



SAHAND GHADIMI

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2023

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**İMMÜN SİSTEM YAŞLANMASININ
İMMÜN SİSTEM HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

SAHAND GHADİMİ

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. SEMA BİLGİÇ GAZİOĞLU**

**İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

İSTANBUL-2023

TEZ ONAYI

BEYAN

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

"Ad Soyadı" (İmza)

SAHAND GHADİMİ

İTHAF

Tezimi bana her zaman destek olan rahmetli babama (Doç . Dr . Yusef Ghadimi),anneme, eşime ve kardeşime ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Tezimin planlanmasında ve deneysel çalışmalarım boyunca her konuda desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle eğitimime katkıda bulunan çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Sema Bilgiç Gazioğlu'na,

Eğitimime katkıda bulunan, yol gösteren ve deneysel çalışmalarımda yardımcı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Ali Osman Gürol , Doç. Dr. Umut Can Küçüksezer , Prof. Dr. Esin Çetin'e,

Yardımları ve bilgi birikimleri ile her zaman destek olan kıymetli Dr. Farhad Kohensal,

Tezimin deneysel çalışmalarına olan katkılarından dolayı Abdullah Yılmaz'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilimsel fikir ve düşünceleriyle bana yardım eden İmmünoloji AD'ının saygıdeğer hocalarına ve her zaman yardımcı olan, tecrübelerini paylaşan değerli arkadaşlarıma; Prof. Dr. Günnur Deniz , Doç. Dr. Suzan Çınar , Dr. Nilgün Akdeniz , Dr. Öğr. Üyesi Metin Yusuf Gelmez, Msc. İlhan Tahralı, Msc. Nilsu İzgi.

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen rahmetli babama (Doç. Dr. Yusef Ghadimi) , anneme , eşime ve kardeşime sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	I
BEYAN	II
İTHAF	III
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar LİSTESİ	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	X
ÖZET.....	XII
ABSTRACT	XIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Doğal Ve Edinsel Bağışıklığın Genel Özellikleri.....	3
2.1.1. Doğal Bağışıklık.....	5
2.1.2. Edinsel Bağışıklık.....	6
2.2. Bağışıklık Sistemi Hücrelerindeki Cluster of Differentiation (CD) Molekülleri.....	7
2.2.1. CD16.....	7
2.2.2. CD57.....	8
2.2.3. CD3.....	8
2.2.4. CD45RO.....	9
2.2.5. CD19.....	9
2.2.6. CD27.....	10
2.3 Bağışıklık Sistemi Hücreleri.....	10
2.3.1. T Hücreleri.....	10
2.3.2. B Hücreleri.....	12
2.3.3. Doğal Öldürücü (NK) Hücreleri.....	13
2.4 Sitokinler.....	15
2.4.1. İnterlökin-2 (IL-2).....	15
2.4.2. IL-4.....	15
2.4.3. IL-10.....	15
2.4.4. IL-6.....	16
2.4.5. TNF- α	16
2.4.6. IL-17A.....	17
2.5. İmmunosenesence.....	17
2.5.1. Doğal Bağışıklık Yanıtının Genç ve Yaşlı Bireylerde Dağılımı.....	20
2.5.2. Edinsel Bağışıklık Yanıtının Genç ve Yaşlı Bireylerde Dağılımı.....	21

2.5.2.1. Hücresel Bağıklıktaki Değişiklikler.....	21
2.5.2.2. Hümmoral Bağışıklıktaki Değişiklikler.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Hasta Seçimi.....	23
3.2. Kan Sayımı.....	23
3.3. Hücre Dondurma.....	23
3.4. Hücre Çözdürme.....	24
3.5 Hücre Akım Ölçer Cihazı İçin Hücrelerin Hazırlanması.....	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA.....	34
KAYNAKLAR.....	38
FORMLAR.....	42
ETİK KURUL KARARI.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	44

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Farklı yaş grupları arasında immünprofil yüzdesinin değerleri.....	29
Tablo 2: Farklı yaş grupları arasında adezyon moleküllerinin yüzde değeri.....	36



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Doğal ve edinsel immün system hücreleri.....	4
Şekil 2.2. İmmün sistemin elemanları ve görevleri.....	5
Şekil 2.3. Edinsel immün sistemin özgüllüğü ve belleği.....	7
Şekil 2.4. T hücre reseptörü.....	9
Şekil 2.5. B hücre reseptörü.....	10
Şekil 2.6. T hücre aktivasyonu.....	13
Şekil 2.7. B hücresi gelişimi.....	14
Şekil 2.8. NK hücre gelişimi.....	15
Şekil 4. Akan hücre ölçer ait immünprofil sonucu.....	30
Şekil 4.1. Farklı yaş gruplarında CD3 ekspresyonu.....	31
Şekil 4.2. Farklı yaş gruplarında CD19 ekspresyonu.....	31
Şekil 4.3. Farklı yaş gruplarında CD16+56 ekspresyonu.....	32
Şekil 4.4. Farklı yaş gruplarında CD16 ekspresyonu.....	32
Şekil 4.5. Farklı yaş gruplarında CD45 RO ekspresyonu.....	33
Şekil 4.6. Farklı yaş gruplarında CD27 ekspresyonu.....	33
Şekil 4.7. Farklı yaş gruplarında NKT ekspresyonu.....	34
Şekil 4.8. Farklı yaş gruplarında HLA-dr ekspresyonu.....	34
Şekil 4.9. 20-25 yaş arasındaki ortalama değerleri.....	35
Şekil 4.10. 26-30 yaş arasındaki ortalama değerleri.....	35
Şekil 4.11. 31-35 yaş arasındaki ortalama değerleri.....	35
Şekil 4.12. 36-40 yaş arasındaki ortalama değerleri.....	35
Şekil 4.13. 41-45 yaş arasındaki ortalama değerleri.....	35
Şekil 4.14. 46-50 yaş arasındaki ortalama değerleri.....	35
Şekil 4.15. 51-55 yaş arasındaki ortalama değerleri.....	35
Şekil 4.16. 56-60 yaş arasındaki ortalama değerleri.....	35
Şekil 4.17. Akan hücre ölçere ait adezyon moleküllerinin yüzde değeri.....	37

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ASH:	Antijen sonucu hücre
ADCC:	Antikora bağlı hücre aracılı sitotoksiti
BCR:	B hücre reseptörü
CD:	Farklılaşma kümesi
CTLA:	Sitotoksik T lenfosit ilişkili protein
DAMP:	Hasar ilişkili moleküler örgü
EMOES:	Eomesodermin
FcR:	İmmünoglobulin reseptörleri
GPI:	glikosilfosfatidilinositol
HLA-DR:	İnsan lökosit antijen-DR
IFN:	İnterferon
Ig:	İmmünoglobilin
IL:	İnterlökin
ILC:	Doğal lenfoid hücre
KD:	Kilodalton
MHC:	Majör histokompatibilite kompleksi
NK:	Doğal öldürücü hücre
NKCC:	Antikor bağımlı sitotoksik aktivitede
PAMP:	Patojen ilişkili moleküler örgü
PMN:	Polimorfonükleer granülosit
Tc:	Sitotoksik T hücresi
Tfh:	T folüküler yardımcı
Th:	Yardımcı T / TCR: T hücre reseptör

ÖZET

İmmün sistem tüm yaşamımız boyunca savunma sistemimiz olarak görev yapar. İlerleyen yaşla birlikte tüm sistemlerde olduğu gibi immün sistemde de değişiklikler olur. Bu değişiklikler immünozens veya immünoaging olarak tanımlanır ve genelde artmış mortalite ve morbiditeden sorumlu tutulur. Yaşlılık hem doğal hem edinsel immün sistemi etkilemekle birlikte, edinsel immün sistemde daha etkili değişiklikler ortaya çıkar. Yaşlanmış immün sistemi klinik olarak enfeksiyonlara, otoimmünite ve maligniteye yatkınlık takip eder. İmmün yaşlanmanın kliniksel sonuçları enfeksiyonlar, malignite ve otoimmün hastalıklar olarak karşımıza çıkmaktadır. Pnömoni ile influenza 60 yaş ve üstü hastalarda en sık ilk 10 ölüm nedeni arasında yer almaktadır.

Bağıışıklık Sistem hücrelerindeki gerek sayı, gerekse fonksiyon değişikliklerinin bir çok hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynadığı literatürde gösterilmektedir. Yaşlanmayla ortaya çıkan bu değişimler antijenlere karşı verilen yanıtta bireysel farklılıklara da sebep olabilmektedir. Yaşlanmanın immün sistem üzerine etkileri timus ve kemik iliğindeki B ve T hücreleri ve sekonder lenfoid dokulardaki olgun lenfositlerin fonksiyonlarının farklı düzeylerde azalması ile kendini belli eder. Bu nedenle yaşlı bireylerde bağışıklık sistemi herhangi bir tehdit karşısında kaldığında gençler kadar hızlı ve etkili bir immün cevap oluşturmamaktadır. Özellikle yaşlıların coronavirüs nedeniyle risk altında olduğu bir pandemi döneminde yaşlı çalışmalarının daha çok immün sistemdeki bu değişimler ve altta yatan moleküler olayların tanımlanması şeklinde planlanması ve belki de yaşlıların bağışıklık sisteminin desteklenmesi ile bu ve bundan sonraki olası viral salgınlara etkili mücadele etmemizi sağlayabilecektir.

Çalışmamız, sağlıklı bireylerde yapılmış pilot bir çalışma olup sağlıklı bireylerde yaşla beraber immün sistem hücrelerinin % ekspresyonlarının değişikliğinin yine yaşla beraber ortaya çıkan birçok hastalığın etyopatolojisinde nasıl rol oynayabileceğini açıklamayı amaçlamaktadır. Yaşlanmayla beraber T, B ve NK hücreleri ve alt gruplarındaki kantitatif değişime bağlı olarak % ekspresyon ve yaş eğrisi çizilmiştir.

Bu eğriye bakılarak X yaşındaki bir kişinin immün hücrelerindeki % değer değişikliğine bağlı olarak buna karşılık gelen immün yaşını belirlenmesi hedeflenmiştir.

İstatistik değerlendirmelerde SPSS ile ANOVA ve Student t testi kullanılacaktır. $p<0.05$ anlamlı olarak değerlendirilmiştir.



ABSTRACT

The immune system acts as our defense system throughout our lives. Age changes occur in the immune system as in all systems. These changes are defined as immunosenescence or immunoaging and are generally responsible for increased mortality and morbidity. Although aging affects both the innate and acquired immune system, changes occur more effectively in the acquired immune system. The aged immune system is clinically predisposed to infections, autoimmunity and malignancy. The clinical consequences of immune aging are infections, malignancy and autoimmune diseases. Pneumonia and influenza are among the top 10 most common causes of death in patients aged 60 years and older. It has been shown in the literature that changes in both the number and function of immune system cells play an important role in the pathophysiology of many diseases. These changes that occur with aging may also cause individual differences in the response to antigens. The effects of aging on the immune system are manifested by different levels of decreased function of B and T cells in the thymus and bone marrow and mature lymphocytes in secondary lymphoid tissues. For this reason, the immune system in the elderly is unable to mount an immune response as fast and effective as the young when faced with a threat. Especially in a pandemic period when the elderly are at risk due to coronavirus, planning elderly studies in the form of defining these changes in the immune system and underlying molecular events and perhaps supporting the immune system of the elderly will enable us to effectively combat this and possible future viral epidemics. Our study is a pilot study in healthy individuals and aims to explain how changes in the % expression of immune system cells with age in healthy individuals may play a role in the etiopathology of many diseases that occur with age. A % expression and age curve will be drawn based on the quantitative changes in T, B and NK cells and their subsets with aging. Based on this curve, it is aimed to determine the corresponding immune age of an X-year-old person depending on the % change in immune cells. SPSS and ANOVA and Student's t test will be used for statistical evaluations. $P < 0.05$ will be considered significant.

1. Giriş ve Amaç

Bağıışıklık sisteminin yaşa bağılı olarak düzensizleşmesi ve bağıışıklık cevabının azalması olayı "immünoşenesans" olarak adlandırılır. Genellikle yaşlı yetişkinlerde bulaşıcı patojenlere karşı artan duyarlılık ve zayıf aşı yanıtları ile ilişkilendirilmiştir. Enfekte veya aşılanmış bireylerin klinik sonuçları hakkında çok sayıda çalışma rapor edilmiş olsa da, immünoşenesansın başlangıcını yöneten mekanizmalar ve adaptif bağıışıklık üzerindeki etkileri hakkındaki anlayışımız eksik kalmaktadır. T ve B lenfosit popölasyonlarında ve işlevlerinde yaşa bağılı farklılıklar iyi tanımlanmıştır, ancak yaşlı bireylerde immün hücre işlevi ile klinik sonuçlar arasında doğrudan ilişki olduğunu gösteren çalışmalar eksiktir.

Bağıışıklık hücresi düzensizliğinin doğal hücreşel değıışikliklerin bir sonucu mu yoksa vücudun başka bir yerindeki değıışikliklere karşı tepkisel bir mekanizma mı olduğunu ayırt etmek zor olduğundan, immünoşenesansın mekanistik analizleri karmaşıktır. Kökeni ne olursa olsun, yaşlanan bağıışıklık sistemindeki işlevşel farklılıklar bir çok çalışmayla aydınlatılmıştır. Yaşlı yetişkin popölasyonlarındaki (yani 65 yaş ve üstü) olumsuz klinik sonuçları immünoşenesansa bağlanmışır.

Perifereki T hücrelerinin toplam sayısı yaşam boyunca sabit kalırken, yaşlı yetişkinlerde T hücre popölasyonlarında değıışikliklerin meydana geldiğı bilinmektedir; bu değıışiklikler büyük ölçüde yaşlanmayla birlikte adaptif bağıışıklık yanıtın azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. Yaşlanan T hücresinde meydana gelen en belirgin değıışiklik, timik döngünün bir sonucu olarak yeni naif T hücrelerinin (örneğin, $CD45RA^+ CD45RO^- CD62L^+ CCR7^+$) azalmasıdır.

Yaşla birlikte T hücrelerindeki değıışiklikler hümmoral bağıışıklık cevabının gelişimini etkileme potansiyeline sahipken, yaşa bağılı doğrudan B hücrelerinde de kusurlar saptanmıştır. Yaşlı bireylerde kendiliğinden TNF- α salgılayan geç bellek B hücrelerinin yüzdesinde artış tespit edilmiş bu da, bağıışıklık homeostazının ve B hücre fonksiyonunun daha fazla düzensizliğine yol açmaktadır.

Olgun B hücrelerinin işlevşelliğı yaşla beraber bozulmaktadır. T hücrelerinde olduğu gibi, B hücresi periferik bellek hücrelerinin (örn. $IgD^- CD19^+ CD27^+$) yaşla birlikte arttığı gösterilmiştir.

Bellek B hücreesindeki artış, kemikiliğnden perifere çıkan olgun B hücresi azalmasına neden olur. Bu durum, yeni antijenlere yanıt vermek için mevcut repertuvara sahip klonların sayısını sınırlar [1].

Çalışmamız pilot bir çalışma olup, belirlediğimiz yaş aralıklarında (20-65) yaşa bağlı olarak immün sistem hücrelerindeki; T, B, ve NK hücrelerinde (CD3,CD19, CD16-56, HLA-DRPE, CD57PE, CD16, CD27 CD18, CD11a, CD11bve CD11c) % ifadelerini ölçmeyi ve değişimi ortaya koymayı hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Doğal ve Edinsel Bağışıklığın Genel Özellikleri

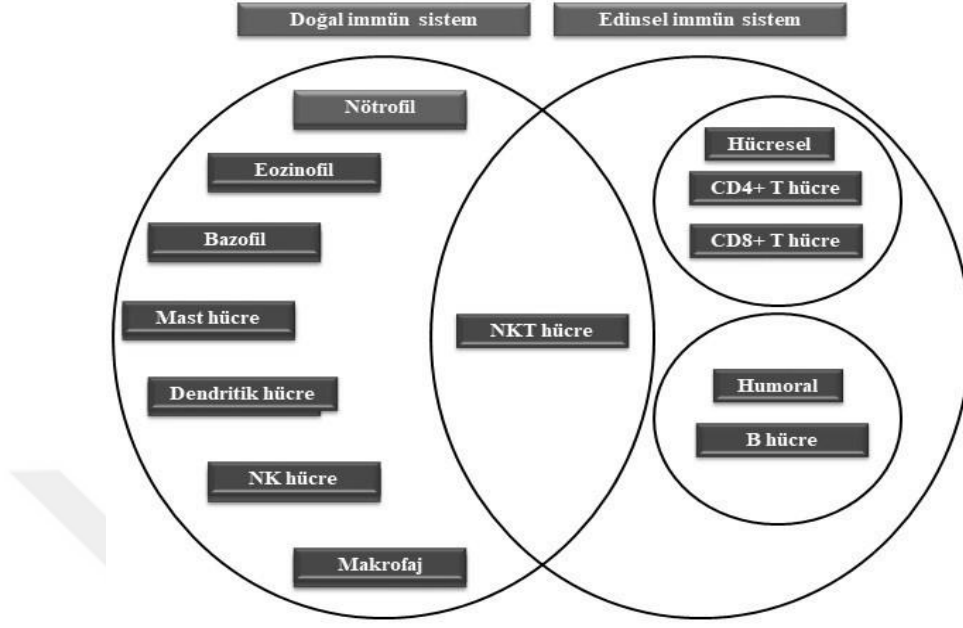
Vücudumuzu yabancı mikroorganizmalara ve onların toksik ürünlerine karşı savunma görevi bağışıklık sistemimize aittir. Bağışıklık sistemimiz patojen organizmalara karşı ilk savunmayı oluşturan doğal immün sistem ve uzun süreli etkin korumayı sağlayan edinsel immün sistem olmak üzere birlikte çalışan iki ayrı sistemden oluşmaktadır [2].

