göstermektedir.

Daha sonra düzenleyici T hücreleri üzerinde yoğunlaşan çalışma ve gözlemlerle diğer düzenleyici hücre tipleri belirlenmiştir. Bunlar CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>T, IL-10

salgılayan Tr1, TGF- $\beta$  salgılayan Tr3, Qa1-restricted CD8, CD8+CD28<sup>-</sup> T, CD8<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup>T, Y $\delta$  T ve doğal öldürücü T hücreleri olmak üzere birçok alt sınıfta detaylı olarak incelenmiştir (16,17).

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücreleri CD25 eksprese eden aktif T hücrelerden ayırmak oldukça zordur. Çünkü CD25 yüzey belirteci aktive olmuş T hücreleri ve birçok hücre tarafından taşınmaktadır. bu yüzden düzenleyici T hücrelerini, CD25 taşıyan diğer hücre tiplerinden ayırmak için farklı belirteçlerin varlığına ihtiyaç duyulmuştur. Bu belirteçlerden en önemlisi forkhead winged helix P3 (Foxp3) transkripsiyon faktörüdür. Foxp3<sup>-/-</sup> farelerin otoimmün hastalıkları geliştirdiği düzenleyici T hücrelerinin ortaya çıkmasından önce bilinmekteydi. 2003 yılında Hori ve arkadaşları (25) yaptıkları çalışmada naif T hücrelerini Foxp3 kodlayan geni taşıyan retrovirüslere transdükte ettiklerinde, naif T hücrelerinin düzenleyici T hücrelerine dönüştüğünü göstermişler ve sitotoksite deneyleriyle in vivo ve in vitro etkinliklerini bildirmişlerdir. Treg hücrelerini diğer hücrelerden ayırmak için kullanılan kullanılan ek belirteçler GITR, CTLA-4, PD-1, CD40, B7-H1, B7-H4, OX40, FR-4 olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (17,18,32,36,37).

**Çizelge 2.2.** Treg hücre grupları ve özellikleri (21)

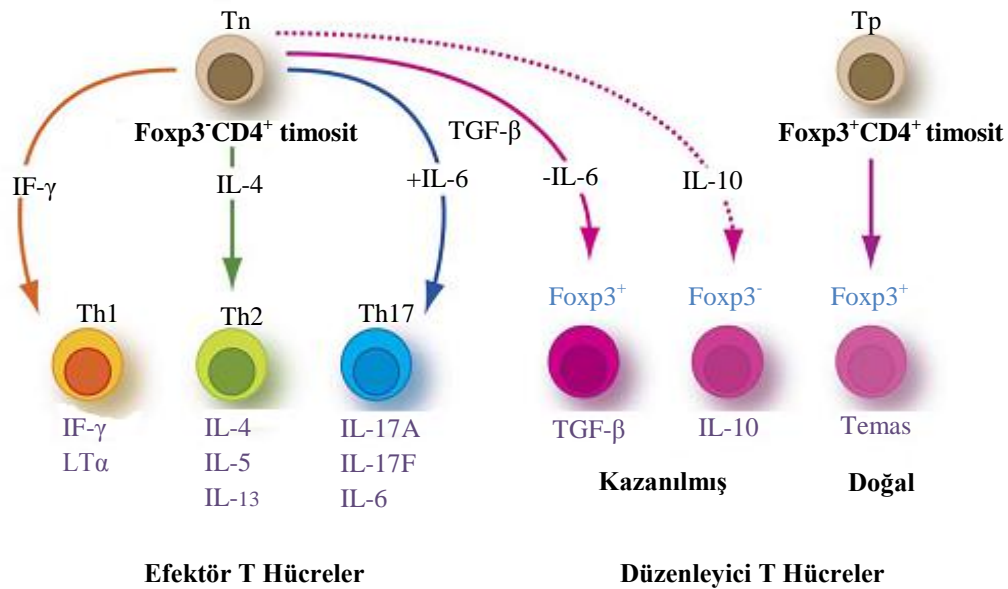
Treg çeşitleri	Orjini	Fenotip	FoxP3	Supresyon Mekanizması
CD25 <sup>-</sup> Treg	Bilinmiyor	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>-</sup>	Var	Bilinmiyor
Doğal oluşan CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	Timus (perifer)	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	Var	Hücre-hücre etkileşimi IL-10 salınımı TGF- $\beta$ salınımı CTLA-4
iTreg	Perifer	CD4 <sup>+</sup>	Yok	Hücre-hücre etkileşimi IL-10 salınımı
Tr1-Treg	Perifer	CD4 <sup>+</sup>	Yok	Hücre-hücre etkileşimi TGF- $\beta$ salınımı
Th1	Perifer	CD4 <sup>+</sup>	Yok	IFN- $\gamma$ salınımı Bazende IL-10 salınımı
Th2	Perifer	CD4 <sup>+</sup>	Yok	IL-4 salınımı IL-10 salınımı IL-13 salınımı

### 2.10.1. Doğal Olarak Oluşan CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Regülatör T Hücreler

CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Regülatör T hücre (Treg)'ler timusta gelişirler. Sağlıklı fare ve insanlarda periferik CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin %5-10'unu oluştururlar. Treg'lerin süpresif mekanizmaları açık değildir fakat in-vitro hücre temasına dayalı olduğu kabul edilsede IL-10 ve TGF- $\beta$  gibi sitokinlerinde in vitro etkileri olduğu bildirilmiştir. Doğal Treg hücreleri başlıca; CD25 (interlökin-2 reseptörü), immünoglobülin süperfamilyası üyesi olan sitotoksik T lenfosit ilişkili protein-4 (CTLA-4), tümör nekroz faktörü-sinir hücreleri büyüme faktörü reseptör ailesi proteinlerinin bir üyesi olan glukokortikoid ile indüklenen tümör nekroz faktörü (GITR) ve transkripsiyon faktörü olan FoxP3 moleküllerini eksprese ederler. Birçok çalışmada, CD25 ekspresyonu uyarılmış farelerdeki doğal Treg hücrelerini tanımak için kullanılmıştır fakat CD25'in Treg hücresi belirteci olarak değeri sınırlıdır. Doğal olarak oluşan CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücreler pek çok çevresel uyarıya yanıt verirler. IL-2 baskılama fonksiyonu için gereklidir. Bu durum CD25'in bu hücrelerde fonksiyonel bir rolü olduğunu işaret eder (35).

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücreler ile in vitro ortamda yaratılan baskılama hücre temaslarına bağımlı bir olaydır. GITR'nin hücre etkileşimlerinde rol aldığı düşünülmektedir. Ancak bu olayın doğası tam olarak aydınlatılamamıştır.

Doğal Treg hücreleri muhtemelen TCR-ligand etkileşimleri ve bunlarla birlikte tam olarak bilinmeyen sinyallerin de bulunduğu mekanizmalar ile timusta gelişirler. Bu sinyaller düzenleyici olmayan T hücreleri için gereken sinyallerden farklıdır.



Şekil 2.1. Düzenleyici T hücre farklılaşması (24)



### **2.10.2 Uyarılmış Treg Hücreler**

Bu hücreler antijenin tanınmasından sonra CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T lenfositler tarafından periferde üretilirler. iTreg hücreler sitokinlere bağımlı bir mekanizma ile baskılayıcı özelliklerini gösterirler. iTreg hücreler, naif T lenfositlerin antijen tarafından uyarılması ve ortamda IL-10, IL-4, TGF-β gibi faktörlerin varlığında üretilirler. Tr1 ve Th3 olmak üzere iki alt grubu vardır (19).

### **2.10.3. Tr1 iTreg Hücreler**

Ortamda IL-10 naif T lenfositlerin farklılaşması ile üretilirler. İmmün sistem üzerindeki etkilerini IL-10 salgılayarak yaparlar. Yüksek düzeyde CD25 ve Foxp3 üretimi yapamazlar. Düşük seviyelerde TGF-β ve IFN-γ üretirler. Hücre hücre ilişkisinin baskılanmasına aracılık edemezler (19,28,30).

### **2.10.4. Th3 iTreg Hücreler**

Ortamda TGF-β Th3 hücrelerin varlığında naif T lenfositlerin farklılaşması ile üretilirler. TGF-β üretimi Th3 iTreg hücrelerinin karakteristik özelliğidir. Bu tip regülatör hücreler baskılayıcı etkilerini TGF-β salgısıyla göstermektedir. Th3 hücrelerin TGF-β ile uyarımından sonra CD25 ve Foxp3 üretimleri artar. Th3 hücreler yüzeylerinde CTLA-4 molekülü taşırlar (19,29,30,31,39,40).

### **2.10.5. Diğer Düzenleyici T Hücreler**

Timustan köken alan CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T hücreler, CD8<sup>+</sup> CD28<sup>+</sup> düzenleyici T hücreler, IL-10 ve TGF-β üreten doğal öldürücü (NK) hücreler, γδ T hücreler, αTCR taşıyan T hücreler, antiidiotip aktivitedeki T lenfositler, bazı CD4<sup>-</sup>CD28<sup>-</sup> lenfositler, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> T hücreler ve bazı dendritik hücre alt gruplarının düzenleyici özellikleri vardır.

### **2.10.6. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg Hücrelerin Moleküler Karakteristikleri**

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücreler birçok aktivasyon belirteçleri ile karakterize edilirler. Bunlar CD25, Foxp3, CTLA-4, GITR, αEB7, lenfosit aktivasyon gen-3 (LAG-3), programlanmış ölüm-1 (PD-1) ve nörofilin-1 (NRP-1) belirteçleridir.

#### **2.10.6.1. CD25**

CD25 erken T hücre aktivasyon belirteçidir. CD25'in yüksek ekspresyonu CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücrelerinin özelliğidir. CD25<sup>+</sup> T hücrelerden arındırılmış olan T hücreler immünolojik olarak yetmezlik gösteren farelere enjekte edildiklerinde birçok organda otoimmünite ortaya çıkmıştır. Böylece CD25<sup>+</sup> hücrelerin, organizmanın kendisine karşı gelişen reaktiviteyi engellediği düşünülmüştür. CD25<sup>+</sup> hücreler geri verildiğinde otoimmün hastalıklar engellenmiştir.