Bağışıklık sistemi, etkin bir işleyiş için ihtiyaç duyulan çok sayıda farklı hücre, hücre içi ve hücre dışı molekülleri üreterek vücudun savunma sistemini oluşturmaktadır [2].

Bu hücrelerin en önemlileri konak savunmasını sağlayan doğal öldürücü (NK) hücreler, doğal lenfoid hücreler (ILC), nötrofiller, bazofiller, eozinofiller, mast hücreleri, dendritik hücreler, monositler ve makrofajlar, T ve B lenfosit hücreleridir [2].

Hücreler yüzey reseptörleri aracılığı ile patojeni ve patojenle enfekte hücreyi tanıyarak yok edilmesini sağlarlar. Bu reseptörlerin bir kısmı mikroorganizma üzerinde bulunan ortak örgüleri (pattern recognition receptors - PAMP) ve hasarla ilişkili moleküler örgüleri (damage-associated molecular patterns - DAMP) tanıyan reseptörlerdir. DAMP'ler, tümör hücreleri, ölü veya ölmekte olan hücreler veya hipoksi gibi sinyallere yanıt olarak hücrelerden salınan ürünler dahil olmak üzere konakçı hücrelerden türetilir. PAMP ve DAMP'ları tanıyan reseptörler, hücrelerin hem dışında hem de içinde bulunmaktadır [3].

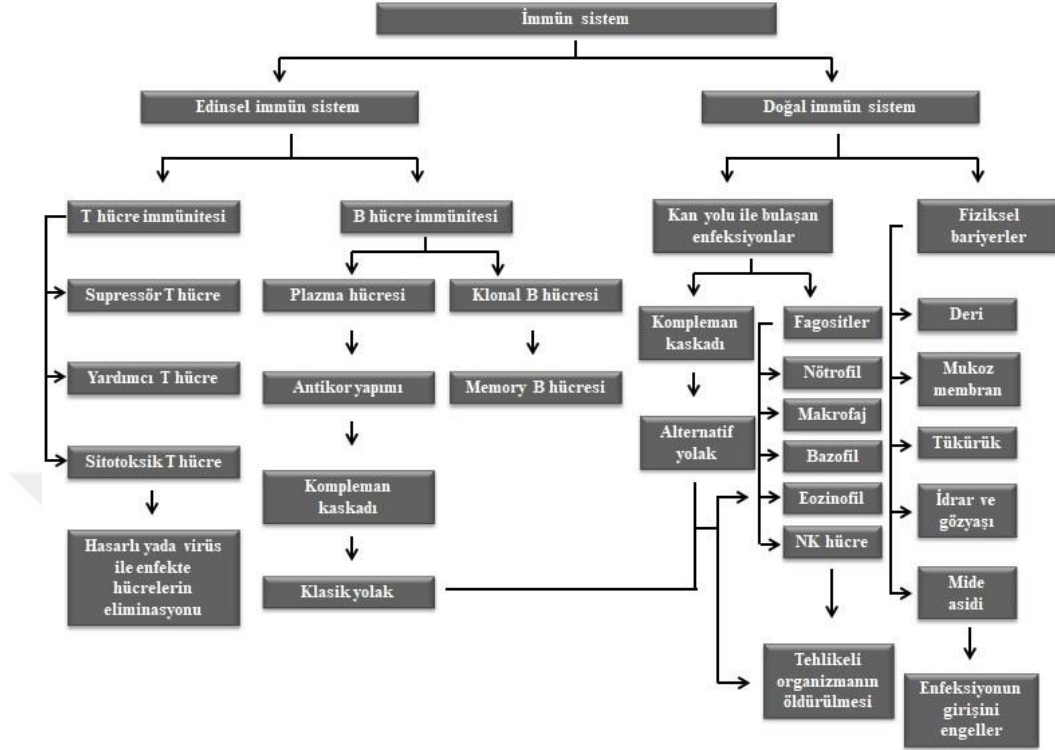
Bağışıklık sistemi, reaksiyonun hızı ve özgüllüğüne göre iki kısma ayrılmaktadır: Doğuştan gelen doğal bağışıklık sistemi ve uyarılabilir edinsel bağışıklık sistemi [3].



Şekil 2.1. Doğal ve edinsel immün sistem hücreleri.

Bağışıklık sistemi birbiriyle etkileşim içinde olan başlıca iki bileşenden oluşur: doğuştan gelen ve kazanılmış bağışıklık sistemi. Doğuştan gelen bağışıklık sistemi hızlı ama spesifik olmayan tepkiler verirken, edinsel bağışıklık tepkilerinin gelişmesi daha uzun sürer ancak oldukça spesifiktir ve uzun süreli hafıza kapasitesine sahiptir. Doğuştan gelen bağışıklık tepkisine esas olarak monositler, doğal öldürücü hücreler (NK), dendritik hücreler ve kompleman sistemi aracılık eder ve çevresel patojenlere karşı ilk savunma hattı olarak hizmet etmektedir. T ve B lenfositleri, adaptif bir bağışıklık tepkisi oluşturmada çok önemlidir ve benzersiz ve oldukça spesifik T hücre reseptörlerinin (TCR) antijen sunumu yoluyla tanıdıktan sonra, birlikte uyarıcı sinyalleri aktive etmek için birleşirler [4].

Konağın doğuştan gelen savunma mekanizmalarının aksine, edinsel bağışıklık sistemi hedef antijenleri için büyük bir özgüllük sergiler. Uyarlanabilir yanıtlar esas olarak T ve B lenfositlerinin yüzeylerinde eksprese edilen antijene özgü reseptörlere dayanmaktadır [5].



Şekil 2.2. İmmün sistemin elemanları ve görevleri.

2.1.1. Doğal Bağışıklık

Doğuştan gelen bağışıklık, konakçının ilk savunmasında etkili olan elemanlarının yanı sıra (nötrofiller, monositler, makrofajlar, kompleman sistemi molekülleri, sitokinler ve akut faz proteinleri) fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik engelleri de içermektedir [6].

Doğal immün sistem hücreleri, mikrobiyal bileşenleri hücre yüzey ve sitoplazmik tanıma reseptörlerini ifade eder. Bu reseptörler aracılığıyla oluşan sinyal efektör hücreleri doğrudan uyarır. Uyarana yanıt hızla düzenlenir ve efektör mekanizmalar, patojen algılandıktan sonraki saatler içinde harekete geçer, böylece yaygın patojenlere karşı ilk savunma hattı sağlanmış olur [7].

Doğal immün sistem, hücrelerin enfeksiyon bölgesine göçünü artıran, patojenlerin yutulmasını ve öldürülmesini sağlayan kritik proinflamatuvar sitokinler ve crp gibi uyarıcı moleküllerin varlığı ile aktive olur. Bu hücreler ayrıca, T hücre aracılı bağışık yanıtı uyaran antijen sunan hücrelerin (yani dendritik hücreler ve diğerleri) olgunlaşmasını ve göçünü kolaylaştırarak

doğuştan ve antijene özgü tepkiler veren edinsel bağışıklık arasında kritik bir köprü görevi görür. Doğal bağışıklık sisteminin hücreleri arasında makrofajlar, polimorfonükleer granüositler (PMN'ler), dendritik hücreler ve doğal öldürücü (NK) hücreler bulunmaktadır [7].

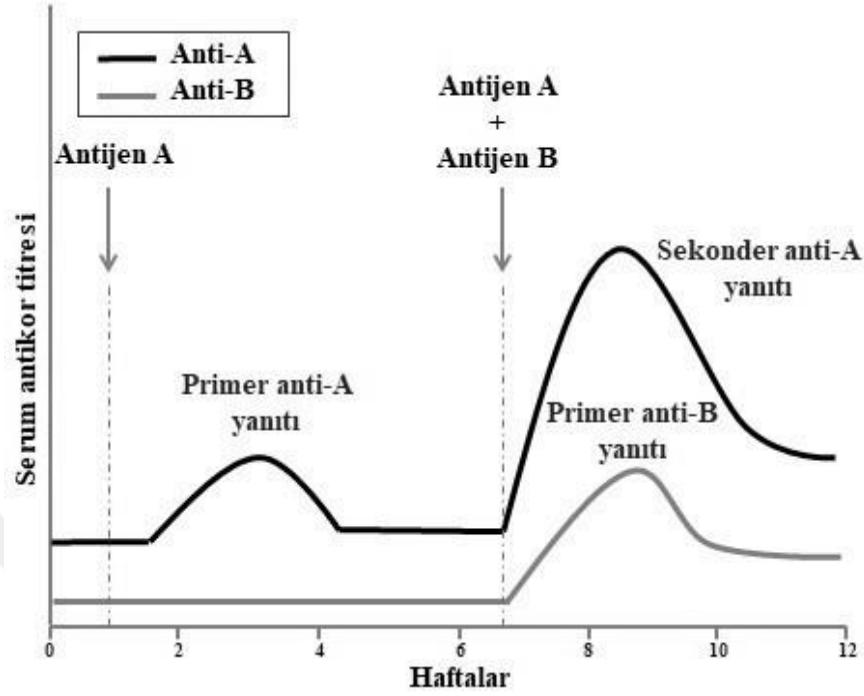
PMN'ler, makrofajdan üretilen kemotaktik sinyallere yanıt olarak enfeksiyon bölgelerine ulaşan ve hücre dışı bakterileri fagosite ederek konakçı koruması sağlayan ilk hücre tipidir. Bakteri enfeksiyonlarında inflamatuvar bölgelere giden PMN sayıları yaşlılarda azalmamaktadır [7].

2.1.2. Edinsel Bağışıklık

Edinsel bağışıklığı doğal bağışıklık yanıtından ayıran temel özellik; özgüllük ve bellektir. Özgüllük, farklı antijenlere karşı oluşturulan antijene-spesifik bağışık yanıt olarak tanımlanmaktadır. Yanıtın spesifik olmasının nedeni, lenfositlerin antijeni tanıyan reseptörlerindeki binlerce farklılıktır. Bellek ise, aynı antijen ile tekrar karşılaşma durumunda oluşturulan artmış ve etkili yanıt olarak tanımlanmaktadır [7].

Edinsel bağışıklıkta cevap antijene spesifiktir ve daha etkindir ancak süreç birkaç gün veya hafta sürebilir [6].

Antijene spesifik cevap, gen transkripsiyonu, protein sentezini, yeniden gen düzenlemesi, lenfosit klonal genişlemesini içeren bir dizi olayla gerçekleşir. Bu süreç, doğal bağışıklıktan çok daha yavaştır ve antijen karşılaşmasından 4-7 (veya daha fazla) gün sonra maksimum düzeye ulaşır, Antijenle tekrar karşılaşıldığında ise devreye hızlı yanıt sağlayan uzun ömürlü bellek hücreleri girer. Antijenin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile nasıl işlendiği ve sunulduğu, nihai sonucu belirler; antikor sentezi (humoral bağışıklık) veya T hücre bağımlı inflamasyon oluşumu (hücrel bağışıklık) gerçekleşir [8].



Şekil 2.3. Edinsel immün sistemin özgüllüğü ve belleği.

2.2. Bağışıklık Sistemi Hücrelerindeki Cluster of Differentiation (CD) Molekülleri

CD sistemi; insan, fare ve ratlarda lökosit antijenlerinin isimlendirmesinde kullanılan bir adlandırma yöntemidir. Farklı lökosit popülasyonlarındaki işaretlenme özelliklerine göre gruplandırma yapılmaktadır. Ayrıca CD belirteçlerinin hücrelerin lokalizasyonu, kantitasyonu ve tanımlanmasında, hastalık ve sağlık durumlarındaki birçok işlevin analizinde kullanılmaktadır [7].

2.2.1. CD16

CD16, düşük afiniteli IgG reseptörü III (FcγRIII) olarak bilinir. İki farklı form (CD16a ve CD16b) olarak ifade edilir. CD16a (FcγRIIIa), 50-65 kD polipeptit bağlantılı bir transmembran proteinidir. İnsanlarda NK hücrelerinin, aktive edilmiş monositlerin, makrofajların, T hücrelerinin bir alt kümesinin ve plasental trofoblastların yüzeyinde eksprese edilmektedir [9].

FcγRIIIa mast hücreleri, makrofajlar ve doğal öldürücü hücreler üzerinde bir transmembran reseptörü olarak ifade edilirken, FcγRIIIb yalnızca nötrofiller üzerinde ifade edilmektedir [10].

CD16b (FcyRIIIB), 48 kD glikosilfosfatidilinositol (GPI) bağlantılı bir proteindir. Hücre dışı alanı, CD16a'ninkine %95'in üzerinde homologdur ve özellikle nötrofiller üzerinde eksprese edilir. CD16, NK hücre aktivasyonunda, fagositozda ve antikora bağlı hücre aracılı sitotoksistide (ADCC) işlev gören kümelenmiş IgG veya IgG-antijen kompleksini bağlamaktadır.

2.2.2. CD57

CD57 antijeni (human NK-1 antijeni karbonhidrat parçası), çeşitli polipeptitlere veya lipitlere bağlanabilen sülfatlanmış glukoronik asit kalıntıları içeren bir oligosakkarittir. Periferik kanda, doğal öldürücü aktiviteye sahip hücrelerin bir alt kümesinde bulunur.

NK hücrelerinin çoğunda eksprese edilir; NK hücrelerinin tespitinde CD16, CD56, ve CD57 kombinasyonları tek işaretten daha güvenilirdir.

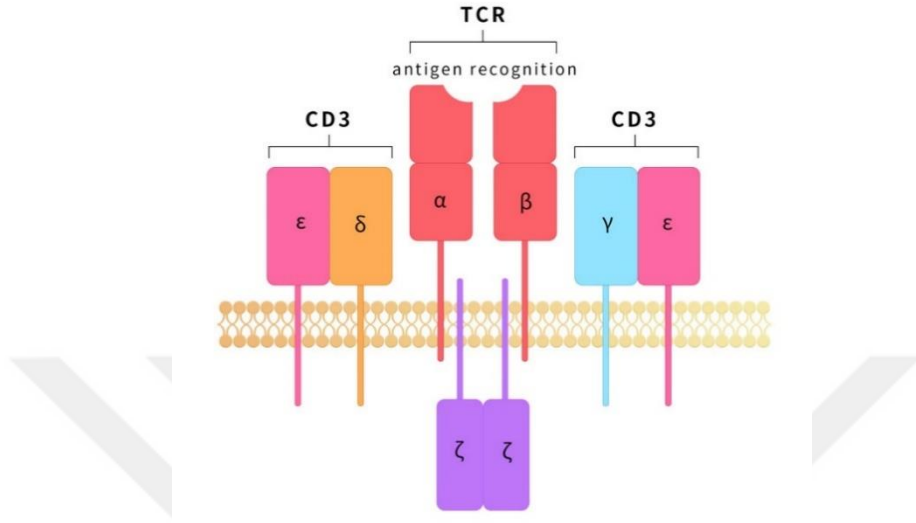
T hücresi verileri, CD57'nin ayrıca zayıf proliferatif kapasiteye ve belki de bir dereceye kadar immün yaşlanmaya sahip NK hücrelerinin bir belirteci olabileceği öne sürüldü [3].

Doğumda T hücresi hiç CD57 ifade etmemektedir, ancak oran yaşla birlikte artarak genç erişkinlerde %20-30'a ulaşmaktadır; 80 yaşında CD8⁺ T hücrelerinin %50-60'ı CD28⁻'dir (ve dolayısıyla muhtemelen CD57⁺) [4].

Doğumda, tüm CD56^{dim} NK hücreleri CD57⁻'dir; yetişkinler arasında (18-60 yaş) CD56^{dim} NK hücrelerinin %25-60'ı CD57⁺ 'dir ve bu, 80 yaşından sonra hafif ama önemli ölçüde artmaya devam etmektedir [11].

2.2.3. CD3

CD3 molekülü gamma, delta, epsilon, zeta ve eta olmak üzere 5 polipeptit zincirinden oluşmuş 81 kilodalton (Kd) ağırlığında bir glikoproteindir. Olgun T-lenfosit belirleyicisidir. Ayrıca T-hücre reseptörünün (TCR) hücre içinde kalan bölümünü oluşturur. TCR'nin hücre yüzeyinde belirerek fonksiyonlarını yürütmesini sağlar. CD3'ün organizmadaki en önemli fonksiyonu T-hücre aktivasyonunda rol oynamasıdır. Temel bir sinyal iletim molekülüdür [12].



Şekil 2.4. T hücre reseptörü

2.2.4. CD45RO

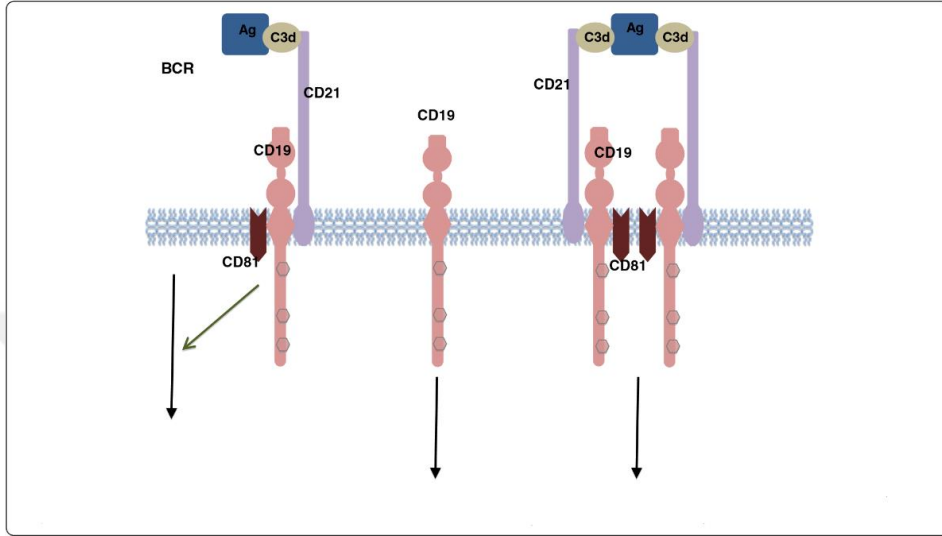
CD45RO antikor, lökosit ortak antijeninin (CD45RO) bir izoformu olarak tanımlanan 180-185kDa proteini tanır. Bu antikor tarafından tanınan epitop, nöraminidaz sindirimine duyarlıdır. Bu antikor olgun aktive edilmiş T-hücreleri, çoğu timosit ve hem CD4 hem de CD8 altkümeleri içindeki dinlenme halindeki T-hücrelerinin bir alt popülasyonu ile reaksiyona girer. Normal B veya doğal öldürücü hücrelerle reaksiyon göstermez, ancak granüositler ve monositlerle reaksiyona girer. Bildirildiğine göre, T hücreli lenfomaları ve lösemileri tanımlamada yararlıdır. NK hücrelerini veya B hücreli lenfomaları nadiren boyar [9].

2.2.5. CD19

CD19, B4 olarak da bilinen bir 95 kD tip I transmembran glikoproteindir [13]. 16,16p11.2 kromozomunun kısa kolunda bulunan 7.41 kilobitlik cd19 geni tarafından kodlanır. Gen 15 ekzon içerir ve 556 amino asitli CD19 molekülünü kodlar [14].

B hücreleri (pro-B'den blastoid B hücrelerine, plazma hücrelerinde yoktur) ve foliküler dendritik hücreler üzerinde eksprese edilen immünoglobulin süper ailesinin bir üyesidir. CD19, B

hücresi gelişimi, aktivasyonu ve farklılaşmasında yer alır. CD19, CD21 (CR2) ve CD81 (TAPA-1) ile bir kompleks oluşturur ve bir BCR yardımcı reseptörü olarak işlev görür.



Şekil 2.5. B hücre reseptörü

CD19, tek bir transmembran alanı, bir sitoplazmik C-ucu ve hücre dışı N ucu olan bir tip I transmembran proteini olarak sınıflandırılır. CD19 ve diğer bilinen proteinler arasında önemli bir homoloji yoktur. Hücre dışı eleman, daha küçük bir potansiyel disülfid bağlantılı Ig benzeri olmayan alan ile bölünmüş iki C2 tipi Ig benzeri alan ve ayrıca N-bağlı karbonhidrat ekleme yerleri içerir [15].

Antijen-C3d kompleksleri, CD19/21 kompleksini hem BCR'den bağımsız hem de BCR'ye bağımlı bir şekilde bağlayabilir. CD19 kompleksi, C3d ile modifiye edilmiş antijeni bağlayan kompleman reseptörü CD21'i içerir [15].

2.2.6. CD27

CD27, yedinci üyesi olduğu TNF reseptör süper ailesine (TNFRSF7) ait, 50-55 kDa moleküler kütleye sahip glikosile edilmiş, tip I bir transmembran proteindir. Bu protein aynı zamanda T hücresi aktivasyon antijeni, S152 proteini ve T14 proteini olarak da bilinir. 12p13.31 kromozomal bölgesinde yer alan bir gen tarafından kodlanır [13].

2.3 Bağışıklık Sistemi Hücreleri

2.3.1 T Lenfositler

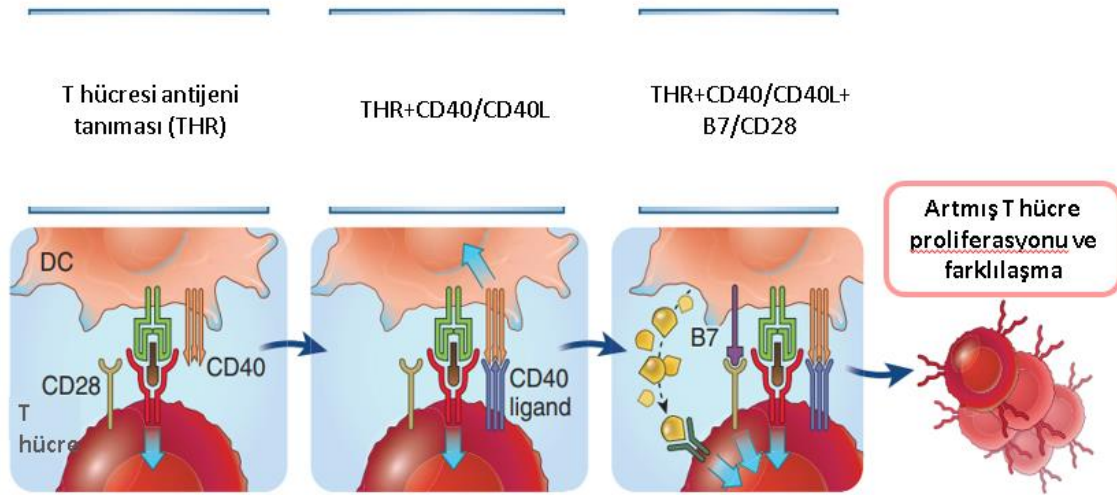
T hücreleri, bağışıklık sisteminin işleyişinde kritik öneme sahiptir. T hücresi gelişimi timusta meydana gelir ve esas olarak $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücre olarak fonksiyonları farklı iki önemli alt gruba ayrılır.

Naif T hücrelerinin üretimi tamamen timus fonksiyonuna bağlıdır, bu nedenle timusun dejenerasyonu, immün yaşlanma çalışmaları için büyük önem taşımaktadır [16].

Timusun dejenerasyonu hücrelerin hem yapısal değişikliklerinde hem de işlevlerinde negative anlamda değişime yol açarak Naif T hücrelerinin timustan çıkışında önemli bir azalmaya neden olur [17]. Bu durum T hücre reseptör çeşitliliğini azalmasına ve T hücre homeostazının yok olmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle, timus dejenerasyonu, edinsel bağışıklık sisteminin yaşa bağlı zayıflamasının önemli nedenlerinden biridir [18].

Yaşlılarda hafıza $CD8^+$ T hücrelerinin sayısı ve oranı genellikle daha yüksektir ve bağışıklık fonksiyonlarını etkiler [19].

Olgunlaşmasını tamamlamış naif T hücreleri, lenf düğümlerinin yüksek endotelial venüllerindeki adhezyon moleküllerine bağlanan, hücrenin lenf düğümlerine girmesini ve ASH ile geçici olarak bağlanmasını sağlayan reseptörleri taşırlar. Timusta gelişimlerini tamamlayan T hücreleri stabil değildirler, lenf ve kan dolaşımı aracılığıyla tüm vücudu 1-2 gün içerisinde dolaşırlar. Bu süreç içerisinde antijen sunan (ASH) ile karşılaşan T hücresi 2-3 gün içinde aktivasyonunu tamamlar. $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücrelerinin taşıdıkları T hücre reseptörü (THR) farklılık gösterir. $CD4^+$ yardımcı T hücreleri MHC sınıf II ile sunulan antijenleri tanırken, $CD8^+$ sitotoksik T hücreleri MHC sınıf I ile sunulan antijenleri tanımaktadır. Antijen ile karşılaşma sonrası aktivasyonun gerçekleşmesi, THR ve CD3 aracılığı ile iletilen sinyale ek olarak T hücre yüzeyinde bulunan koreseptör moleküllerine de bağlıdır. T hücre aktivasyonunda rol alan ve T hücre yüzeyinde bulunan temel ko-reseptörler sırasıyla CD28, CTLA-4 (sitotoksik T lenfosit ilişkil protein-4) ve CD40 ligand proteinlerine bağlanan CD80, CD86 ve CD40 molekülleridir [2].



Şekil 2.6.T hücre aktivasyonu

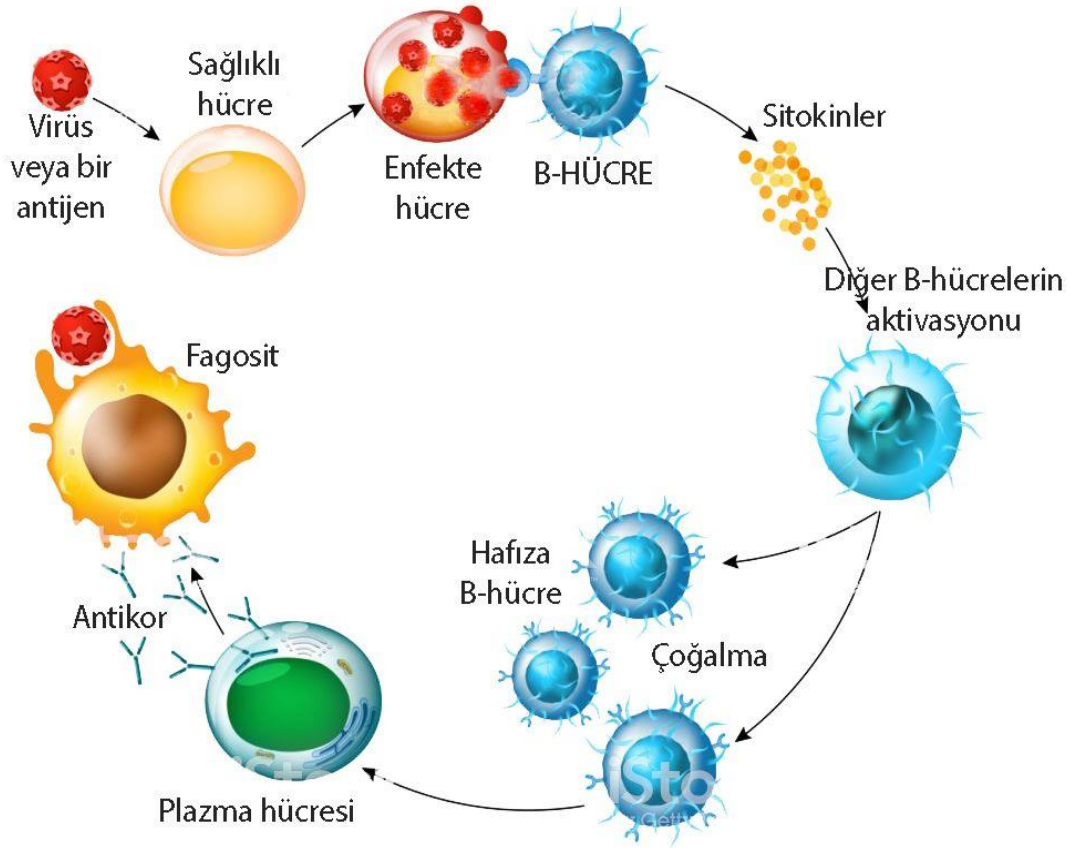
Antijenle aktive olan lenfositler daha yüksek seviyelerde telomeraz aktivitesi gösterir. T hücrelerinde, TCR ve CD28'in antijenler, lektinler veya antikorlar tarafından çapraz bağlanması, en sonunda NF- κ B gibi transkripsiyon faktörlerinin çekirdeğe translokasyonunu indükleyen bir sinyal iletim kaskadını başlatır. İnterlökin-2 (IL-2) DNA sentezini ve telomeraz aktivasyonunu başlatmaktadır [20].

2.3.2. B hücreleri

Humoral bağışıklıkta rol oynayan hücre grubudur. Yüzeyinde taşıdığı immünglobülin (Ig) molekülleri iki ağır zincir ve iki (κ veya λ) hafif zincirden oluşur. Ağır ve hafif zincirlerin amino terminal kısımları, değişken bölge olarak adlandırılır ve antikor molekülüne özgü olarak amino asit diziliminde değişiklik gösterir. Beş farklı Ig (IgA, IgG, IgE, IgM, IgD) molekülünün üretiminden sorumlu olan B lenfositleri CD3 ifade etmezler ve B Hücre Reseptörü (BHR) ile bağımlı ve bağımsız şekilde hücre uyarılmasında rol alan CD19 ifadesi ile tanımlanırlar. Kök hücrelerin B soyuna farklılaşması, IL-7 üreten kemik iliği stromal hücrelerine bağlıdır. Olgunlaşmasını tamamlayan naif B hücreleri yüzey membranında IgM ve IgD eksprese eder [5].

Naif B hücreleri, IgM ve IgD aracılığıyla antijeni tanır ve efektör hale gelirler. Bu süreçte Th hücreleri ve onların salgıladığı sitokinler ve diğer uyarılar aracılığıyla da uyarıldıktan sonra klonal olarak çoğalmaya ve farklılaşmaya başlar. Farklılaşma T hücre aracılı olduğunda B hücreleri izotip dönüşümüne gider, plazma hücrelerine dönüşür ve antikor üretmeye başlar. T

hücre etkileşimi olmadan aktifleşen hücreler marjinal bölge B hücrelerini (kan kaynaklı antijenlere karşı yanıt) ve B-1 (mukozal dokuda ve peritonda protein yapıda olmayan antijenlere karşı yanıt) hücreleri oluşturur. Bellek B hücreleri uzun süre yaşamına devam ederek tekrarlayan karşılaşma ikincil immün yanıtın daha güçlü ve hızlı oluşturulmasını sağlar [2,5].