### 2.10.6.2. Forkhead Box P3 (FOXP3)

Foxp3, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> doğal Treg hücrelerin gelişimi ve işlevi için çok önemli bir role sahiptir. Foxp3, Treglerin aktivasyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Foxp3, Forkhead/winged-helix ailesinin bir üyesidir. Treg biyolojisinde FoxP3 geninin öneminin keşfedilmesiyle birlikte doğal Treg'ler hakkındaki bilgilerimiz dahada artmıştır. Farelerde hem timus hemde periferdeki CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T hücre popülasyonunda yüksek şekilde eksprese edilir ve ekspresyonu T hücre aktivasyonundan bağımsızdır. Foxp3 ekspresyonu farelerde CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T hücrelerle, insanlarda da CD4<sup>+</sup>CD25<sup>yüksek</sup> hücrelerle korelasyon gösterir. Foxp3, periferel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T hücreler ve CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> timositler tarafından eksprese edilir. İnsanlarda ve farelerde CD8<sup>+</sup> T hücrelerin ve CD25<sup>-</sup> T hücrelerin çok küçük gruplarının Foxp3 ekspresyonu yapabildiği tespit edilmiştir (33,34,38).

Foxp3 geninde oluşan bir mutasyon poliendokrino enteropati X-bağımlı sendrom (IPEX) olarak adlandırılan bir immün düzensizlik sendromunun ortaya çıkmasının nedenidir. Bu mutasyonu dolayısıyla hastalığı taşıyan bireylerde otoimmünite ve enflamatuvar hastalıklar artmıştır.

Foxp3'ün CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücrelerdeki önemini göstermek için Foxp3 geni regülatör olmayan T hücelere transdüksiyon yoluyla aktarılarak gösterilmiştir. Deneysel olarak; Foxp3 ekspresyonu artmış ve bu hücreler baskılayıcı fonksiyonu kazanmışlardır.

### 2.10.6.3. GITR (Glucocorticoid-Induced Tumor Necrosis Factor Receptor Family- Related Gene)

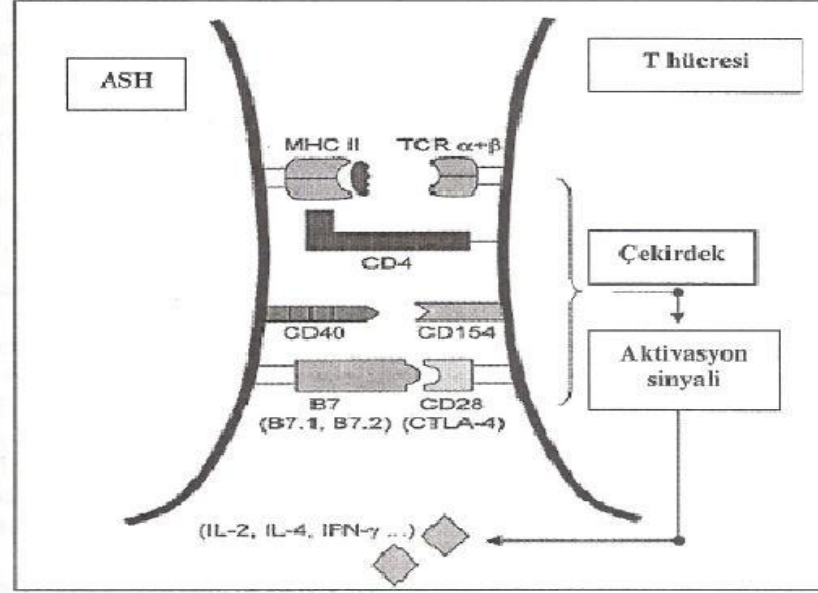
GITR, tümör nekroz faktörü-sinir hücresi büyüme faktörü reseptör ailesi proteinlerinin bir üyesi olan glukokortikoid ile indüklenen tümör nekroz faktörüdür. TNFRSF18 olarak bilinir. Çoğunlukla CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> timositlerden eksprese edilir. GITR ekspresyonunun artışının naif T hücrelerin aktivasyonunda araştırılmıştır ve bu hücrelerin supresif etkiye sahip olmadıkları anlaşılmıştır. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücreler ile in vitro ortamda yaratılan baskılama hücre temaslarına bağımlı bir olaydır. GITR'nin hücre etkileşimlerinde rol aldığı düşünülmektedir. Ancak bu olayın doğası tam olarak aydınlatılamamıştır.

### 2.10.6.4. CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocyte Associated 4 = CD 152)

CTLA-4 molekülü B7 molekülünün yüksek afiniteli bağlacıdır. T hücre uyarımını sınırlayan ve IL-2 üretimini azaltan bir inhibitör moleküldür. Farelerde ve insanlarda CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T hücreler CTLA-4 eksprese etmektedirler.

Eş uyarımda en etkin ve gerekli olan moleküller B7 molekülleridir. Bunlar immünglobulin süperailisi üyeleri arasında yer alan B7-1 (CD80) ve B7-2 (CD86) molekülleridir. Yardımcı moleküller immünglobulin süperailisinin diğer moleküllerinin ligandlarıdır. Örneğin CD28 ve T hücre uyarımından sonra eksprese edilen CTLA-4 (CD152) gibi moleküllerin ligandlarıdır. CD28 naif T lenfositler üzerinde ifade edilen başlıca yardımcı uyarıcı ligand moleküldür. CD28 aracılığı ile algılanan uyarıların: IL-2 ve diğer sitokinlerin üretimini arttırdığı; muhtemelen tolerans oluşumunu engellediği gösterilmiştir (27).

CTLA-4 molekülü B-7 molekülleri için ligand bir moleküldür. T hücre uyarımını sınırlayan ve IL-2 üretimini azaltan inhibitör bir moleküldür. Bunda dolayı CD28 T hücre yüzeyinde devamlı olarak eksprese edilir ve uyarımdan önce B7 molekülleri ile etkileşime girerek T hücre uyarımına yol açar. Uyarım maksimum düzeye ulaştığında, B7'ler için daha yüksek afinitesi olan CTLA-4 ekspresyonu T hücre yüzeyinde artar.



Şekil 2.2. ASH – T hücre etkileşimi (15)

#### 2.10.6.5. İntegrin $\alpha E\beta 7$

$\alpha E$ - integrin  $CD4^+CD25^+$  T hücrelerde ve  $CD4^+CD25^+$  murine T hücrelerde eksprese edilir.  $\alpha E^+$   $CD4^+CD25^+$  T hücreler,  $CD4^+$  T hücrelerin yaklaşık % 4' ü,  $CD4^+CD25^+$  T hücrelerin %25'ini oluşturduğu in vitro deneylerle kanıtlanmıştır.

#### 2.10.6.6 Lenfosit Aktivasyon Gen-3 (LAG-3)

Periferdeki  $CD4^+CD25^+$  Treg hücrelerde eksprese edilir. Negatif bir düzenleyicidir. LAG-3 eksikliği regülatör aktiviteyi inhibe eder.

#### 2.10.6.7. Programlanmış Ölüm Reseptörü-1 (PDR-1)

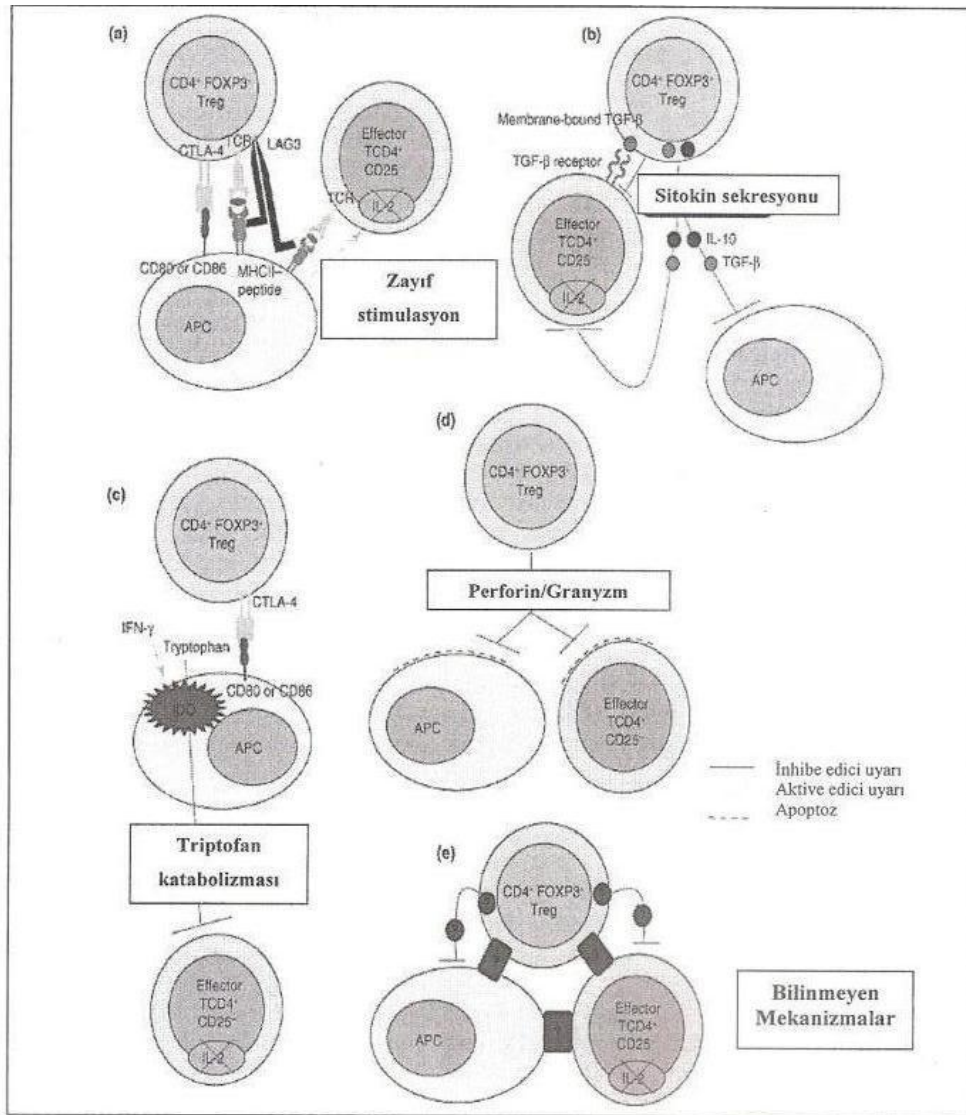
PD-1, CD28 ailesinin bir üyesidir. T hücrelerde eksprese edilir. T hücre aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. PD-1 mRNA  $CD4^+CD25^+$  Treg hücrelerde ve anerjik T hücrelerde eksprese edilir (20).

#### 2.10.6.8. Nörofilin-1 (NRP-1)

NRP-1,  $CD4^+CD25^+$  Treg hücrelerde yüksek miktarda eksprese edilir.  $CD4^+CD25^-$  T hücrelerde de düşük seviyelerde eksprese edilir.  $CD4^+CD25^+$  Treg hücreler, naif ve aktive edilen  $CD4^+CD25^+$  düzenleyici olmayan T hücrelerde ayırt edici bir yüzey belirteçidir.

### 2.10.7. Düzenleyici T Hücrelerinin Etki Mekanizmaları

Düzenleyici T hücrelerinin etki mekanizmaları ile ilgili başlıca iki görüş vardır. Birincisi Treg'lerin baskılayıcı fonksiyonlarını göstermek için hücre-hücre teması yaptıklarıdır. İkincisi ise IL-10 veya TGF- $\beta$  gibi sitokinleri salgılayarak uzaktaki hücreleri etkileyebilmeleridir. Yapılan çalışmalarda iki mekanizmanın da etkin olduğu bulunmuştur. Diğer bir mekanizma ise, doğal Treg'lerin indoleamine 2,3 (IDO) veya adenozin ve siklik AMP aracılığı ile T hücre aktivasyonunu inhibe etmeleri ve T hücreleri apoptoze yönlendirmeleridir. Fakat bu mekanizmalara rağmen Treg'lerin aktive T lenfositleri baskılama mekanizması tam olarak bilinmemektedir (22,23,25,26).



Şekil 2.3. Treg'lerin etki mekanizmaları (22)

a) CTLA-4'ün inhibe edici etkisi, IL-2'nin inhibisyonu b) IL-10 ve TGF- $\beta$  sitokin sekresyonu c) IDO'nun inhibe edici etkisi d) henüz tanımlanamayan mekanizmalar

## GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Hastalar

Bu çalışmaya, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Polikliniğine başvuran, Myelodisplastik Sendrom tanısı almış yaşları 31 ile 81 arasında değişen 26 hasta (14 erkek, 12 bayan) alınmıştır. MDS olguları risk grubuna göre iki gruba ayrıldı. 1. gruba RA, RCMD 2. gruba RAEB (1 ve 2) olguları alındı. RARS ve 5q del sendromuna nadir rastlandığı için bu tanılarla karşılaşıldığında 1.gruba alındı. 1.grupta bulunan 16 kişiden 10'u RA, 4'ü RARS, 1'i RCMD ve 1'i 5q del sendromu, 2.grupta bulunan 10 kişiden 4'ü RAEB-1 ve 6'sı RAEB-2 olguları bulunmaktadır.

Kontrol grubu olarak yaşları 25 ile 59 arasında değişen bağışçılardan 26 sağlıklı kişi (16 erkek, 10 bayan) gönüllü olarak çalışmaya alınmıştır.

Çalışmaya katılan Myelodisplastik Sendrom tanısı düşünülen hastaların kemik iliği ve periferik kan örnekleri tanı koyma sırasında yapılan incelemelerde, daha önce MDS tanısı almış hastaların kemik iliği ve periferik kan örnekleri ise rutin incelemeler sırasında alınarak çalışılmıştır. Sağlıklı kontrollerden ise periferik kan örnekleri alınmıştır. Çalışma için etik kurul raporu alınmıştır. Çalışmaya katılan gruplara çalışma hakkında bilgi verilmiş ve aydınlatılmış onam formu imzalatıldıktan sonra çalışmaya başlanmıştır.

Myelodisplastik Sendrom tanısı için poliklinikte kemik iliği biyopsisi, uzman doktor tarafından lokal anestezi yapılarak göğüs kemiğinin ön yüzünden (sternal) yada kalça kemiğinden (iliak) uygun biyopsi iğnesi kullanılarak alındı. Kemik iliği biyopsisi ile eş zamanlı olarak EDTA'lı tüpe 2ml kan örneği alındı. Periferik kan örneği ise ön kol üzerinde uygun çapta bir vene girilerek, EDTA'lı tüpe 2ml olmak üzere steril bir şekilde alındı. Örneklerden otomatik kan sayımı cihazı ile tam kan sayımı yapıldı, akım sitometrisi ile CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Treg hücre ve CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre alt gruplarına bakıldı.

### 3.2. Akış sitometrik analiz

Flow sitometrik analizler, Akdeniz Üniversitesi Merkez Laboratuvarı akım sitometri ünitesinde bulunan BD Facs CantoTM<sup>II</sup> cihazı kullanılarak yapılmıştır.

Flow sitometri ile yapılan analizler için tam kan yöntemi kullanılmıştır. Hastalardan ve sağlıklı kontrollerden alınan kan örnekleri kısa bir süre sonra laboratuvara ulaştırılmış ve hemen çalışılmıştır. Monoklonal antikorlar BD (Becton Dickinson) ile yüzeysel ve sitoplazmik boyama yapılmıştır.

Yüzeysel ve sitoplazmik boyama için yapılan işlemler:

- Flow sitometri tüpüne 100µl kan örneği ve 10 µl CD45 PERCP (BD), CD3 PE-Cy7 (BD), CD4 APC (BD), CD8 APC-Cy7 (BD), ve CD25 FITC (BD), antikorları konularak 20dk. 25°C’de karanlıkta inkübe edildi. Bu işlem antikorların izotiplerinin bulunduğu ikinci tüpede uygulandı.
- İnkübasyondan sonra tüpün üzerine 1000ml lysing solüsyonu konuldu ve 10dk. 25°C’de karanlıkta bekletildi.
- Daha sonra 500g de 5 dk PBS ile yıkandı.
- Sonra fiksasyon solüsyonu konularak fikse edildi.
- 1ml permeabilizing solüsyonu eklendi.
- 500g’de 5dk santrifüj edilerek PBS ile yıkandı.
- 1ml permeabilizing solüsyonu eklendi. 500g’de 5dk santrifüj edildi.
- 10 µl Foxp3 PE (BD) monoklonal antikor eklendi. 25°C’de 20 dk inkübe edildi.
- Daha sonra 2ml PBS ile 500g’ 5dk santrifüj edildi. Supernatan uzaklaştırıldı.
- Tüpün dibinde kalan hücrelerin üzerine 1ml PBS eklenip analize hazır duruma getirildi. Numuneler hemen okutuldu.

Akış sitometrik analizler Akdeniz Üniversitesi Merkez Laboratuvarı Akış Sitometri Ünitesinde bulunan BD FACS Canto™ cihazı kullanılarak yapılmıştır. Hücrelerin büyüklük ve granüleritelerine göre dağılımlarını gösteren ön (forward) ve 90° lik yan (side) saçınım histogramı ile lenfositler kapılandı ve bu bölgeden analizler yapıldı. İlgili monoklonal antikorun ekspresyonunu saptamak için negatif izotipik kontrolün floresansından daha yoğun floresans gösteren bölgeler bulundu. Analizde bu bölgelerin total popülasyon içindeki yüzdeleri saptandı.

### 3.3. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistik analizler SPSS hazır istatistik paket programı (SPSS 18.0 for Windows) kullanılarak gerçekleştirildi. Ortalama testler için tanımlayıcı testler, 3 grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis Testi, 2’li karşılaştırmalarda Mann Whitney-U Testi ve Student T Testi kullanıldı. Metin içerisinde, çizelge ve tablolardaki değerler ortalama, SD (standart sapma), P değeri olarak verildi.

## BULGULAR

### 4.1. Hastaların Genel Özellikleri

Çalışmaya alınan hasta grubuna ait 26 MDS hastası (14 erkek, 12 bayan) ve 26 sağlıklı kontrolden (16 erkek, 10 bayan) alınan kan örnekleri ile yapılan tetkiklerin sonucu çizelge 4.1’de özetlenmiştir.

**Çizelge 4.1.** Çalışma grubunun genel özellikleri

	MDS (perifer) (n=18)	MDS (kemik iliği) (n=25)	Sağlıklı kontrol (perifer) (n=26)
Yaş	60.94 ± 13.83	63.28 ± 14.75	46.12 ± 9.36
Cins (E/K)	10/8	14/11	16/10
Hgb (g/dl)	9.45 ± 1.75	9.57 ± 1.82	14.61 ± 1.22
Wbc (10 <sup>3</sup> /μl)	6.18 ± 9.50	32.34 ± 44.48	8.14 ± 1.30
Nötrofil (10 <sup>3</sup> /μl)	3.61 ± 4.92	22.69 ± 36.35	4.46 ± 0.98
Lenfosit (10 <sup>3</sup> /μl)	1.66 ± 1.80	5.77 ± 6.11	2.75 ± 0.69
Plt (10 <sup>3</sup> /μl)	139.05 ±156.02	207.96 ± 269.12	258.19 ± 50.43