Şekil 2.7. B hücresi gelişimi

2.3.3. Doğal Öldürücü (NK) Hücreler

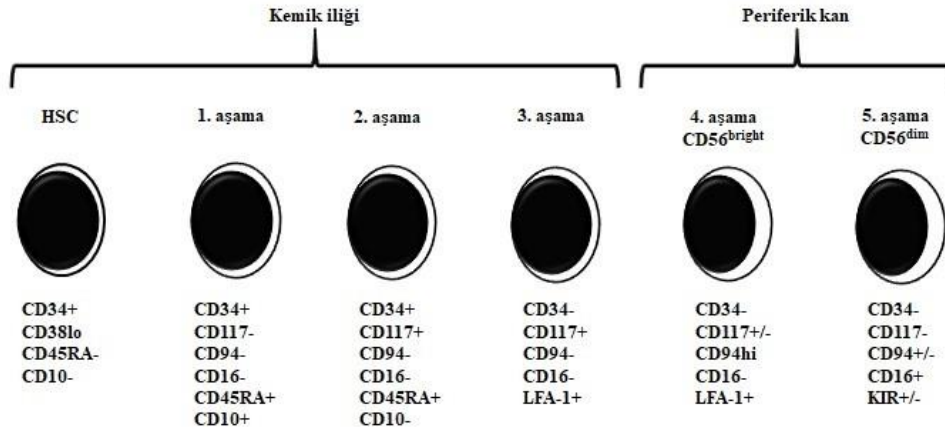
NK hücrelerinin üçüncü bir lenfoid hücre soyunu temsil ettiği düşünülmektedir. Aktive olduklarında iri granüler lenfosit morfolojisine sahiptirler. IL-2, IL-15 ve kemik iliği stromal hücrelerinin etkisi altında kemik iliğinde gelişirler [20].

Periferik kan hücrelerinin sadece küçük bir kısmını dalak ve diğer sekonder lenfoid dokulardaki lenfoid hücrelerin küçük bir kısmını temsil ederler. NK hücrelerinin antijene özgü reseptörleri yoktur.

Sitotoksik aktiviteleri, yüzeylerinde sınıf I HLA moleküllerini tanıyan inhibitör reseptörler MHC sınıf I molekül ekspresyonunu down regüle ederek hedef hücrelerin ölümüne neden olmaktadır. Bununla birlikte, NK hücrelerin de aktive edici reseptörlere sahiptir [20].

NK hücreleri, antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksisite ile hedef hücreleri yok edebilir. Öne çıkan anti-tümör etkileri vardır ve viral olarak enfekte olmuş hücrelerin güçlü öldürücüleridirler [20].

NK hücrelerinin iki alt popülasyonu, olgunlaşmamış $CD14^+CD56^{dim}$ ve olgun $CD14^+CD56^{bright}$, bulunmaktadır. İmmün yaşlanma NK hücrelerinde sayı ve fonksiyon kaybına neden olmaktadır [21].



Şekil 2.8. NK hücre gelişimi.

2.4. Sitokinler

2.4.1. İnterlökin-2 (IL-2)

İnterlökin-2 (IL-2), bağışıklık sisteminde bir tür sitokin sinyal molekülü olan bir interlökindir. Bağışıklıktan sorumlu olan beyaz kan hücrelerinin (lökositler, genellikle lenfositler) aktivitelerini düzenleyen 15.5-16 kDa'lık bir proteindir [24].

IL-2, lenfositler tarafından eksprese edilen IL-2 reseptörlerine bağlanarak etkilerine aracılık etmektedir. IL-2'nin ana kaynakları, aktive edilmiş CD4⁺ T hücreleri ve aktive edilmiş CD8⁺ T hücreleridir [24].

IL-2, reseptörlerine farklı afinitelerde bağlanır [3]. IL-2, alfa (CD25), beta (CD122) ve gama (CD132) olarak adlandırılan üç zincirden oluşan bir kompleks olan IL-2 reseptörü aracılığıyla sinyal vermektedir [25].

IL-2, diğer polarize edici sitokinlerle birlikte, naif CD4⁺ T hücre farklılaşmasını Th1 ve Th2 lenfositlerine uyarırken, Th17 ve foliküler Th lenfositlerine farklılaşmayı engellenmektedir [25].

2.4.2. IL-4

İnterlökin 4 (IL-4), naif yardımcı T hücrelerinin (Th0 hücreleri) Th2 hücrelerine farklılaşmasını indükleyen bir sitokindir. IL-4 tarafından aktivasyon üzerine, Th2 hücreleri daha sonra pozitif bir geri besleme döngüsünde ek IL-4 üretmektedir. IL-4 esas olarak mast hücreleri, Th2 hücreleri, eozinofiller ve bazofiller tarafından üretilir [22].

IL-4, aktive edilmiş B hücresi ve T hücresi proliferasyonunun uyarılması ve B hücrelerinin plazma hücrelerine farklılaşması dahil birçok biyolojik role sahiptir. Hüморal ve adaptif bağışıklıkta bir düzenleyicidir. IL-4, B hücre sınıfının IgE'ye geçişini indükler ve MHC sınıf II üretimini yukarı regüle etmektedir [23].

2.4.3. IL-10

İnsan sitokin sentezi inhibe edici faktör (CSIF) olarak da bilinen interlökin 10 (IL-10), bir anti-inflamatuar sitokindir. İnsanlarda interlökin 10, IL10 geni tarafından kodlanmaktadır [22].

IL-10, immün düzenleme ve inflamasyonda çoklu, pleiotropik etkileri olan bir sitokindir. Th1 sitokinlerinin, MHC sınıf II antijenlerinin ve makrofajlar üzerindeki yardımcı uyarıcı moleküllerin ekspresyonunu azaltmaktadır. Ayrıca B hücresinin hayatta kalmasını, çoğalmasını ve antikor üretimini artmaktadır [22].

 mm nosenesans, naif T ve B lenfositlerinin sayısında azalma, hafıza ve efektör T ve B hücrelerinin birikimi, kusurlu antikorların üretimi, otoantikorların üretiminde artış ve kronik düşük dereceli inflamasyon (inflamaging) ile sonuçlanan insan yaşlanmasının ayrılmaz bir parçasıdır. Yaşlanmaya bağlı olarak proinflamatuvar sitokinler, kemokinler ve adipokinlerin konsantrasyonlarında hafif artışlar meydana gelmektedir [23].

2.4.4. IL-6

 nterl kin 6 (IL-6) , bir proinflamatuvar sitokindir. Patojenle ilişkili moleküler örgülere (PAMP'ler) yanıt olarak makrofajlar tarafından salgılanır. Bu PAMP'ler, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin önemli bir tanıma molekül grubu olan PRR'lere ba lanır. Bunlar, hücre yüzeyinde ve hücre iç kısmında bulunur ve enflamatuvar sitokin üretimini sağlayan sinyal kaskadlarını harekete geçirir. IL-6, kemik iliğinde nötrofil üretiminde ve akut faz protein sentezini uyarmakla görevlidir. B hücrelerinin büyümesini destekler ve düzenleyici T hücrelerine karşı antagonistik olarak çalışır [26].

Yaşlanmaya bağlı olarak, sağlıklı yaşlanan alt grupta ve yaşlanmayla ilişkili hastalıklardan mustarip bireylerde IL-6 sistematik olarak yaşa bağlı bir şekilde arttığı gözlenmektedir.[27].

2.4.5. TNF- 

Tümör nekroz faktörü, inflamasyonda yer alan ve akut faz reaksiyonunu oluşturan sitokinlerden biridir. CD4+ lenfositler, NK hücreleri, nötrofiller, mast hücreleri, eozinofiller ve nöronlar gibi diğer birçok hücre tipi tarafından üretilmesine karşın, esas olarak aktif makrofajlarca üretilir. Birincil rolü bağışıklık hücrelerinin düzenlenmesidir. Ateşi, apoptotik hücre ölümünü ve inflamasyonu tetiklerken, t m rijenez ve viral  o almayı baskılayabilir. Yaşlanmanın, artan inflamatuvar aktivite ve TNF-   proteinlerinin dolaşımdaki seviyelerinin artmasıyla ilişkili olduğunu bilinmektedir [28].

2.4.6. IL-17A

IL-17A proinflamatuvar bir sitokindir. Bu sitokin, NF- κ B ve mitojenle aktive olan protein kinazların aktivitelerini düzenler. IL-17A, çeşitli bağışıklık tepkilerinde ve enflamatuvar süreçlerde yer alır. CD4+, CD8+, NKT ve doğal lenfoid hücreler (ILC'ler) dahil olmak üzere lenfositler, IL-17A'nın birincil kaynaklarıdır [29].

Yaşlanmanın, yardımcı T hücrelerinin (Th1, Th2 ve Th17) proinflamatuvar bir dengesizliği ile karakterize olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Th17 hücreleri, pro-enflamatuvar sitokinler IL-17, IL-21 ve IL-22'yi üretmeleri ile karakterize edilir. Yaşlanma sırasında değişen sitokin ekspresyonu ile Th17/Treg oranlarındaki değişiklikler, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar bağışıklık tepkisi arasındaki dengesizliğe katkıda bulunabilir. Bu, artan yaşla birlikte inflamatuvar hastalıklara yakalanma olasılığının arttığını gösterir [30]. Bu nedenle, IL-17A'nın enflamasyon üzerindeki etkileri yoluyla immün yaşlanmaya dahil olması makuldür [31].

2.5. Immunosenescence

Bağışıklık fonksiyonu, genellikle immün yaşlanma olarak adlandırılan süreçte yaşla birlikte düzensizleşir. İmmün yaşlanmanın özellikleri, yeni enfeksiyonlara ve aşılama daha zayıf bir yanıtın yanı sıra artan öze karşı yanıtta ve kronik iltihap ile azalmış anti-tümör aktivitesi ile ilişkilidir. Yaşa bağlı timus involüsyonu, genel T lenfosit gelişimini etkileyen dinamik bir süreçtir [32].

İmmün yaşlanma ile bağışıklık hücrelerinin antijene yanıt verme kapasitesinde bir dizi değişiklik gerçekleşmektedir. Klasik olarak "immün yaşlanma" olarak adlandırılan bu hücresel durum, bulaşıcı hastalıklara, kansere ve otoimmüniteye karşı duyarlılığı arttırmaktadır [33].

İmmün yaşlanma: (a) yeni istilacı enfeksiyöz ajanlara karşı azalmış yanıt, (b) zayıflamış hafıza T hücre yanıtı, (c) otoimmün hastalıklara karşı artan duyarlılık ve (d) şiddetli olmayan "kronik iltihaplanma" ile karakterize edilmektedir [34,35].

Çalışmaların çoğu, T hücre popülasyonlarında yaşa bağlı değişiklikleri değerlendirmeye yönelik çalışmalardır. Bu hücreler, iç ve dış ortamlardan gelen çok sayıda stresle etkileşim sonunda farklılaşmaktadırlar. Sonuç olarak, bağışıklık sisteminin yeniden düzenlenmesi yaşam boyunca devam etmektedir [36].

Bağışıklık sisteminde meydana gelen yaşa bağlı en büyük değişikliklerden biri, naif T hücrelerinin sayısında değişikliklere neden olan timik evrimdir; CD4⁺ T hücrelerinden ziyade CD8⁺ T hücrelerinde belirgin bir azalma gözlenmektedir. Bu azalmaya, T hücre reseptör (TCR) klonal çeşitliliğinde de azalma eşlik etmektedir. Bu durum antijene karşı verilen cevabın azalmasına neden olmaktadır. Buna karşılık bellek hücre popülasyonundaki artış, enfeksiyon etkenlerine daha şiddetli bir cevap verilmesine neden olur [37-39].

Yaşlanan CD8⁺ T hücreleri daha az CD27 ve CD28 membran reseptörleri ifade eden CD8⁺ T hücrelerine dönüşmektedir: (a) düşük proliferatif aktivite, (b) telomerlerin kısalması, (c) azalmış telomerase aktivitesi, (d) yaşlanmayla ilişkili belirteçlerin (ör. CD57 ve KLRG1) ve hücre içi moleküllerin (ör. NKG2D) ve (e) büyük miktarlarda IFN γ ve TNF α salgılanması sayılabilir [39].

İmmün yaşlanma çevresel faktörlere, antijenik maruziyetin tipine ve süresine ve epigenetik değişikliklere de bağlıdır [34].

İmmün yaşlanma, dolaşımdaki T hücre yaşlanmasının muhtemelen CD27, CD28, CD57, KLRG1, CD45 izoformları (RA/RO) gibi çoklu belirteçlerin ifadesi yoluyla değerlendirilebileceği öne sürülmektedir [40].

Antijene özgü hafıza T (CD45RO) hücrelerinin üretilmesi ve sürdürülmesi, uzun süreli bağışıklık ve etkili aşılama için çok önemlidir [41].

T hücrelerinde standart olarak dört bellek alt kümesi tanımlanır: naif, merkezi bellek (CM), efektör bellek (EM) ve CCR7, CD45RA/RO, CD27, CD28, CD62L ve CD95 yüzey işaretlerinin varlığı ile karakterize edilebilen terminal olarak farklılaşmış efektör hücreler (TE) [41,42].

Yaşlanmayla birlikte mutlak T hücre sayısı sabit kalmasına rağmen, bellek alt popülasyonlarında önemli değişiklikler gözlemlenmiştir (naif ve bellek hücreleri) [43,44].

Timik involüsyona bağlı olarak puberteden sonra işlevsel naif T hücrelerinin (CD45RA) azaldığı, bunun da mevcut naif T hücrelerinin artan homeostatik proliferasyonuna bağlı olarak naif T hücrelerinin bellek hücrelerine (CD45RO) fenotipik dönüşümüne neden olduğu kabul edilmektedir [45].

Yaşla birlikte meydana gelen en belirgin T hücresi değişikliklerinden biri, ortak uyarıcı molekül CD28'in kaybı ve yüksek oranda farklılaşmış CD28⁻ EM hücrelerinin (CD45RA⁺,

CD28⁻, CCR7⁻, CD62L⁻) birikimidir. Bu hücreler azalmış proliferatif kapasite, kısalmış telomerler, azalmış bir TCR repertuarı ve artmış sitotoksik aktivite ile karakterize edilir [46].

CD28, T hücresi aktivasyonu ikincil uyaran olduğundan, CD28 kaybı, enfeksiyonlara karşı artan duyarlılık ve yaşlı bireylerde aşılama karşı zayıflamış bir bağışıklık tepkisi ile ilişkilidir. Bununla birlikte, CD28⁻ T hücreleri anejik değildir, dolayısıyla doku aracılı bağışıklıkta da rol oynayabilirler (CD8⁺CD28⁻ T hücreleri) [47].

Yaşlanmanın CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerinin transkripsiyonel profilleri üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, CD8⁺ T hücreleri ve daha az ölçüde CD4⁺ T hücreleri, CD28 gen ekspresyonunun yaşla birlikte azaldığını göstermiştir. CD28⁻ bellek T hücrelerinde T-bet, eomesodermin (EMOES) ve MYC gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunda artış gözlenmiştir. T-bet ve EMOES, CD8⁺ T hücrelerinde T hücresinin efektör fonksiyonlarında ve hafıza gelişiminde önemli rol oynar ve IFN γ , granzim B ve perforin ekspresyonunu düzenler, bu da CD28⁻CD8⁺ hafıza T hücrelerinin, artan sitotoksitede kritik olarak aracılık ettiklerini gösterir [48].

Düzenleyici T-hücre (Treg, CD4⁺, CD25⁺, CD127⁻, Foxp3⁺) disfonksiyonunun, immün yaşlanmada önemli bir rol oynadığı ve T hücresi yanıtlarını baskılayarak yaşla birlikte hastalıklara karşı duyarlılığın artmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, yaşlanmayla birlikte Th1, Th2 ve Treg aracılı değişen cevaplar yaşla beraber artan enfeksiyon, otoimmünite ve kanserle ilişkilendirilmiştir [49].

Yaşlanma sürecinde, naif T lenfositlerin popülasyonu azalırken, hafıza T lenfositlerinin popülasyonu yoğun bir şekilde çoğalmaktadır [50].

Bellek T lenfositlerindeki bir artış, daha önce karşılaşılan antijenlerin immünolojik belleğini güçlendirir, böylece mevcut bağışıklık korumasını artırır. Kalan naif T lenfosit havuzu, T lenfosit reseptörü (TCR) "yapısal çeşitlilik" kaybı yaşanmaktadır [51].

Yaşlanma, naif CD4⁺ T ve CD8⁺ T lenfosit sayılarını farklı bir şekilde etkiler. CD4⁺ naif T lenfositlerinin sayısı, yaşam süresinin çoğu için sabittir, ancak 70 yaş civarında belirgin şekilde azalır. Aksine, CD8⁺ naif T lenfositleri apoptoza daha duyarlı görünmektedir ve bu nedenle yaşa bağlı değişikliklere karşı daha duyarlıdır. [52].

2.5.1. Doğal Bağışık Yanıtının Genç ve Yaşlı Bireylerde Dağılımı

Doğal bağışık yanıtın yaştan etkilendiğini gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu değişiklikler, kısmen fenotipik düzeyde olabildiği gibi fonksiyonlarında da olabilmektedir [53].