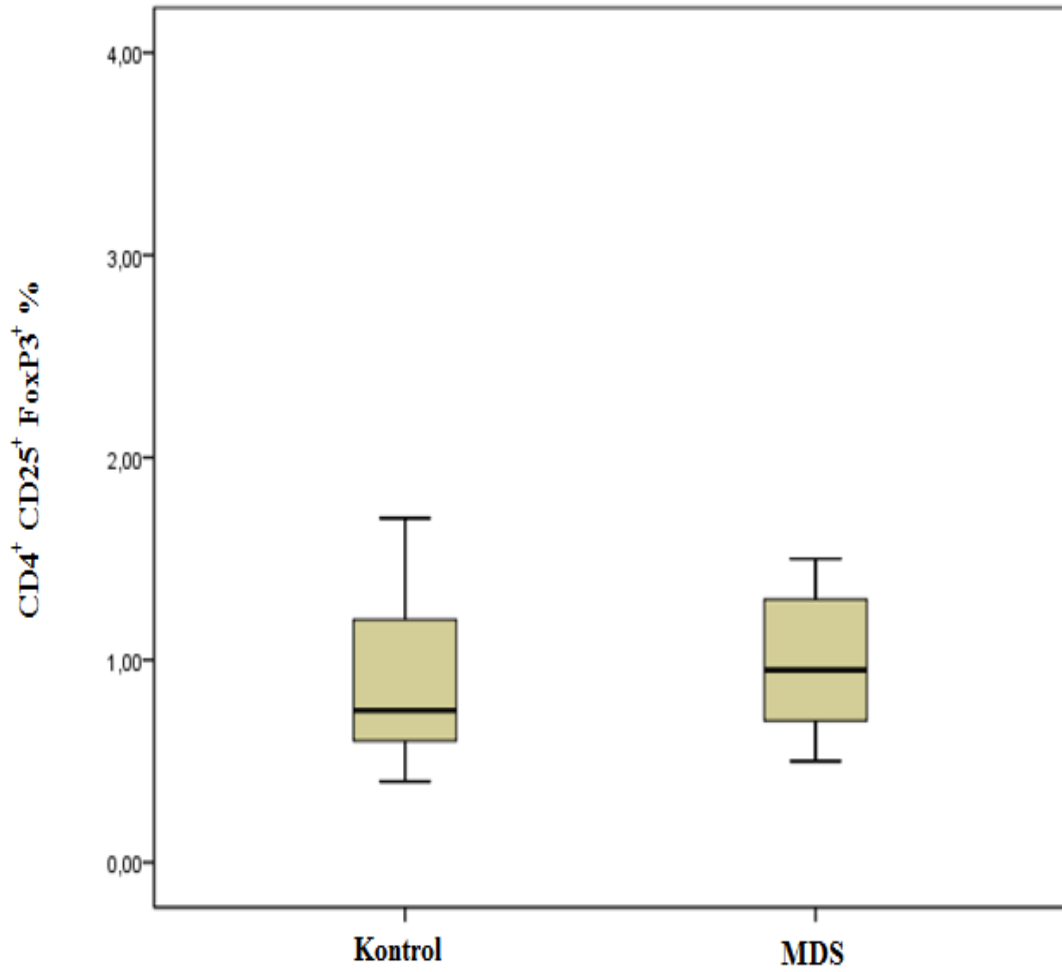
### 4.2. Akış sitometri sonuçları

Çalışmamıza dahil ettiğimiz sağlıklı kontrollerin ve Myelodisplastik Sendrom hastalarının perifer CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> hücre yüzde (%) oranları karşılaştırıldı. MDS hastalarının perifer CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> hücre yüzde oranları sağlıklı kontrollerden daha yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı p=0,134.

**Çizelge 4.2.** Sağlıklı kontrollerde ve MDS hastalarında perifer  $CD4^+CD25^+FoxP3^+$  hücre yüzdelерinin karşılaştırılması

	Sağlıklı kontrol (n=26)	MDS (n=18)	P
$CD4^+CD25^+FoxP3^+$	$0.88 \pm 0.45$	$1.22 \pm 0.89$	0.134

Sağlıklı kontrollerde ve MDS hastalarında perifer  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  hücre yüzdeleri oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.



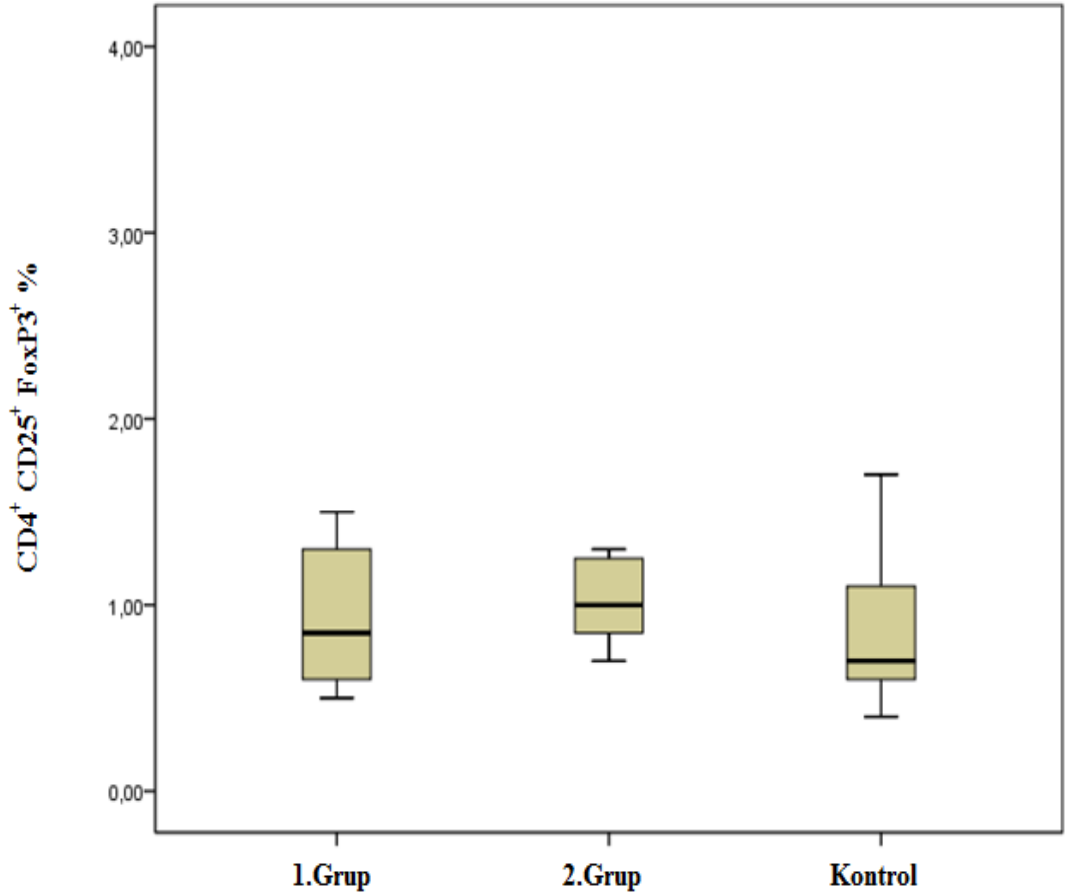
**Şekil 4.1.** Sağlıklı kontrollerde ve MDS hastalarında perifer  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  hücre yüzdeleri



**Çizelge 4.3.** MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> hücre yüzdelerinin karşılaştırılması

	1.grup (n=10)	2.grup (n=8)	Sağlıklı kontrol (n=26)	P
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup>	1.17 ± 0.95	1.28 ± 0.87	0.88 ± 0.45	0.246

MDS hastaları risk grubuna göre 1.grup ve 2.grup olarak ayrıldı. MDS 1.grup, 2.grup hastaların ve sağlıklı kontrollerin perifer CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> hücre yüzdeleri karşılaştırıldığında 2.grupta 1.gruptan daha yüksekti, sağlıklı kontrollerde ise 1. ve 2.gruptan daha düşüktü fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

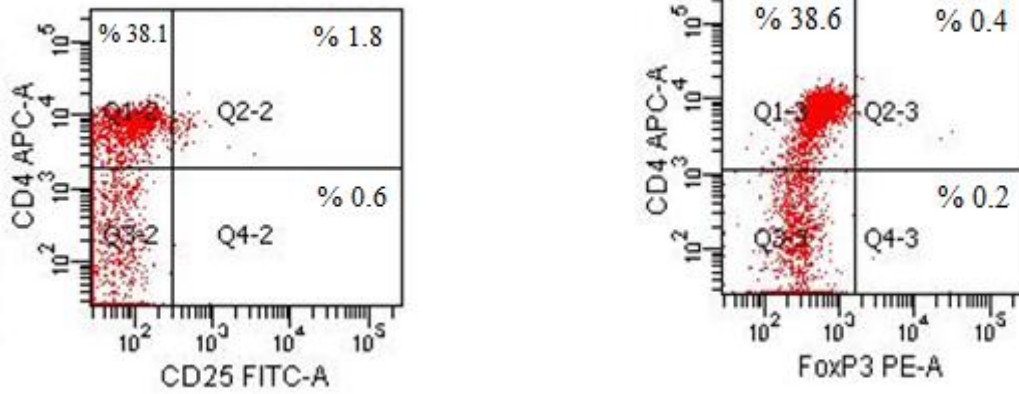


**Şekil 4.2.** MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> hücre yüzdeleri

**Çizelge 4.4.** MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer T hücre gruplarının yüzdelerinin karşılaştırılması

	1.Grup (n=10)	2.Grup (n=8)	Kontrol (n=26)	P
CD4 <sup>+</sup>	46.10 ± 10.08	45.12 ± 14.19	45.38 ± 9.18	0.935
CD25 <sup>+</sup>	1.25 ± 0.94	1.42 ± 1.23	0.96 ± 0.47	0.936
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	0.92 ± 0.66	0.92 ± 0.74	0.66 ± 0.31	0.829
Foxp3 <sup>+</sup>	1.09 ± 1.60	0.57 ± 0.31	0.89 ± 0.77	0.863
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup>	1.17 ± 0.95	1.28 ± 0.87	0.88 ± 0.45	0.246

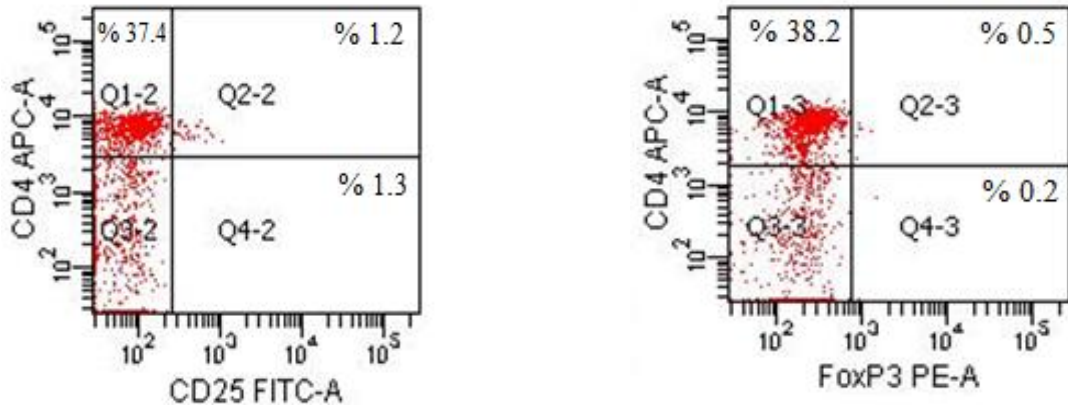
MDS 1.grup, 2.grup hastalarının ve sağlıklı kontrollerin perifer T hücre gruplarının yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.



**Şekil 4.3.** MDS RA grubuna ait bir olgunun perifer T hücrelerinin akış sitometri görüntüsü

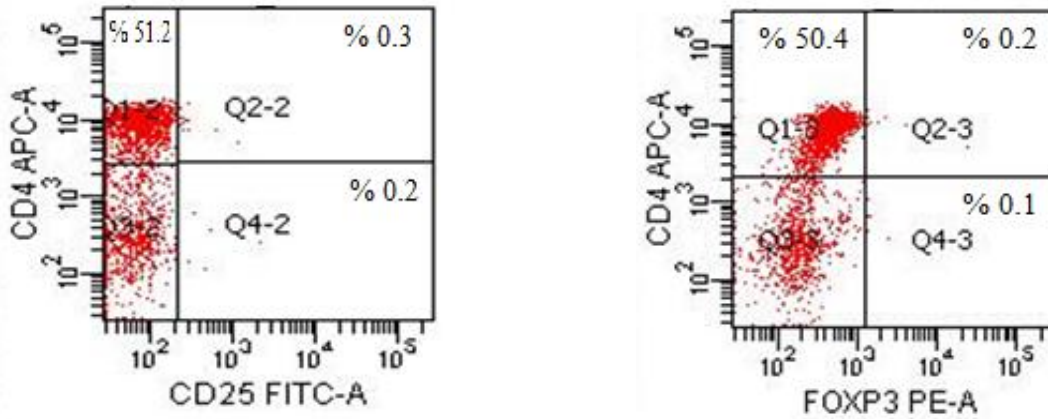
Şekil 4.3.'de MDS RA grubuna ait bir olgunun CD4 APC-A, CD25 FITC-A, FoxP3 PE-A ile boyanan hücrelerin akış sitometri görüntüsü görülmektedir.

Şekil 4.3.'de CD4<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 39.9, CD25<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 2.4, FoxP3<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 0.6 olarak görülmektedir.



Şekil 4.4. MDS RAEB grubuna ait bir olgunun perifer T hücrelerinin akış sitometri görüntüsü

Şekil 4.4.'de CD4<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 38.6, CD25<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 2.5, FoxP3<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 0.7 olarak görülmektedir.



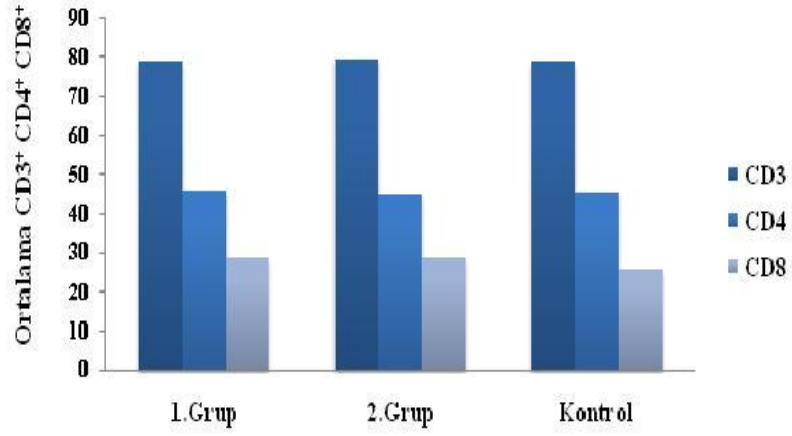
Şekil 4.5. Sağlıklı kontrol grubuna ait bir kişinin perifer T hücrelerinin akış sitometri görüntüsü

Şekil 4.5.'de CD4<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 51.5, CD25<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 0.5, FoxP3<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 0.3 olarak görülmektedir.

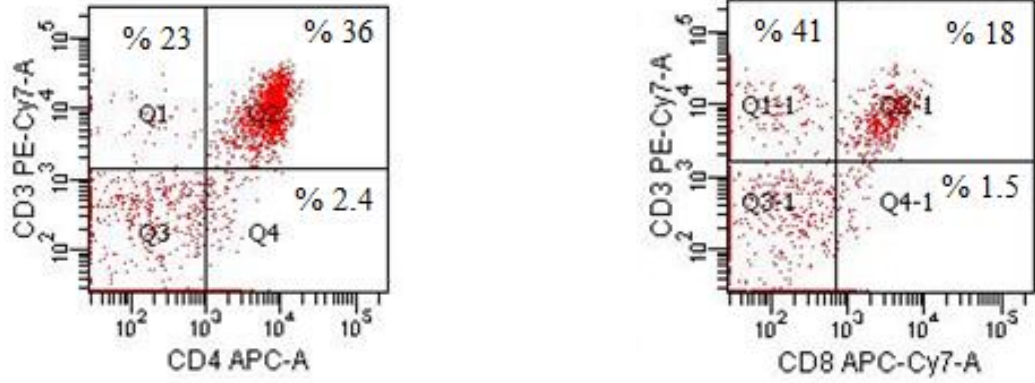
**Çizelge 4.5.** MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre gruplarının yüzdelerinin karşılaştırılması

	1.grup (n=10)	2.grup (n=8)	Sağlıklı kontrol (n=26)	P
CD3 <sup>+</sup>	79 ± 10.14	79.62 ± 9.84	78.88 ± 9.85	0.970
CD4 <sup>+</sup>	46.10 ± 10.08	45.12 ± 14.19	45.38 ± 9.18	0.935
CD8 <sup>+</sup>	28.90 ± 7.51	28.87 ± 9.14	26 ± 7.96	0.419

MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.



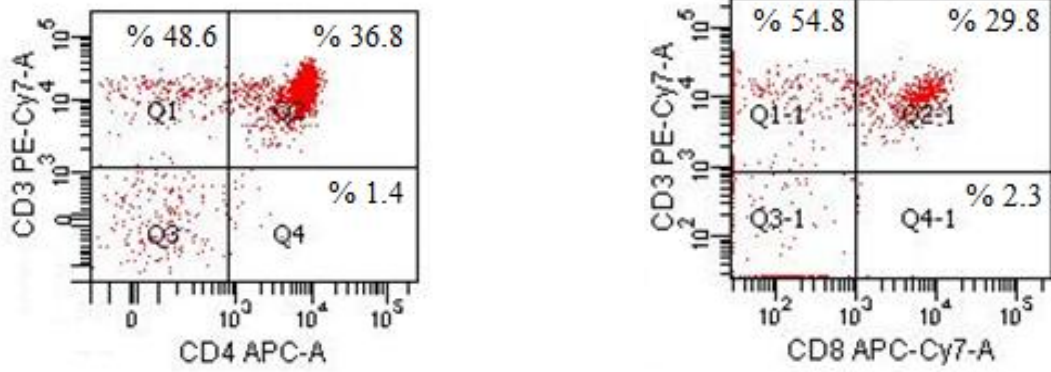
**Şekil 4.6.** MDS 1.grup, 2.grup hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre gruplarının yüzdelerinin ortalamaları



Şekil 4.7. MDS RA grubuna ait bir olgunun perifer  $CD3^+$ ,  $CD4^+$  ve  $CD8^+$  T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü

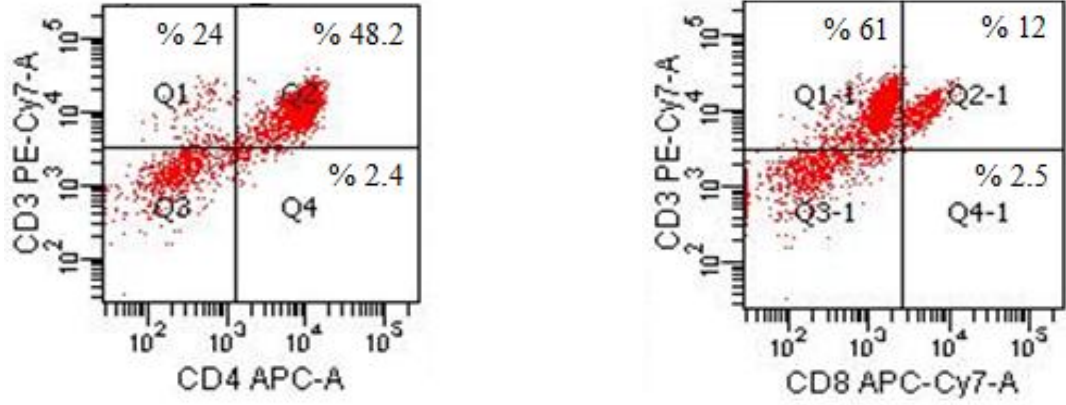
Şekil 4.7.'de MDS RA grubuna ait bir olgunun  $CD3$  PE-Cy7A,  $CD4$  APC-A,  $CD8$  APC-Cy7-A ile boyanan hücrelerin akış sitometri görüntüsü görülmektedir.

Şekil 4.7.'de  $CD3^+$  hücre yüzdesi % 59,  $CD4^+$  hücre yüzdesi % 38.4,  $CD8^+$  hücre yüzdesi % 19.5 olarak görülmektedir.



Şekil 4.8. MDS RAEB grubuna ait bir olgunun perifer  $CD3^+$ ,  $CD4^+$  ve  $CD8^+$  T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü

Şekil 4.8.'de  $CD3^+$  hücre yüzdesi % 85.4,  $CD4^+$  hücre yüzdesi % 38.2,  $CD8^+$  hücre yüzdesi % 32.1 olarak görülmektedir.