Antijen ve/veya mikrobiyal ajanın varlığında bölgeye ilk ulaşan hücreler nötrofillerdir. Yapışma kapasiteleri ve fagositik aktiviteleri yaşlı veya genç insanlarda farklılık göstermezken [54] kemotaksis, serbest radikal ve sitokin üretimi yaşla birlikte azalır [55, 56].

İnsan NK hücre popülasyonu, CD56 ve CD16 yüzey belirteçlerinin ifadesine dayalı olarak alt bölümlere ayrılabilir, CD56^{dim} NK hücreleri büyük ölçüde sitotoksiktir ve CD56^{bright} NK hücreleri birincil olarak IFN- γ ve TNF- α gibi sitokinlerin salgılanmasından sorumludur [8].

NK hücreleri kanser, hastalık, yaşlanma ve enfeksiyonla mücadelede kritik roller oynar, ancak işlevleri yaşla birlikte azalıyor gibi görünmektedir. Bağışıklık yaşlanmasının bir parçası olarak, NK hücre sitotoksitesindeki düşüş, muhtemelen viral enfeksiyona karşı artan duyarlılığın, artan genel hastalık yükünün ve yaşlılarda gözlenen yaşlanmış ve kanser hücrelerinin birikmesinin birincil nedenidir [57].

Antikor bağımlı sitotoksik aktivitede (NKCC)'de yaşa bağlı gözlenen düşüş bulaşıcı hastalık insidansındaki artışla ilişkilendirilmiştir [58,59].

NK hücrelerinin kendileri kısa ömürlüken (yaklaşık iki hafta), insan NK hücreleri yaşla birlikte telomer kısalması ve telomeraz aktivitesinde azalma gösterir [4]. Hücresel farklılaşma, telomer kısalmasında önemli bir role sahiptir dolayısıyla daha olgun CD56^{bright} NK hücrelerinin, olgunlaşmamış CD56^{dim} alt kümesinden daha kısa telomer uzunluğuna sahiptir[4] bununla birlikte NK hücrelerinin tüm alt kümelerinde yaşla birlikte telomer uzunluğu azalmıştır ve CD56^{bright} hücreler en büyük düşüşü göstermektedir [60].

Periferik kanda bulunan nöropeptitler, NK hücre aktivitesine bağlanır ve modüle edebilir [11]. Galanin, IFN- γ sekresyonunu modüle eder ve NK hücrelerini spesifik sitokinlere karşı hassaslaştırır [61], nöropeptit P maddesi ise NK hücrelerinin sitotoksitesini artırır ve NK hücre göçüne yardımcı olur [61]. Hem galanin hem de nöropeptit P maddesi yaşla birlikte ekspresyonu azaltır [5], yaşla birlikte gözlemlenen düşüşün, NK işlevinde yaşa bağlı bozulmaya katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir [5].

Yaşla birlikte NK hücre işlev bozukluğunun potansiyel bir nedeni, sistemik ortamdaki değişiklikler olabilir. İnsanlarda IL-2 üretiminde yaşla ilişkili köklü düşüş özellikle dikkate değerdir [7].

2.5.2. Edinsel Bağışıklık Yanıtın Genç ve Yaşlı Bireylerde Dağılımı

2.5.2.1. Hücresel bağışıklıktaki değişiklikler

Timusun boyutu ve hücre gelişimi pubertede zirveye ulaşır ve yaklaşık 20 yaşında körelmeye başlar, böylece 70 yaşına gelindiğinde saf T hücrelerinin perifere çıkışı genç yetişkinlere kıyasla belirgin şekilde azalır. Yaşlılarda denge, bellek T hücrelerinin artan frekansına doğru kayar [62].

Yaşla birlikte Th1 ve Th2 bellek hücreleri, genç hücrelere göre sırasıyla daha az IL-2 ve IL-4 üretir. Sitokin düzeyinde bu azalma daha az yardımcı CD4⁺ hücrelerinin oluşmasına neden olur ki bu da azalan humoral bağışıklığa neden olur.

Yaşlanan kemirgen modellerinde ve yaşlı insanlarda sitotoksik T hücresi aktivitesi benzer şekilde azalır ve bu da viral enfeksiyonlara karşı direncin azalmasıyla sonuçlanır [8].

Edinsel bağışıklık sistemindeki değişiklikleri özellikle T hücresi ve B hücresi popülasyonlarında gözlenmektedir [57].

Dolaşımdaki T hücrelerinin toplam sayısı yaşam boyunca nispeten sabit kalırken, yaşlı yetişkinlerde T hücre popülasyonları arasında çok yönlü değişikliklerin meydana geldiği bilinmektedir; bu değişiklikler büyük ölçüde yaşlanmayla birlikte adaptif bağışıklık yanıtın azalmasıyla ilişkilendirilmiştir [58].

Yaşlanan T hücresinde meydana gelen en belirgin değişiklik, timik döngünün bir sonucu olarak yeni naif T hücrelerinin (örneğin, CD45RA⁺ CD45RO⁻ CD62L⁺ CCR7⁺) azalmasıdır [58].

Timositlerin olgun naif T hücrelerine dönüştüğü özel lenfoid organ olan timus, yaşamın ilk yılında işlevsel olarak gerilemeye başlar ve bu süreç ergenliğin başlamasından sonra kesin olarak hızlanır [59]. Bu gerilemenin, timusteki epitel hücre yapısının yaşla birlikte bozulduğunu gösteren histolojik analizlerle kanıtlanmıştır [14]. Timik epitel hücrelerindeki bu bozulma timositlerin

gelişimi ve olgulaşması için gerekli sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin üretiminde azalmalara neden olmaktadır [14]. Bu sebeple perifere çıkan naif T hücrelerinin sayısı yaşla orantılı olarak azalır, örneğin, CD4⁺ T hücreleri ve CD31⁺/CD8⁺ T hücreleri [60].

Yaşlı yetişkinlerden alınan bellek T hücreleri genellikle azalmış proliferatif kapasite sergiler ve antijene karşı daha düşük seviyelerde sitokin üretir.

Kostimülatör reseptör olan CD28'in ekspresyonundaki yaşa bağlı düşüş, yaşlı erişkinlerde influenza aşılmasının ardından azalmış hücresel proliferasyon ve tamamlanmamış T hücresi aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir [63].

İlk olarak bir NK hücre belirteci olarak karakterize edilirken, CD57 en çok T hücreleri üzerinde replikatif yaşlanmanın bir belirteci olarak araştırılmıştır [1]. Kalıcı immün stimülasyon koşulları altında, hafıza T hücreleri CD28⁺CD57⁻'den CD28⁻CD57⁺'ya dönüşmektedir [2], CD57⁺ hücreleri kısa telomerlere, düşük telomerase aktivitesine, hücre döngüsü ile ilişkili genlerin düşük ekspresyonuna ve sınırlı proliferatif kapasiteye sahiptir [58]. Bununla birlikte, CD57⁺CD28⁻CD8⁺ T hücreleri, uygun bir sitokin ortamı verildiğinde çoğalabilir, oldukça sitotoksiktirler ve doğal öldürücü reseptörler ifade ederler [59].

T hücre verilerinde, CD57'nin ayrıca zayıf proliferatif kapasiteye ve belki de bir dereceye kadar immün yaşlanmaya sahip NK hücrelerinin bir belirteci olabileceği öne sürülmüştür [60].

Doğumda neredeyse hiç T hücresi CD57 ifade etmemektedir, ancak oran yaşla birlikte artarak genç erişkinlerde %20-30'a ulaşmaktadır; 80 yaşında CD8⁺ T hücrelerinin %50-60'ı CD28⁻'dir (ve dolayısıyla muhtemelen CD57⁺) [4].

Doğumda, tüm CD56^{dim} NK hücreleri CD57⁻ 'dir; yetişkinler arasında (18-60 yaş) CD56^{dim} NK hücrelerinin %25-60'ı CD57⁺ 'dır ve bu, 80 yaşından sonra hafif ama önemli ölçüde artmaya devam etmektedir [64].

2.5.2.2 Hümorale bağışıklıktaki değişiklikler

Hümorale bağışıklıktaki yaşa bağlı değişiklikler arasında B hücrelerinin olgunlaşması ve ayıca azalması azalması gösterilmiştir [64].

Bazı araştırmalar, kemik iliği stromal hücre fonksiyonunun yaşlılarda ciddi şekilde bozulduğu, dolayısıyla pro-B hücrelerinin üretiminin azaldığını öne sürmektedir, ancak çelişkili sonuçlar sunulmuştur [65].

Yaşla birlikte T hücre ve DC alt kümelerindeki değişiklikler hümoral bağışıklık cevabının gelişimini etkileme potansiyeline sahipken, yaşa bağlı doğrudan B hücrelerinde de kusurlar saptanmıştır. Yaşlı bireylerde kendiliğinden TNF- α salgılayan geç bellek B hücrelerinin yüzdesinde artış tespit edilmiş bu da, bağışıklık homeostazının ve B hücre fonksiyonunun daha fazla düzensizliğine yol açmaktadır [66].

B hücre homeostazındaki düzensizliğin, çevredeki olgun B hücrelerinin işlevselliği üzerinde de kayda değer bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. T hücrelerinde olduğu gibi, B hücresi periferik bellek hücrelerinin (örn. IgD⁻ CD19⁺ CD27⁺) yaşla birlikte arttığı gösterilmiştir [6]. Bellek B hücresi popölasyonundaki bu artış, kemikiliğnden periferik çıkan olgun B hücresi azalmasına neden olur. Bu durum, yeni antiğenlere yanıt vermek için mevcut repertuvara sahip klonların sayısını sınırlar [1].

Antiğenlere karşı azalan antikor tepkilerinin gözlemlenmesiyle birlikte IgG/IgA üretimine yönelik seçici bir kayma olduğu da gözlenmiştir [61].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta seçimi

Pilot alışmaya İ.Ü. Aziz Sancar DETAE alışanları katılmıştır. 20 ile 60 yaş aralığındaki sağlıklı, kronik rahatsızlığı ve otoimmün hastalığı olmayan ve son 3 ay içinde enfeksiyon hastalığı olmayan ve bu sebeple ilaç kullanmayan bireyler alınmıştır. Hastalardan 10cc yeşil kapaklı, (heparinize tüp) ve 10cc EDTA'lı kan alındı.

3.2. Kan Sayımı

Hastalardan alınan EDTA'lı kan, kan sayım cihazından geçirildi. Sağlıklı bireylerin hücre oranları ile enfeksiyon durumunu elimine edildi.

3.3. Hücre Dondurma

Her hasta için heparinli kan 2:1 oranında PBS-kan olacak şekilde 15 ml'lik falcona alındı. Kanlar 15'lik Falcona 1/1 oranında Ficoll üzerine yayıldı ve Ficoll üzerine yayılan kanlar 3000 rpm'de, 20dk, 20-22 °C'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası orta tabakada oluşan bulutumsu PBMC tabakası yeni bir 50 ml'lik falcona alındı. PBMC'lerin üstü PBS ile 40 ml'ye tamamlandı. Falconlar 1800 rpm'de, 10 dk, 4 °C'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası sıvı uzaklaştırıldı ve kalan sıvı ise 1000'lik pipet ile hücreler kaldırılmadan uzaklaştırıldı. Tüp içine 1 ml PBS konularak falconun alt tarafına yapışmış hücreler, tamamen kaldırılncaya kadar pipetaj yapıldı. PBS ile 40 ml ye tamamlandı. Falconlar 1800 rpm'de, 10 dk, 4° C'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırıldı. Sayım için her hastaya birer eppendorf hazırlanır ve içlerine 90µL FBS konuldu. Hücrelerden 10µL alınarak (1/10 dilüe edilmiş) eppendorflara aktarıldı ve pipetaj uygulanır. Eppendorflardaki örneklerin WBC sayımı yapıldı. Kan sayımı sonucuna göre cyro tüpler hazırlandı (her tüpte 10-15 milyon hücre olacak şekilde hesaplandı). Falcon tüplerine 500µL Fetal Bovine Serum (FBS) konuldu ve hücreler kaldırılana kadar pipetaj yapıldı. Bu miktar alınarak hazırlanan cyro tüplere aktarıldı ve üstüne 500µL %20 DMSO eklenerek -80 °C'ye kaldırıldı.

3.4. Hücre çözülmesi

Dondurularak saklanan PBMC'ler, 37 °C'lik su banyosunda 60 saniye inkübasyona bırakıldı. 1ml ısıtılmış (37 °C) tam RPMI'yi, bir transfer pipeti kullanarak, çözülmüş PBMC'lere eklendi. Çözülmüş PBMC'leri 37 °C'ye ısıtılmış (pipetleme olmadan) 15 ml'lik tüpten 5 ml içine RPMI konulmuş flow tüpüne aktarıldı. Cryovial'leri 2 ml oda ısısında tam RPMI ile yıkandı PBMC'leri 37 °C su banyosunda 5 dk inkübe edildi. PBMC'leri oda sıcaklığında 1800 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant boşaltıldı. PBMC'ler (37 °C, %5 CO2, %95 nem) 37 C'de bir saat süreyle inkübe edildi.

3.5. Akım Sitometresi için Hücrelerin Hazırlanması

Akım Hücre Ölçer analizinde değerlendirme yapılacak her belirteç için flow tüplerine, floresan işaretli monoklonal antikorlardan CD3PerCP-cy5.5, CD3-FITC/CD19PE, CD3FITC/CD16-56PE, CD3FITC/HLA-DRPE, CD57PE, CD16PE, CD27PE CD18FITC, CD11aPE, CD11bPE ve CD11cPE 5µl ve çözülmüş PBMC'lerden 100µl eklendi. 20 dakika karanlıkta inkübasyondan sonra 1800 rpm de PBS ile iki kere yıkandı ve üzerine 400µl PBS

eklenerek Akım Hücre Ölçerden (FACSCalibur ve Novocyte) değerlendirmeye hazır hale getirildi. Ölçümler 45/SS kapılama protokolüne göre yapıldı.

İstatistik değerlendirmelerde SPSS programı; ANOVA ve Student t testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi.