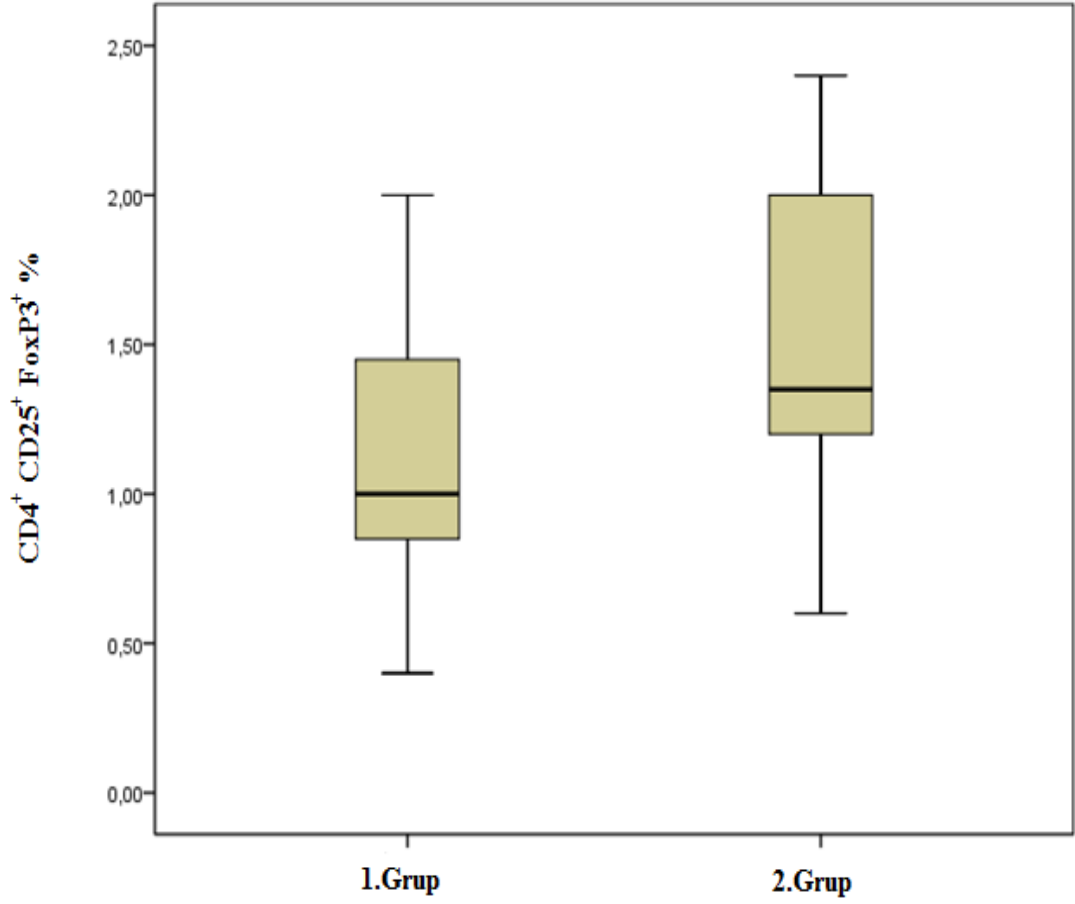
**Şekil 4.9.** Sağlıklı kontrol grubuna ait bir kişinin perifer CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü

Şekil 4.9.'da CD3<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 72.2, CD4<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 50.6, CD8<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 14.5 olarak görülmektedir.

**Çizelge 4.6.** MDS 1.grup ve 2.grup hastalarının kemik iliği CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> hücre yüzdelерinin karşılaştırılması

	1.grup (n=15)	2.grup (n=10)	P
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup>	1.17 ± 0.56	1.47 ± 0.55	0.208

MDS 1.grup ve 2.grup hastalarının kemik iliği CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> hücre yüzdeleri karşılaştırıldığında 2.grupta daha yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

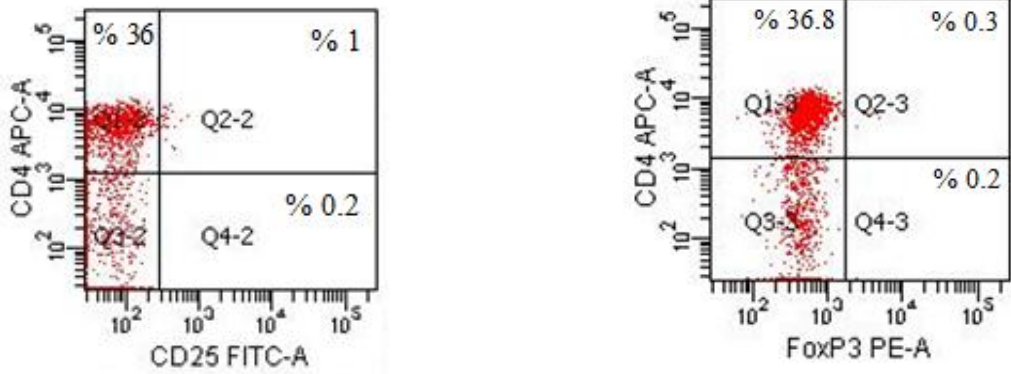


**Şekil 4.10.** MDS 1.grup ve 2.grup hastalarında kemik iliği CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> hücre yüzdeleri

**Çizelge 4.7.** MDS 1.grup ve 2.grup hastalarının kemik iliği T hücre gruplarının yüzdelerinin karşılaştırılması

	1.Grup (n=15)	2.Grup (n=10)	P
CD4 <sup>+</sup>	38.60 ± 8.87	38.90 ± 9.85	0.938
CD25 <sup>+</sup>	1.24 ± 0.78	1.09 ± 0.73	0.452
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	0.84 ± 0.49	0.70 ± 0.51	0.302
Foxp3 <sup>+</sup>	1.14 ± 0.73	1.10 ± 0.51	0.864
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup>	1.17 ± 0.56	1.47 ± 0.55	0.208

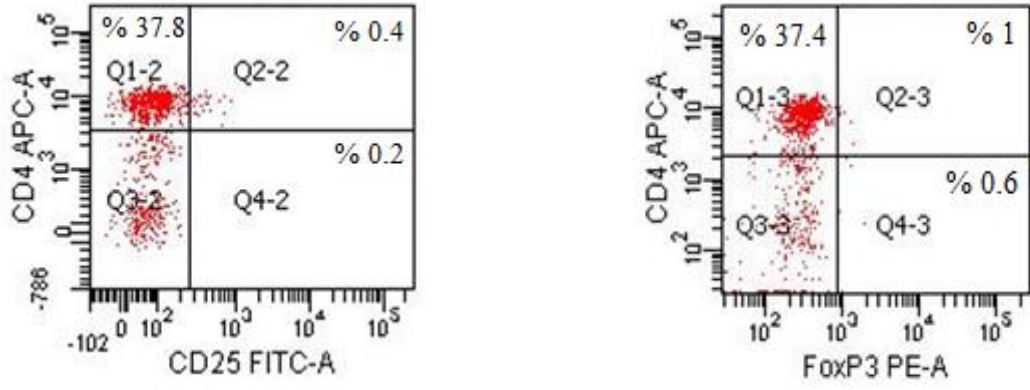
MDS 1.grup ve 2.grup hastalarının kemik iliği T hücre gruplarının yüzdeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.



**Şekil 4.11.** MDS RA grubuna ait bir olgunun kemik iliği T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü

Şekil 4.11.'de CD4<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 37, CD25<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 1.2, FoxP3<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 0.5 olarak görülmektedir.





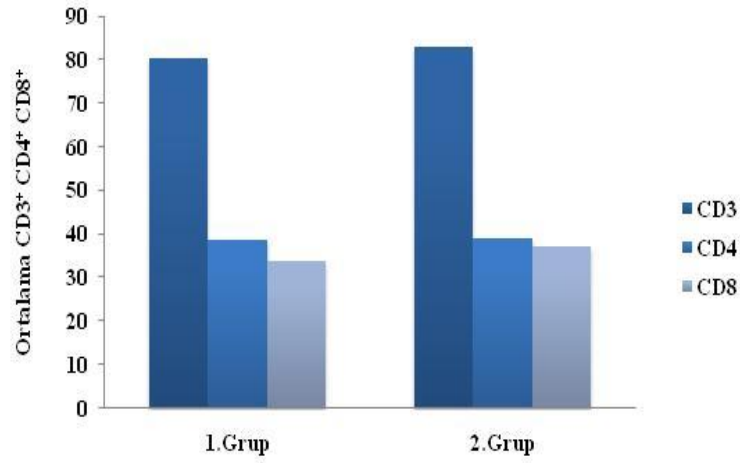
Şekil 4.12. MDS RAEB grubuna ait bir olgunun kemik iliği T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü

Şekil 4.12.'de CD4<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 38.2, CD25<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 0.6, FoxP3<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 1.6 olarak görülmektedir.

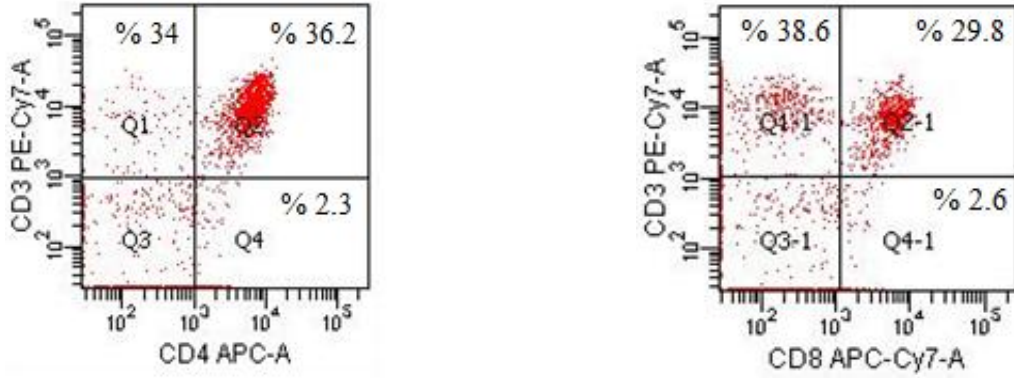
**Çizelge 4.8.** MDS 1.grup ve 2.grup hastalarının kemik iliği CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre gruplarının yüzdelерinin karşılaştırılması

	1.grup (n=15)	2.grup (n=10)	P
CD3 <sup>+</sup>	80.46 ± 4.67	83 ± 4.94	0.207
CD4 <sup>+</sup>	38.60 ± 8.87	38.90 ± 9.85	0.938
CD8 <sup>+</sup>	33.66 ± 6.33	36.90 ± 8.55	0.288

MDS 1.grup ve 2.grupta bulunan hastaların kemik iliği CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

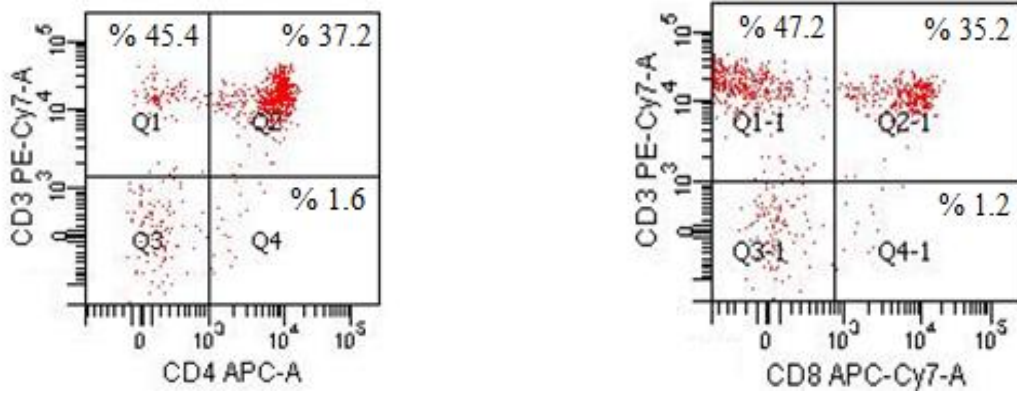


**Şekil 4.13.** MDS 1.grup ve 2.grup hastalarının kemik iliği CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre gruplarının yüzdelерinin ortalamaları



**Şekil 4.14.** MDS RA grubuna ait bir olgunun kemik iliği CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü

Şekil 4.14.'de CD3<sup>+</sup> hücre yüzdesi %70.2, CD4<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 38.5, CD8<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 32.4 olarak görülmektedir.



**Şekil 4.15.** MDS RAEB grubuna ait bir olgunun kemik iliği CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre gruplarının akış sitometri görüntüsü

Şekil 4.15'de CD3<sup>+</sup> hücre yüzdesi %82.6, CD4<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 38.8, CD8<sup>+</sup> hücre yüzdesi % 36.4 olarak görülmektedir.

## TARTIŞMA

Myelodisplastik Sendrom, periferik kanda sitopeni veya sitopenilerin eşlik ettiği, hiperselüler yada normoselüler kemik iliğinde inefektif hematopoezle karakterize klonal bir hastalıktır. Kemik iliğindeki displazinin apoptozis ve sitokinlerle ilgisi olduğu gösterilmiştir. TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 ve TGF- $\beta$ 'nin hematopoetik dokuda apoptozise ve sonuçta displaziye sebep olduğuna yönelik sonuçlar mevcuttur. Ayrıca immün yetmezlik dikkati çekmektedir.

Düzenleyici T hücreleri başlıca iki grup altında incelenmektedir. Bir grup doğal CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> düzenleyici T hücreleri olarak adlandırılmıştır. Düzenleyici T hücreleri (nTreg) timusta üretilip baskılayıcı T fonksiyonlarını periferde antijenle karşılaşmadan önce kazanmaktadırlar. nTreg'ler TCR pozitif seleksiyon sonrası sınıf II MHC öz peptidlere kuvvetli şekilde bağlanan hücre tipidir. Diğer grup ise adaptif Treg olarak adlandırılan ve periferde belli şartlar altında oluşan hücre tipidir.

Doğal olarak oluşan CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücreler pek çok çevresel uyarıya yanıt verirler. IL-2 baskılama fonksiyonu için gereklidir. Bu durum CD25'in bu hücrelerde fonksiyonel bir rolü olduğunu işaret eder. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücreler ile invitro ortamda yaratılan baskılama hücre temaslarına bağımlı bir olaydır. GITR'nin hücre etkileşimlerinde rol oynadığı düşünülmektedir. Ancak bu olayın doğası tam olarak aydınlatılamamıştır.

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücreler, periferde bulunan CD4<sup>+</sup> hücrelerin % 5-10'unu oluştururlar. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücreler naif ve aktif CD4<sup>+</sup> T hücrelerle karşılaştırıldığı zaman, Treg hücrelerin FoxP3 ekspresyon ettikleri gösterilmiştir. FoxP3, forkhead/winged helix olarak adlandırılan transkripsiyon faktörlerinin bir üyesidir. FoxP3, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücrelerin gelişimi ve fonksiyonu için önemli bir moleküldür. FoxP3 geninde oluşan bir mutasyon poliendokrino enteropati X- bağı sendrom (IPEX) olarak adlandırılan bir immün düzensizlik sendromunun ortaya çıkmasının nedenidir. Bu mutasyonu dolayısıyla hastalığı taşıyan bireylerde otoimmünite ve enflamatuar hastalıklar artmıştır. FoxP3'ün CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücrelerdeki önemini göstermek için FoxP3 geni regülatör olmayan T hücrelere transdüksiyon yoluyla aktarılarak gösterilmiştir. FoxP3 ekspresyonu sağlanmış olan bu T hücrelerde CD25 ekspresyonu artmış ve bu hücreler baskılayıcı fonksiyonu kazanmışlardır.

Regülatör T hücreler otoimmün hastalıkların ve transplant rejeksiyon gelişiminin önlenmesinde rol alan önemli hücrelerdir. Treg'ler immün cevapta rol oynayan diğer hücrelerin fonksiyonlarını inhibe ederek immün cevabı kontrol edebilirler.

CD4<sup>+</sup> Treg hücreler immün sistem aracılı patolojinin önlenmesinde ve hem Th1 hemde Th2 yanıtlarını baskılama dolayısıyla enflamasyonu azaltma işlemleri açısından çok önemli roller oynamaktadırlar. CD4<sup>+</sup> Treg hücreler aynı zamanda virüse özgül yanıtlarında baskılamaktadır. Birçok patojen yüksek seviyelerde IL-10 ve TGF-β salgılanmasına neden olur. Bu sitokinler CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücrelerin uyarılmasını artırır.

Birçok çalışma, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücrelerin tümör atılımını inhibe etmede rol oynadıklarını göstermiştir. İnsanlarda CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücrelerin yüksek düzeyleri akciğer, ovaryum, meme ve pankreatik tümörlerde bulunmuştur. Bu durumun indirekt olarak düzenleyici T hücrelerin non-spesifik T hücre yanıtını süprese edebileceğini gösterebilir (41).

MDS immün sistemin otoimmün bozuklukları etkilediği bazı alt gruplarında immünespresif tedaviden fayda sağlandığı bilinen bir hastalıktır. Foxp3<sup>+</sup> T regülatör hücreler ise immün tolerasta önemli rol oynayan ve otoimmün hastalıklarda fonksiyonlarında bozulma olduğu gösterilmiş olan T hücre alt grubunu oluşturmaktadır.

Bazı MDS'li hastalarda sellüler ve humoral immün anormallikler saptanmıştır. Hastalarda CD4<sup>+</sup> T lenfosit sayılarında azalma vardır. CD8<sup>+</sup> T lenfosit sayısı normaldir yada artmıştır. Mutlak lenfosit sayısındaki azalma natürel killer (NK) hücre sayısındaki azalma ile orantılıdır. CD4<sup>+</sup> T lenfosit sayısındaki azalma kan transfüzyonları ile ilişkili olup transmisyonlarının immünespresif etkisine bağlı olabilmektedir.

Kordasti ve arkadaşları (43) (2007) yaptıkları çalışmada perifer CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg'lerin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında RAEB grubundaki hastalarda RARS, RCMD ve 5q del sendromundaki hastalara göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Bunun nedeninin CD4<sup>+</sup> Treg'lerin artmasının MDS alttiplerinin daha agresif alttiplerine ilerlemesinden dolayı olduğunu belirtmişlerdir.

Biz çalışmamıza 26 MDS hastası ve 26 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunu aldık. MDS hastalarını iki gruba ayırdık. 1. gruba RA, RCMD, RARS ve 5q del sendromu olgularını, 2. gruba RAEB (1 ve 2) olgularını aldık. MDS hastalarının perifer ve kemik iliği örneklerinde, kontrol grubunun perifer kan örneklerinde CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg hücrelerine ve CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre alt gruplarına baktık. İlk önce gruplara ayırmadan tüm MDS hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg hücre yüzdeleri karşılaştırıldığında MDS hastalarında sağlıklı kontrollerden daha yüksek olduğu bulunmuş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. MDS hastalarını risk grubuna göre 1.gruba ve 2.gruba ayırarak sağlıklı kontrollerle birlikte perifer CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg hücre yüzdeleri karşılaştırıldığında 2.grupta 1.gruba göre daha yüksek olduğu, sağlıklı kontrollerde 1. ve 2.gruptan daha düşük olduğu bulunmuş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. 1.grup ve 2.grup MDS hastalarında kemik iliği CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> hücre yüzdeleri karşılaştırıldığında 2.grupta daha yüksek olduğu bulunmuş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. MDS hastalarında ve sağlıklı kontrollerde perifer CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. MDS

1.grup ve 2.grup hastalarında kemik iliği CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre grupları karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Bizim çalışmamız CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> hücrelerin ve CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre gruplarının hem perifer hemde kemik iliğinde çalışılması ve değerlendirilmesi bakımından literatürde ilktir. Treg biyolojisinde Foxp3 geninin öneminin keşfedilmesi ve Foxp3'ün saptanabilmesi olanağı doğal olarak ortaya çıkan Treg'ler hakkındaki bilgilerimizi dahada arttırmıştır.

## SONUÇLAR

Çalışma grubumuzdaki MDS hastaları 1.grup ve 2.grup olarak ayrıldı. MDS hastalarının perifer ve kemik iliği, sağlıklı kontrollerin perifer kan örneklerinde  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  Treg hücrelerine ve  $CD3^+$ ,  $CD4^+$  ve  $CD8^+$  T hücre alt gruplarına bakıldı.