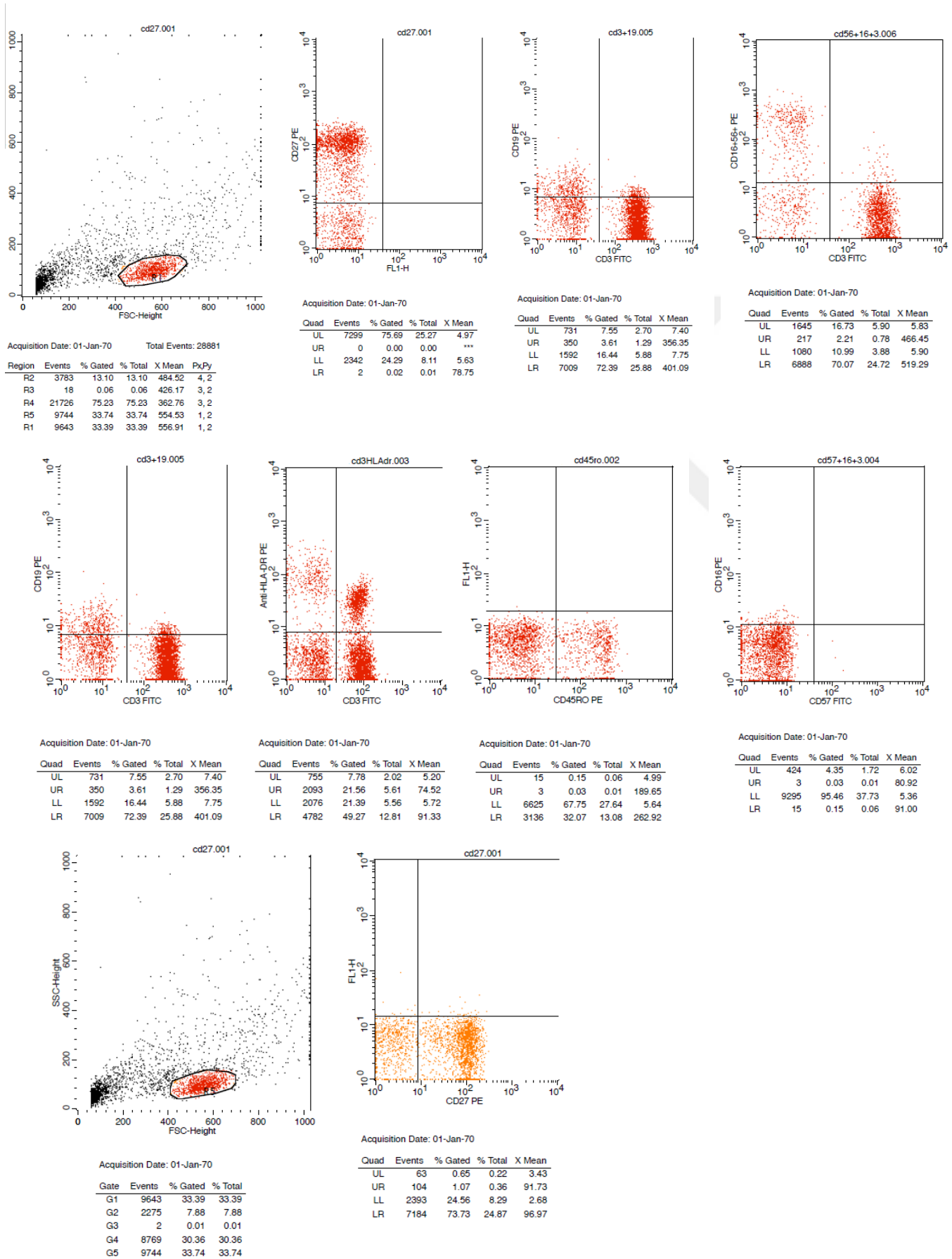
4. BULGULAR

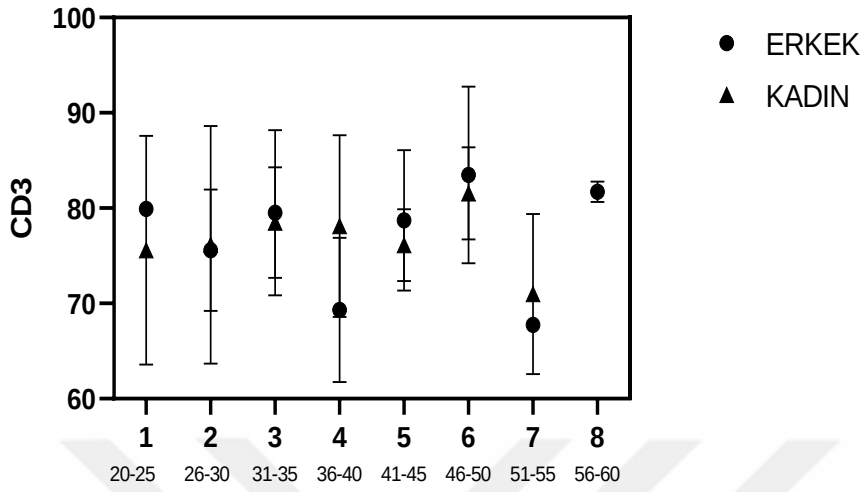
Yaşa bağlı olarak (20-60 yaş) bağışıklık sistemi hücrelerindeki değişiklikleri incelediğimiz çalışmamızda, özellikle NK hücrelerinde artan yaşa bağlı olarak % CD16, % CD16-56 ve % CD57 ifadesini anlamlı olarak düşük saptadık ($p < 0.032$). NKT hücrelerini artan yaşa bağlı olarak yüksek saptadık ($p = 0.038$). CD45RO ifadesi ise artan yaşla beraber anlamlı olarak yüksek bulduk ($p = 0.045$). Gerek T, gerek B gerekse adezyon moleküllerinde artan yaşa bağlı olarak anlamlı bir fark saptamadık ($p = 0.6$).

Tablo 1: Farklı yaş grupları arasında immünprofil yüzdesinin değerleri

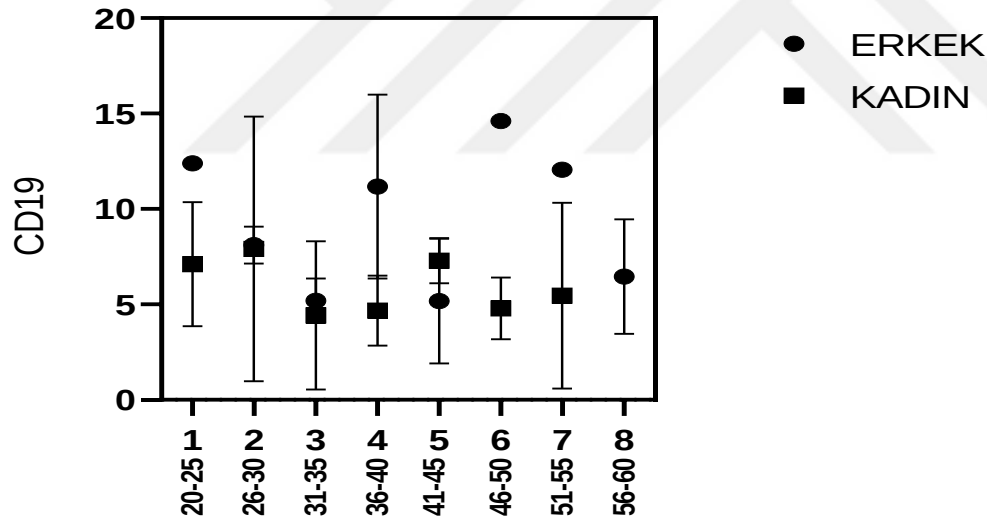
YAŞ	CD3	CD19	CD16	CD16/56	CD57	NKT	CD27	CD45RO	CD3/DR
20-25	82,2±3,8	14±2	9,2±0,5	14±2,1	0,17±0,01	3,5±2	67±6	27±2,5	29±2
26-30	76±6,7	7,8±2,9	4,7±1,7	7,9±4,3	0,34±0,8	4±1,5	71±7	28±4,3	22±4,3
31-35	79±6	6,8±1,5	4,8±1,5	4,1±3	0,14±0,019	4±0,8	68±9	21±3,2	23,5±41
36-40	75±6,9	7,8±3,2	3,4±1,9	10±5,6	0,06±0,01	2,8±2	75±6	29±4,8	20,8±3
41-45	79±6,2	5,8±2,5	1,4±0,6	9±4	0,08±0,01	2,9±1,4	62±9	28±3,5	25±3
46-50	82±5,5	6,3±3,8	2,4±1,4	5,2±1,4	0,06±0,01	4±2,4	72±10	31±3,6	28±7
51-55	69±6,1	9,3±4	1,5±0,8	12±2,3	0,05±0,01	3,2±1,3	65±4	32±3,4	27±4
56-60	79,±4	6,7±2,3	1,9±0,5	4,8±0,8	0,05±0,01	5,2±3	69±2	38±4	26±4

Şekil 4. Akan hücre ölçer ait immünprofil sonucu

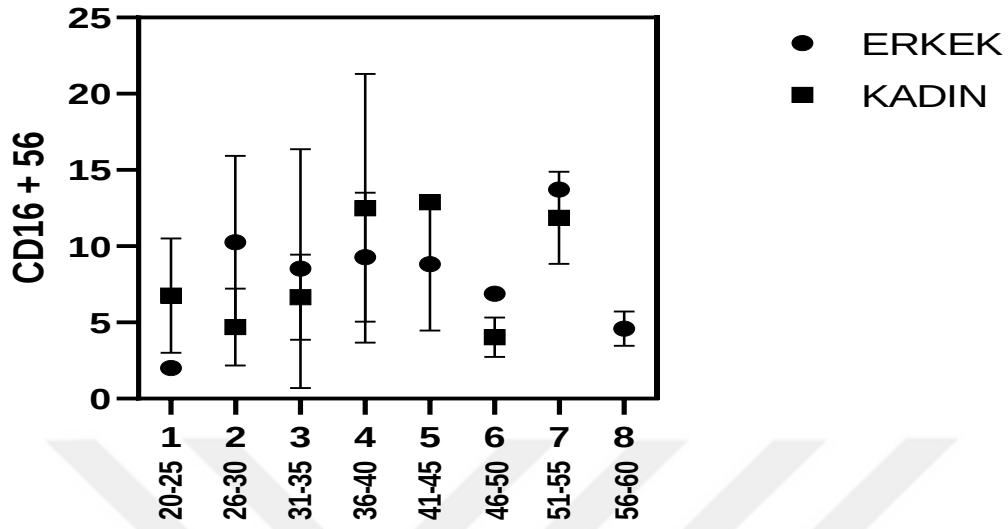




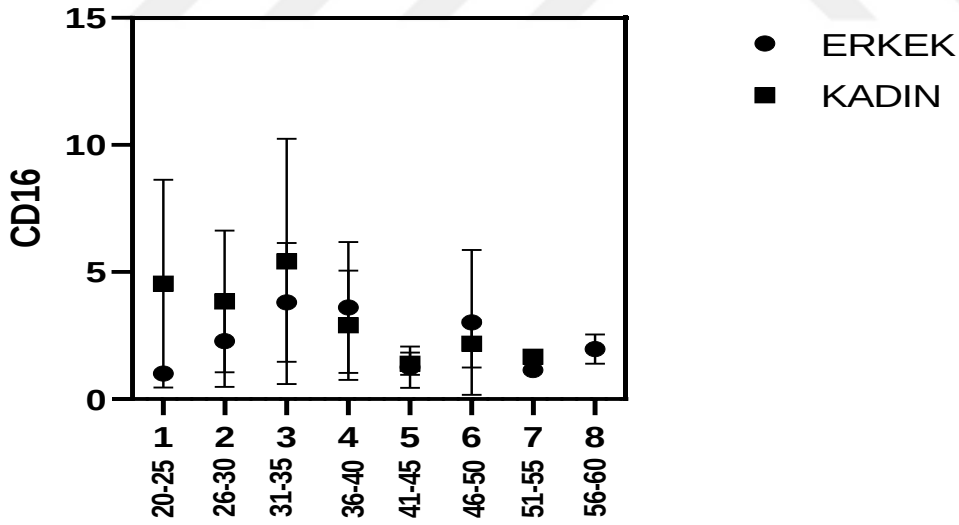
Şekil 4.1. Farklı yaş gruplarında CD3 ekspresyonu



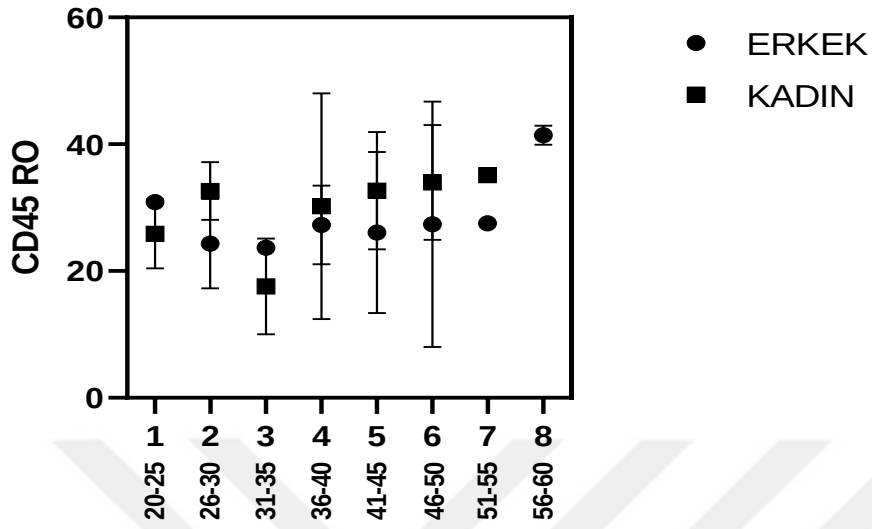
Şekil 4.2. Farklı yaş gruplarında CD19 ekspresyonu



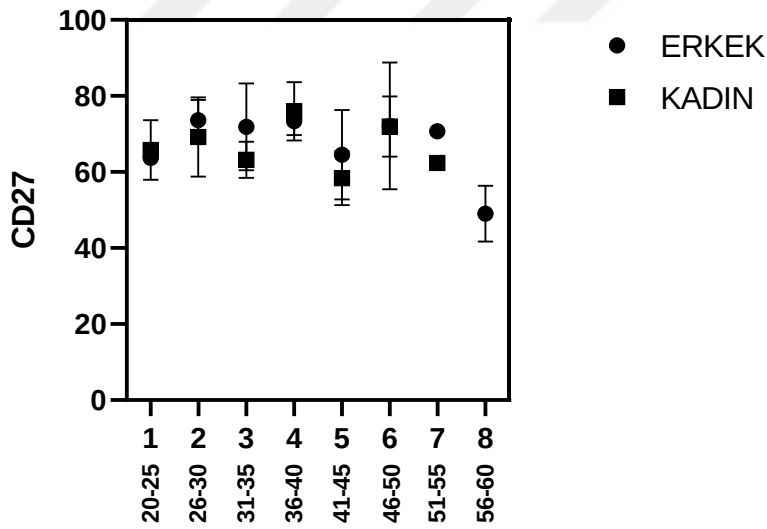
Şekil 4.3. Farklı yaş gruplarında CD16+56 ekspresyonu



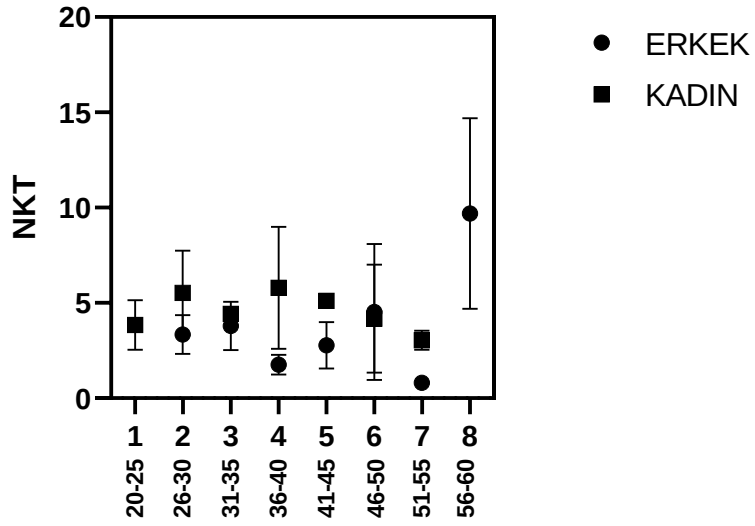
Şekil 4.4. Farklı yaş gruplarında CD16 ekspresyonu



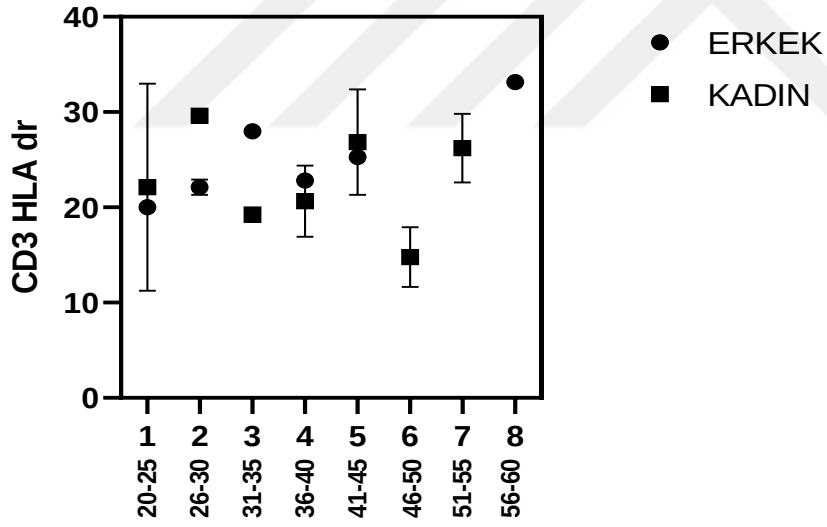
Şekil 4.5. Farklı yaş gruplarında CD45 RO ekspresyonu



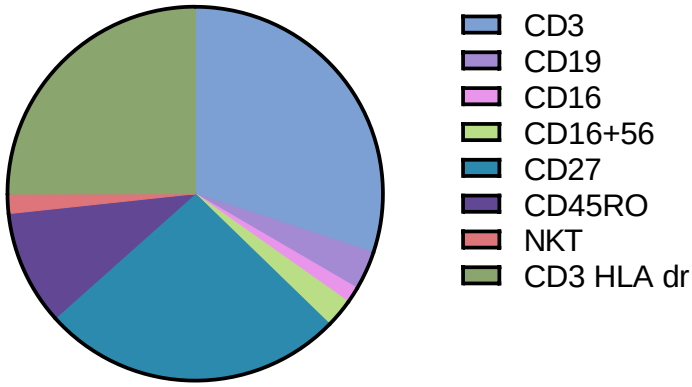
Şekil 4.6. Farklı yaş gruplarında CD27 ekspresyonu



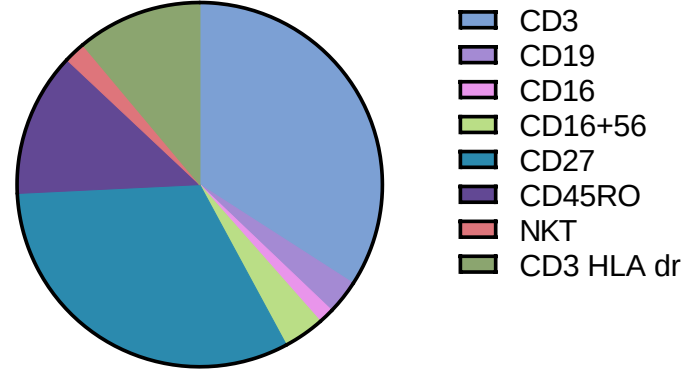
Şekil 4.7. Farklı yaş gruplarında NKT ekspresyonu



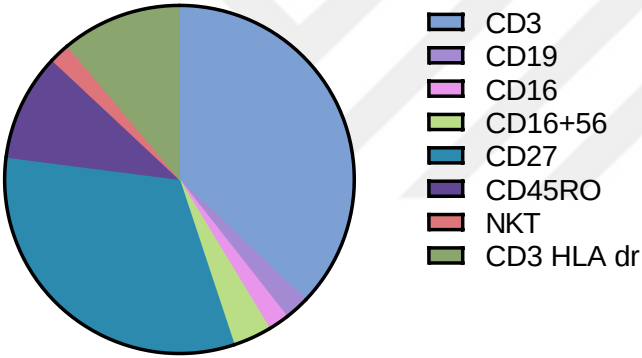
Şekil 4.8. Farklı yaş gruplarında HLA-DR ekspresyonu



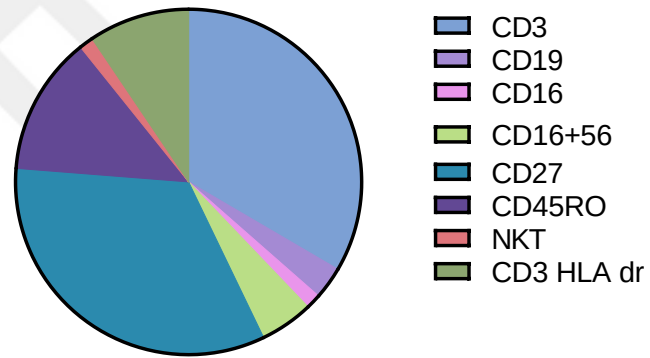
şekil 4.9. 20-25 yaş arasındaki ortalama değerleri



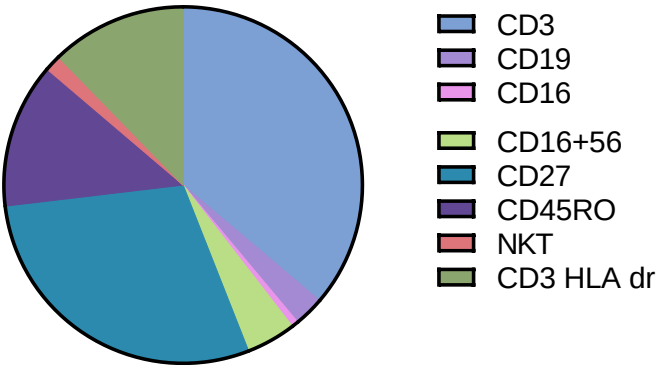
şekil 4.10. 26-30 yaş arasındaki ortalama değerleri



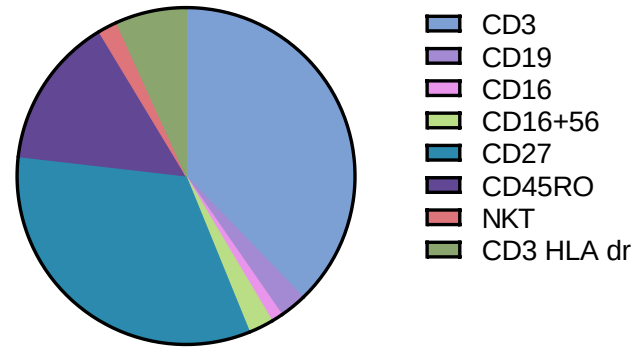
şekil 4.11. 31-35 yaş arasındaki ortalama değerleri



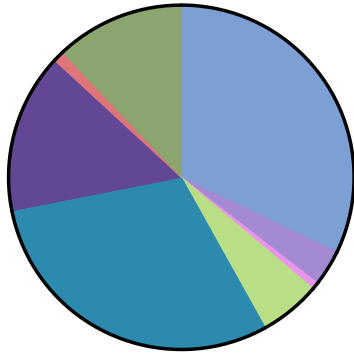
şekil 4.12. 36-40 yaş arasındaki ortalama değerleri



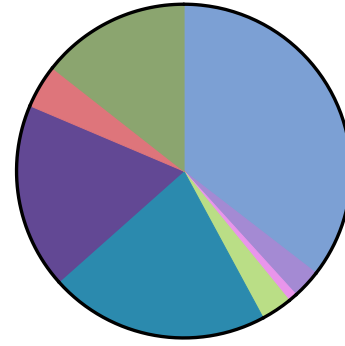
şekil 4.13. 41-45 yaş arasındaki ortalama değerler



şekil 4.14. 46-50 yaş arasındaki ortalama değerler



CD3
 CD19
 CD16
 CD16+56
 CD27
 CD45RO
 NKT
 CD3 HLA dr



CD3
 CD19
 CD16
 CD16+56
 CD27
 CD45RO
 NKT
 CD3 HLA dr

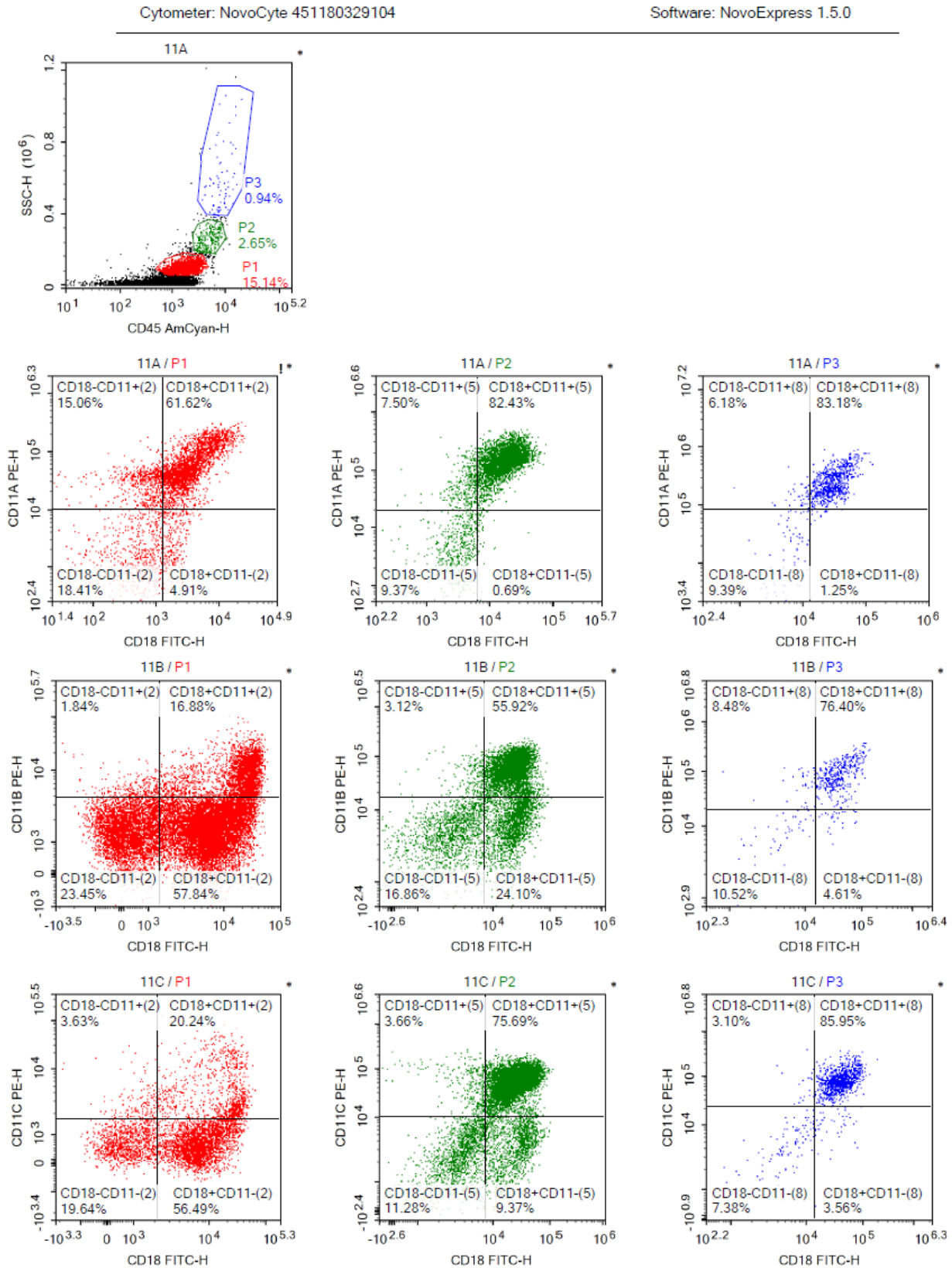
şekil 4.15. 51-55 yaş arasındaki ortalama değerler

şekil 4.16. 56-60 yaş arasındaki ortalama değerler

YAŞ	CD18	CD11a/18	CD11b/18	CD11c/18
20-25	68,7±7,3	60,8±11,8	11,8±2,4	10,5±3,8
26-30	70,3±8,3	58±6,8	16,8±4,8	11,5±4,5
31-35	77,8±3,2	58,5±10,6	16,4±4,4	11±4,9
36-40	74,7±4,8	58±12	12,4±2,9	11,5±5,6
41-45	69,5±6,2	61,6±10,4	15,2±5	13,4±4,5
46-50	74±7,3	58±10,6	11,2±3,4	15±6
51-55	67±13	59±11,2	17,5±6	13±2,4
56-60	65±8,2	57±7	18,4±5,9	10,8±3

Tablo 2: Farklı yaş grupları arasında adezyon moleküllerinin yüzde değeri

Şekil 4.17. Akan hücre ölçere ait adezyon moleküllerinin yüzde değeri



5. TARTIŞMA

Çalışmamız pilot bir çalışma olup, belirlediğimiz yaş aralıklarında yaşa bağlı olarak immün sistem hücrelerindeki T, B, ve NK hücrelerinde % ifadelerini ölçmeyi ve yaşa bağlı olası değişikliği ölçmeyi hedefledik

Yaşlanmayla birlikte bütün hücrelerde ve organlarda yaşa bağlı değişiklikler oluşurken bağışıklık sisteminde de yaşlanma ve buna bağlı olarak bu sisteme ait hücrelerde değişimler gözlenmektedir. Bu değişime yalnız hastalarda değil sağlıklı bireylerin immün sistem hücrelerinde de rastlanılmaktadır. Bağışıklık hücrelerinin alt gruplarında % ekspresyon değişikliklerini gösteren pek çok çalışma olmakla birlikte sonuçlar tutarlılık göstermemektedir.

İmmünoşenesans daha iyi anlamak için, bağışıklıkla ilgili yaşa bağlı fizyolojik değişiklikleri göz önünde bulundurmak gerekir. Vücudun fiziksel bariyerleri patojenlere karşı ilk savunma hattıdır ve yaşlı insanlarda cilt incilir ve kurur, bu da yağda çözünen defensin miktarını azaltır. Benzer şekilde, mukozal bariyer yaşlanma sırasında etkinliğini kaybeder çünkü siliyer fonksiyon bozulur ve sonuç olarak patojen yerleşimi kolaylaşır. İmmünoşenesansın altında yatan hücresel olaylarla ilgili olarak, timik involüsyon, T ve B lenfosit hücrelerinin sayısında azalma, telomeraz aktivitesinde bozulma, inflamatuvar mediatörlerde artış ve aşılama karşı zayıf bir immün yanıt yaşlanmada tutarlı bir şekilde gözlemlenmiştir. Bu eksikliklerin patojenlere maruz kalındığında daha da kötüleştiğini belirtmek gerekir. Ayrıca, yaşlı bireylerde doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinde (nötrofiller, makrofajlar, doğal öldürücüler, dendritik ve mast hücreleri) değişiklikler tespit edilmiştir. Nötrofiller, kemik iliğindeki üretimleri değişmeden kalmasına ve kandaki sayıları yaşlanmada biraz daha yüksek olmasına rağmen, öldürme kapasitelerinde azalma göstermektedir. Benzer şekilde, kemik iliğindeki döngüleri azalmasına ve temel sayıları artmasına rağmen, doğal öldürücü hücrelerin işlevi yaşlanmada bozulur. Makrofajlar ve dendritik hücreler gençler ve yaşlılar arasında benzer fagositik aktivite gösterir; ancak bu hücrelerin hem periferik kandaki toplam sayısı hem de antijenleri sunma ve T hücrelerini uyarma yetenekleri yaşlılarda kusurludur. Öte yandan, naif T ve hafıza B lenfosit repertuarı çocukluk döneminde bol miktarda bulunurken, yaşlılıkta kemik iliğinde B hücresi üretiminde azalma (16) ve timik involüsyona bağlı olarak T lenfosit sayısında azalma meydana gelir. Bu olaylar birlikte, yaşlı bireylerde bağışıklığın genel olarak azalmasıyla sonuçlanır.

Yaşlanan bağışıklık sistemleri, naif B ve T hücrelerinin azalması, farklılaşmış T hücrelerinin artması, CD4⁺ T hücrelerine göre CD8⁺ hücrelerinin artması ve sistemik inflamasyonun artması ile karakterize edilir. İmmün yaşlanmanın kronik hastalıklar örneğin kanser ve kardiyovasküler hastalık, akut enfeksiyonlara karşı zayıflamış yanıt, artmış pnömoni riski, aşılardan etkinliğinin azalması ve organ sistemi yaşlanması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bazı viral Citomegalovirus (CMV) hastalık geçiren bireylerin immün hücrelerindeki yüzey belirteçleri incelendiğinde yaşla beraber T hücre alt gruplarının özellikle CD8⁺ T hücrelerinin yüzdelерinde anlamlı düşüş gözlenmiştir. 50 yaşın üzerindeki 5.641 ABD'li yetişkin üzerinde yapılan çalışmada, naif CD4⁺ T hücre yüzdeleri (CD4⁺/CD3⁺/CD19⁻/CD45RA⁺/CCR7⁺/CD28⁺) naif CD8⁺ T hücre yüzdeleri (CD8⁺/CD3⁺/CD19⁻/CD45RA⁺/CCR7⁺/CD28⁺), terminal olarak farklılaşmış efektör bellek CD4⁺ T hücre yüzdeleri (TemRA; CD4⁺/CD3⁺/CD19⁻/CD45RA⁺/CCR7⁻/CD28⁻), terminal olarak farklılaşmış efektör bellek CD8⁺ T hücre yüzdeleri (CD8⁺/CD3⁺/CD19⁻/CD45RA⁺/CCR7⁻/CD28⁻) ve CD4⁺'nın CD8⁺ T hücrelerine oranları değerlendirilmiş ve yaşla beraber hem CD4⁺ hem CD8⁺ T hücrelerinde yaşa bağlı anlamlı düşüş saptanmıştır (sırasıyla p<0.004, p<0,044). Gözlenen bu düşüş 55 ve üstü yaş aralığındaki hastaların neden daha çok hastalandığını açıklamaktadır. Yapılan bir çalışma yine yaşla beraber değişen CD4⁺ T yardımcı hücrelerini ve hafıza hücrelerinin % ekspresyonlarını incelemiş, yaşla beraber bu hücrelerde CD45RO hafıza hücrelerinde artış, CD4⁺ T hücrelerinde düşüş saptamışlardır. CD4⁺ hücrelerinde bu düşüş yaşla beraber aşırı yanıtta zayıflamaya ve perifere çıkan efektör hücrelerde düşmeye neden olduğunu ortaya koymuştur. CD8⁺ T hücrelerinde olduğu gibi, CD4⁺ T hücresi repertuarı özellikle 75 yaş üzerinde güçlü bir şekilde azalır ve oligoklonal hale gelir, bu da CD4⁺T hücrelerinin antijen çeşitliliğiyle daha az başa çıkabilmesini sağlar. Antijene yanıt olarak proliferasyon ve farklılaşma, aktivasyon (örn. aktivasyon belirteçleri CD25 ve CD69'un ifadesi) dahil olmak üzere hücresel işlevler ve düzenleyici mekanizmalar da azalır veya bozulur. Biz çalışmamızda, CD45RO ifadesinde artan yaşla beraber anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0.045). Bununla birlikte CD3, CD3/HLA-DR aktivasyon belirteçlerinde anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla; p=0.63, p=0.57).