1. İlk önce gruplara ayırmadan tüm MDS hastalarının ve sağlıklı kontrollerin perifer  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  Treg hücrelerine bakıldı. Perifer  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  Treg hücre yüzdesi MDS hastalarında sağlıklı kontrollerden daha yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

2. MDS hastalarını 1.gruba ve 2.gruba ayırarak sağlıklı kontrollerle birlikte perifer  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  Treg hücreleri karşılaştırıldı. Perifer  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  Treg hücre yüzdesi 2.grupta 1.gruptan daha yüksekti, sağlıklı kontrollerde ise 1.gruptan ve 2.gruptan daha düşüktü fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

3. 1.grup ve 2.gruptaki MDS hastalarının ve sağlıklı kontrollerin perifer  $CD4^+$ ,  $CD25^+$ ,  $CD4^+CD25^+$ ,  $Foxp3^+$ ,  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  T hücre grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

4. 1.grup ve 2.gruptaki MDS hastalarının ve sağlıklı kontrollerin perifer  $CD3^+$ ,  $CD4^+$  ve  $CD8^+$  T hücre grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

5. 1.grup ve 2.gruptaki MDS hastalarının kemik iliği  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  Treg hücreleri karşılaştırıldığında 2.grupta  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  hücre yüzdesi daha yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

6. 1.grup ve 2.gruptaki MDS hastalarının kemik iliği  $CD4^+$ ,  $CD25^+$ ,  $CD4^+CD25^+$ ,  $Foxp3^+$ ,  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  T hücre grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

7. 1.grup ve 2.gruptaki MDS hastalarının kemik iliği  $CD3^+$ ,  $CD4^+$  ve  $CD8^+$  T hücre grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

## KAYNAKLAR

1. Baumann MA, Milson TJ, Patrick CW, et al. Immunoregulatory abnormalities in myelodysplastic disorders. Amer j hematol 1986; 22:17-26.
2. Okabe , Minagavva T, Nakane A, et al. İmpaired alfa interferon production and naturek killer activity in blood mononuclear cella in myelodysplastic sendromes. Scan j haematol 1986; 37:111-7.
3. Second mic cooperative study group: morphologic immunologic and cytogenetic (mic) working classification of acute myeloid leukemia cancer genet cytogenetic 1988; 30-1.
4. Ülkü Y. Birsen, Myelodisplastik Sendromlar. Kasım 2005; 263-268.
5. Dreyfus B. Preleukemia States. Blood cell 1976; 2:33-7.
6. Xiros N, Nothoff H, Anger B. Et all. Blood group change in a patient with blast transformation of a myelodysplastic sendrome. Blut 1987; 54:276-7.
7. Hugo Castro malaspina, Richard j. O'reilly. Harrison's principles of internal medicine 14th edi. Vol:1, pg: 676-78.
8. Berkarda B, Müftüoğlu AÜ, Ulutin on. Aplastik ve refrakter anemiler. Kan hastalıkları, İstanbul: ar basımevi, 1983; 107-8.
9. Tricot G, Vlietinck R, Boogaerts MA, Hendrickx B, De Wolf-Peeters C, Van den Berghe H, Verwilghen RL. Prognostic factors in the myelodysplastic syndromes: importance of initial data on peripheral blood counts, bone marrow cytology, trephine biopsy and chromosomal analysis. Br J Haematol.1985 May; 60(1): 19- 32.
10. Sultan C. Dysmyelopoelic syndromes: classfication of acute leukemia. Ann intern meed 1977; 87:740 53
11. Goasguen JE, bennet jm. Classification and morphological features of the myelodysplasia sendromes. Sem oncol 1992; 19(1) 4-13.
12. Gatterman N, Aul C, Schneider W. Two types of acquired idiopathic



- sideroblastic anemia (AISA). Br J Haematol 1990; 74:45-52.
13. Storniob AM, Moloney WC, Rosenthal D. Et all. The chronic myelodysplasia syndromes. Leukemia 1990; 4(11):766-90.
  14. Yeğın, O. 1990. Temel İmmünoloji Notları. Akdeniz Üniversitesi Basımevi, Antalya.
  15. Abbas, A, K., and A. H. Lichtman. Temel immünoloji: immün sistemin işlev ve bozuklukları. 2007 İstanbul medikal yayıncılık
  16. Hori S, Takahashi T, Sakaguchi S. Control of autoimmunity by naturally arising regulatory CD4<sup>+</sup> T cells Adv Immunol 2003; 81:331-71.
  17. Chess L. The birth of functionally distinct T cell subsets. J Immunol 2006; 176:3859-60.
  18. Jiang H, Chess L. Regulation T cells-teh renaissance of the suppressor T cells. Ann Med 2007; 39:322-34.
  19. Maggi E, Cosmi L, Liotta F, Romagnani P, Romagnani S, Annunziato F. Thymic Regulatory T cells. Autoimmunity reviews 4 2005; 579-586.
  20. Haiying Liu and Bernard P Leung. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Regulatory T cells in health and disease, clinical and experimental pharmacology and physiology 2006; 33: 519-524.
  21. O'Garra, A. and P. Vieira. Regulatory T cells and mechanism of immune system control. Nat Med 2004; 10:801.
  22. Makoto Miyaral and Shimon Sakaguchi. Natural Regulatory T Cells: Mechanism of suppression. TRENDS in Molecular Medicine 2007; 13:3 108-15.
  23. Jiang H, Chess L. Regulation of immune responses by T cells. N Engl J Med 2006; 354:1116-76.
  24. Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrieli M, and Murphy KM. Th17: An effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. Immunity. 2006; 24:677-688.
  25. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. Science 2003: 299:1057-61.
  26. Boop T, Jonuleit H, Schmitt E. Regulatory T cells- the renaissance of the suppressor T cells. Ann Med 2007; 39:322-34.

27. Male D, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. İmmünoloji: Antijen sunumu, Palme yayıncılık, 2008; 155-156.
28. Kui Wu, Yutian Bi, Kun Sun and Changzheng Wang. IL-10 producing type 1 regulatory T cells and allergy. *Cellular & Molecular Immunology*. 2007; 4(4):269-275.
29. Yisong Y. Wan, Richard A. Flavell. TGF- $\beta$  and regulatory T Cell in immunity and autoimmunity. *J Clin Immunol* 2008; 28:647–659.
30. Kingston H.G. Mills, Peter McGuirk. Antigen-specific regulatory T cells-their induction and role in infection. *Seminars in Immunology* 16, 2004; 107–117.
31. Eva N. Huter, George A. Punkosdy, Deborah D. Glass, Lily I. Cheng, Jerrold M. Ward and Ethan M. Shevach. TGF- $\beta$ -induced Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells rescue scurfy mice. *Eur. J. Immunol*. 2008; 38:1814–1821.
32. Leonie S. Taams, Milica Vukmanovic-Stejic, Jay Smith, Padraic J. Dunne, Jean M. Fletcher, Fiona J. Plunkett, Saskia B. Ebeling, Giovanna Lombardi, Malcolm H. Rustin, Johannes W. J. Bijlsma, Floris P. J. G. Lafeber, Mike Salmon and Arne N. Akbar. Antigen-specific T cell suppression by human CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *Eur. J. Immunol*. 2002; 32 1621–1630.
33. Lianjun Zhang. And Yong Zhao. The Regulation Of Foxp3 Expression In Regulatory CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T Cells: Multiple Pathways On The Road. *J. Cell. Physiol*. 2007; 211:590–597.
34. Pierre-Yves Mantel, Nadia Ouaked, Beate Rückert, Christian Karagiannidis, Roland Welz, Kurt Blaser, and Carsten B. Schmidt-Weber. Molecular mechanisms underlying FoxP3 Induction in human T cells. *The Journal of Immunology*, 2006; 176:3593–3602.
35. Lauren E Mays, Youhai H Chen. Maintaining immunological tolerance with Foxp3. *Cell Research* 2007; 17:904-918.
36. Misako Itoh, Takeshi Takahashi, Noriko Sakaguchi, Yuhshi Kuniyasu, Jun Shimizu, Fujio Otsuka, and Shimon Sakaguchi. Thymus and Autoimmunity: Production of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance<sup>1</sup>. *The Journal of Immunology*, 1999, 162:5317–5326.
37. Edwards, John D. Isaacs and Robert I. Lechler Wan Fai Ng, Phillip J. Duggan, Frederique Ponchel, Giuseppe Matarese, Giovanna Lombardi, A. David. Human CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> cells: a naturally occurring population of regulatory T cells. *Blood*, 2001; 98: 2736-2744.
38. Steven F. Ziegler, Jane H. Buckner. FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation. *Microbes and Infection* 11, 2009;594-598.

39. Yijun Carrier, Jing Yuan, Vijay K. Kuchroo and Howard L. Weiner. Th3 cells in peripheral tolerance. II. TGF-beta-transgenic Th3 cells rescue IL-2-deficient mice from autoimmunity. *J. Immunol.* 2007; 178:172-178.
40. Yijun Carrier, Jing Yuan, Vijay K. Kuchroo and Howard L. Weiner. Th3 cells in peripheral tolerance. I. induction of Foxp3-positive regulatory T cells by Th3 cells derived from TGF-beta T cell-transgenic mice. *J. Immunol.* 2007;178;179-185.
41. Haiying Liu and Bernard P Leung, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Regulatory T Cells in health and disease, clinical and experimental pharmacology and physiology 2006; 33:519-524.
42. Ghulam J. Mufti. Pathobiology, classification and diagnosis of myelodysplastic syndrome. *Best Practice & Research Clinical Haematology.* Vol. 17, No. 4, 2004; 543–557.
43. Shahram Y. Kordasti, Wendy Ingram, Janet Hayden, David Darling, Linda Barber, Behdad Afzali, Giovanna Lombardi, Marcin W. Wlodarski, Jaroslaw P. Maciejewski, Farzin Farzaneh and Ghulam J. Mufti. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells in myelodysplastic syndrome (MDS). *Blood*, 2007; 110: 847-850.

## ÖZGEÇMİŞ

01/04/1980 tarihinde Antalya'da doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Antalya'da tamamladı. 2006 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun oldu. 2006-2007 öğretim yılının güz döneminde Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı İmmünohematoloji Programında Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Araştırma Görevlisi kadrosunda çalışmaktadır. Yabancı dili İngilizcedir.