B hücrelerinin sayısı da yaş ilerledikçe azalır. Naif hücreler artarken, hafıza B hücreleri azalma eğilimindedirler, bu nedenle IgG üreten hücrelerde net bir azalma olur. Çalışmamızda, B hücre ifadesi olan % CD19 değerinde yaşa bağlı bir değişkenlik saptamamıştır (p=0.60)

Yaşlanmayla beraber sitokin salınımında da değişiklikler meydana gelmektedir. Tip I interferon üretiminde bozulma ve bunun sonucunda viral yükte artış vardır. Plazmasitoid dendritik hücreler (pDC) antiviral yanıtta kilit bir rol oynar; yaşlı pDC antiviral yanıtları sürdürmezken, genç pDC nakledilen yaşlı fareler iyi yanıt verir. Yaşlı farelerde viral enfeksiyon, aşırı inflamasyon ve karaciğer hasarı ve artan PMN aktivasyonu ile ölüme neden olur. NK-T hücreleri de yaşlı hayvanlarda daha fazla birikir ve inflamatuvar IL-17 üretir. Enfekte yaşlı fareler, IL-17 ve PMN inhibe edilerek enflamasyon azaltılırsa virüsün üstesinden gelebilir. PMN tarafından bol miktarda üretilen reaktif oksijen türleri, yaşlı pDC tarafından interferon üretimini bozar.

NK hücreleri kanser, hastalık, yaşlanma ve enfeksiyonla mücadelede kritik rol oynar, ancak işlevleri yaşla birlikte azalıyor gibi görünmektedir. İmmünoşenesansın bir parçası olarak, NK hücre sitotoksitesindeki azalma, muhtemelen viral enfeksiyona karşı artan duyarlılığın, genel hastalık yükünün artmasının ve yaşlılarda gözlenen yaşlanmış ve kanser hücrelerinin birikmesinin önemli bir nedenidir. Bunu göz önünde bulundurarak, giderek artan sayıda çalışma, yaşlanmayla birlikte NK hücre biyolojisi ve işlevselliğinde meydana gelen spesifik değişiklikleri araştırmaya çalışmıştır. Gen ekspresyonu, marker ekspresyonu/dağılımı, degranülasyon ve dahili veya sistemik sinyalizasyonda yaşla birlikte meydana gelen değişikliklerin ortaya çıkarılması, NK hücrelerinin nasıl yaşlandığının ve yerel ortamlarının etkisinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir. Yüzey antijenlerinin ve fenotipik ekspresyon değişikliklerinin yaşla birlikte daha fazla karakterize edilmesi, yaşa bağlı hastalıklar için NK hücre fonksiyonlarını iyileştirmeye yönelik daha iyi terapötik müdahaleler geliştirmek için önemli olacaktır.

CD56dimCD16+CD57+ NK hücrelerinin sıklığı kan, kemik iliği, dalak ve akciğerde yaşla birlikte nominal olarak artmıştır. Kandaki bu alt kümede yaşa bağlı artış aynı zamanda CD56dimCD16+ hücreleri tarafından granzim B ekspresyonu seviyesi veya antikora bağlı hücrel sitotoksite (ADCC) potansiyelinin bir göstergesi olan sinyal adaptörü FcεRIγ'nın dokuya özgü NK hücre ekspresyonu ile de ilişkilidir.

Aktive edici reseptörler olan NKp30 veya NKp46'yı eksprese eden NK hücrelerinin yüzdesinde yaşa bağlı düşüşler bildirilmiştir. Bir çalışmada, inhibitör reseptör KLRG1'i ifade eden NK hücrelerinde yaşa bağlı bir artış bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise hem NKG2A hem de KLRG1'de bir düşüş bildirmiştir. İnhibitör KIR'leri ifade eden NK hücrelerinin yüzdesinin yaşla birlikte arttığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar birlikte ele alındığında, hedef hücrelerden pro-aktivasyon

sinyali alma kabiliyetinde bir değişikliğe işaret etmekte ve muhtemelen daha inhibitör bir fenotipe doğru genel bir kaymaya işaret etmektedir.

Bizde çalışmamızda, NK hücrelerinde artan yaşa bağlı olarak % CD16, % CD16-56 ve % CD57 ifadesini anlamlı olarak düşük saptadık ($p<0.032$).

Bütün bunların ışığında, yaşa bağlı immün sistem hücrelerindeki değişikliklerin yaşlanmayla beraber patojenlere, aşılara, tekrarlayan enfeksiyonlara verilen cevaptaki farklılıkların nedenini ortaya koymaktadır. Yaşlanma karşıtı bağışıklığı hedefleyici tedaviler, sağlıklı yaşam süresini iyileştirmek için güçlü bir yaklaşım olabilir.



KAYNAKLAR

1. Pritz, T., et al., *Plasma cell numbers decrease in bone marrow of old patients*. Eur J Immunol, 2015. **45**(3): p. 738-46.
2. Nicholson, L.B., *The immune system*. Essays Biochem, 2016. **60**(3): p. 275-301.
3. Delves, P.J. and I.M. Roitt, *The immune system. Second of two parts*. N Engl J Med, 2000. **343**(2): p. 108-17.
4. Chou, J.P. and R.B. Effros, *T cell replicative senescence in human aging*. Curr Pharm Des, 2013. **19**(9): p. 1680-98.
5. Chaplin, D.D., *Overview of the immune response*. J Allergy Clin Immunol, 2010. **125**(2 Suppl 2): p. S3-23.
6. Parkin, J. and B. Cohen, *An overview of the immune system*. Lancet, 2001. **357**(9270): p. 1777-89.
7. Plackett, T.P., et al., *Aging and innate immune cells*. J Leukoc Biol, 2004. **76**(2): p. 291-9.
8. Gruver, A.L., L.L. Hudson, and G.D. Sempowski, *Immunosenescence of ageing*. J Pathol, 2007. **211**(2): p. 144-56.
9. Chan, J.K., C.S. Ng, and P.K. Hui, *A simple guide to the terminology and application of leucocyte monoclonal antibodies*. Histopathology, 1988. **12**(5): p. 461-80.
10. Zhang, Y., et al., *Crystal structure of the extracellular domain of a human Fc gamma RIII*. Immunity, 2000. **13**(3): p. 387-95.
11. Bulati, M., et al., *B cells and immunosenescence: a focus on IgG+IgD-CD27- (DN) B cells in aged humans*. Ageing Res Rev, 2011. **10**(2): p. 274-84.
12. Cibotti, R., et al., *Surface molecules that drive T cell development in vitro in the absence of thymic epithelium and in the absence of lineage-specific signals*. Immunity, 1997. **6**(3): p. 245-55.
13. Carter, R.H. and R.A. Barrington, *Signaling by the CD19/CD21 complex on B cells*. Curr Dir Autoimmun, 2004. **7**: p. 4-32.
14. Zhou, L.J., et al., *Structure of the genes encoding the CD19 antigen of human and mouse B lymphocytes*. Immunogenetics, 1992. **35**(2): p. 102-11.
15. Tedder, T.F., *CD19: a promising B cell target for rheumatoid arthritis*. Nat Rev Rheumatol, 2009. **5**(10): p. 572-7.
16. Qi, Q., et al., *Mechanisms shaping the naive T cell repertoire in the elderly - thymic involution or peripheral homeostatic proliferation?* Exp Gerontol, 2014. **54**: p. 71-4.
17. Hale, J.S., et al., *Thymic output in aged mice*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(22): p. 8447-52.
18. Palmer, D.B., *The effect of age on thymic function*. Front Immunol, 2013. **4**: p. 316.
19. Chiu, B.C., et al., *Cutting edge: Central memory CD8 T cells in aged mice are virtual memory cells*. J Immunol, 2013. **191**(12): p. 5793-6.
20. Buchkovich, K.J. and C.W. Greider, *Telomerase regulation during entry into the cell cycle in normal human T cells*. Mol Biol Cell, 1996. **7**(9): p. 1443-54.

21. Manser, A.R. and M. Uhrberg, *Age-related changes in natural killer cell repertoires: impact on NK cell function and immune surveillance*. Cancer Immunol Immunother, 2016. **65**(4): p. 417-26.
22. Neumann, C., A. Scheffold, and S. Rutz, *Functions and regulation of T cell-derived interleukin-10*. Semin Immunol, 2019. **44**: p. 101344.
23. Ho, A.S., et al., *A receptor for interleukin 10 is related to interferon receptors*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. **90**(23): p. 11267-71.
24. Arenas-Ramirez, N., J. Woytschak, and O. Boyman, *Interleukin-2: Biology, Design and Application*. Trends Immunol, 2015. **36**(12): p. 763-777.
25. Wei, L., et al., *New insights into nested long terminal repeat retrotransposons in Brassica species*. Mol Plant, 2013. **6**(2): p. 470-82.
26. Ferguson-Smith, A.C., et al., *Regional localization of the interferon-beta 2/B-cell stimulatory factor 2/hepatocyte stimulating factor gene to human chromosome 7p15-p21*. Genomics, 1988. **2**(3): p. 203-8.
27. Puzianowska-Kuznicka, M., et al., *Interleukin-6 and C-reactive protein, successful aging, and mortality: the PolSenior study*. Immun Ageing, 2016. **13**: p. 21.
28. Sepe, V., et al., *The innate immune system in human kidney inflammaging*. J Nephrol, 2022. **35**(2): p. 381-395.
29. Cua, D.J. and C.M. Tato, *Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system*. Nat Rev Immunol, 2010. **10**(7): p. 479-89.
30. Ouyang, W., J.K. Kolls, and Y. Zheng, *The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation*. Immunity, 2008. **28**(4): p. 454-67.
31. Cook, A.E., J.L. Cook, and A.M. Stoker, *Metabolic Responses of Meniscus to IL-1beta*. J Knee Surg, 2018. **31**(9): p. 834-840.
32. Lee, K.A., et al., *Immune Senescence, Immunosenescence and Aging*. Front Aging, 2022. **3**: p. 900028.
33. Nikolich-Zugich, J., *The twilight of immunity: emerging concepts in aging of the immune system*. Nat Immunol, 2018. **19**(1): p. 10-19.
34. Goronzy, J.J. and C.M. Weyand, *Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines*. Nat Immunol, 2013. **14**(5): p. 428-36.
35. Swain, S.L. and B.B. Blomberg, *Immune senescence: new insights into defects but continued mystery of root causes*. Curr Opin Immunol, 2013. **25**(4): p. 495-7.
36. Goronzy, J.J. and C.M. Weyand, *Successful and Maladaptive T Cell Aging*. Immunity, 2017. **46**(3): p. 364-378.
37. Goronzy, J.J. and C.M. Weyand, *Mechanisms underlying T cell ageing*. Nat Rev Immunol, 2019. **19**(9): p. 573-583.
38. Quinn, K.M., et al., *The clock is ticking: the impact of ageing on T cell metabolism*. Clin Transl Immunology, 2019. **8**(11): p. e01091.
39. Pereira, B.I., et al., *Sestrins induce natural killer function in senescent-like CD8(+) T cells*. Nat Immunol, 2020. **21**(6): p. 684-694.
40. Xu, W. and A. Larbi, *Markers of T Cell Senescence in Humans*. Int J Mol Sci, 2017. **18**(8).
41. Jameson, S.C. and D. Masopust, *Understanding Subset Diversity in T Cell Memory*. Immunity, 2018. **48**(2): p. 214-226.
42. Mahnke, Y.D., et al., *The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets*. Eur J Immunol, 2013. **43**(11): p. 2797-809.

43. Tu, W. and S. Rao, *Mechanisms Underlying T Cell Immunosenescence: Aging and Cytomegalovirus Infection*. Front Microbiol, 2016. **7**: p. 2111.
44. Nikolich-Zugich, J., *Ageing and life-long maintenance of T-cell subsets in the face of latent persistent infections*. Nat Rev Immunol, 2008. **8**(7): p. 512-22.
45. Nikolich-Zugich, J., *Aging of the T cell compartment in mice and humans: from no naive expectations to foggy memories*. J Immunol, 2014. **193**(6): p. 2622-9.
46. Koch, S., et al., *Multiparameter flow cytometric analysis of CD4 and CD8 T cell subsets in young and old people*. Immun Ageing, 2008. **5**: p. 6.
47. Almanzar, G., et al., *Long-term cytomegalovirus infection leads to significant changes in the composition of the CD8⁺ T-cell repertoire, which may be the basis for an imbalance in the cytokine production profile in elderly persons*. J Virol, 2005. **79**(6): p. 3675-83.
48. Fann, M., et al., *Gene expression characteristics of CD28null memory phenotype CD8⁺ T cells and its implication in T-cell aging*. Immunol Rev, 2005. **205**: p. 190-206.
49. Sharma, S., A.L. Dominguez, and J. Lustgarten, *High accumulation of T regulatory cells prevents the activation of immune responses in aged animals*. J Immunol, 2006. **177**(12): p. 8348-55.
50. Fagnoni, F.F., et al., *Shortage of circulating naive CD8(+) T cells provides new insights on immunodeficiency in aging*. Blood, 2000. **95**(9): p. 2860-8.
51. Goronzy, J.J., W.W. Lee, and C.M. Weyand, *Aging and T-cell diversity*. Exp Gerontol, 2007. **42**(5): p. 400-6.
52. Li, M., et al., *Age related human T cell subset evolution and senescence*. Immun Ageing, 2019. **16**: p. 24.
53. Solana, R., et al., *Innate immunosenescence: effect of aging on cells and receptors of the innate immune system in humans*. Semin Immunol, 2012. **24**(5): p. 331-41.
54. Montgomery, R.R. and A.C. Shaw, *Paradoxical changes in innate immunity in aging: recent progress and new directions*. J Leukoc Biol, 2015. **98**(6): p. 937-43.
55. Sauce, D., et al., *Reduced Oxidative Burst by Primed Neutrophils in the Elderly Individuals Is Associated With Increased Levels of the CD16bright/CD62Ldim Immunosuppressive Subset*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2017. **72**(2): p. 163-172.
56. Fulop, T., et al., *Signal transduction and functional changes in neutrophils with aging*. Aging Cell, 2004. **3**(4): p. 217-26.
57. Boss, G.R. and J.E. Seegmiller, *Age-related physiological changes and their clinical significance*. West J Med, 1981. **135**(6): p. 434-40.
58. Lazuardi, L., et al., *Age-related loss of naive T cells and dysregulation of T-cell/B-cell interactions in human lymph nodes*. Immunology, 2005. **114**(1): p. 37-43.
59. Haynes, B.F., et al., *The human thymus during aging*. Immunol Res, 2000. **22**(2-3): p. 253-61.
60. Fink, P.J., *The biology of recent thymic emigrants*. Annu Rev Immunol, 2013. **31**: p. 31-50.
61. Listi, F., et al., *A study of serum immunoglobulin levels in elderly persons that provides new insights into B cell immunosenescence*. Ann N Y Acad Sci, 2006. **1089**: p. 487-95.
62. Lesourd, B. and L. Mazari, *Nutrition and immunity in the elderly*. Proc Nutr Soc, 1999. **58**(3): p. 685-95.
63. Saurwein-Teissl, M., et al., *Lack of antibody production following immunization in old age: association with CD8(+)CD28(-) T cell clonal expansions and an imbalance in the production of Th1 and Th2 cytokines*. J Immunol, 2002. **168**(11): p. 5893-9.

64. Miller, J.P. and M.P. Cancro, *B cells and aging: balancing the homeostatic equation*. Exp Gerontol, 2007. **42**(5): p. 396-9.
65. Han, S., et al., *Enhanced differentiation of splenic plasma cells but diminished long-lived high-affinity bone marrow plasma cells in aged mice*. J Immunol, 2003. **170**(3): p. 1267-73.
66. Frasca, D., et al., *High TNF-alpha levels in resting B cells negatively correlate with their response*. Exp Gerontol, 2014. **54**: p. 116-22.



FORMLAR



ÖZGEÇMİŞ

