

Lenfosit Yüzey İşaretleri*

*Biol.Hande CANPINAR***

*Prof.Dr.Emin KANSU***

Normal ve malign neoplastik lenfositlerin hücre yüzey özelliklerinin tanınması, lenfoproliferatif hastalıkların immünofenotipini ve hücre kaynağını belirlemede önem taşımaktadır. Son yıllarda geliştirilen özgül monoklonal antikolar ile yapılan çalışmalar bu hastalıkların tanı ve tedavisinde büyük yararlar sağlamaktadır. Lenfoid malign hastalıkların hücresel kaynağını belirlemek için T ve B lenfosit ontogenezinin bilinmesi gerekmektedir¹.

Bu yazıda T ve B hücrelerinin stem hücreden başlayarak geçirdikleri gelişim evreleri ve lenfosit kaynaklı akut ve kronik lösemilerin hücre yüzey antijen özellikleri gözden geçirilecektir.

I- T LENFOSİTLERİ

a. Timusun gelişimi, korteks ile medullanın yapısı;

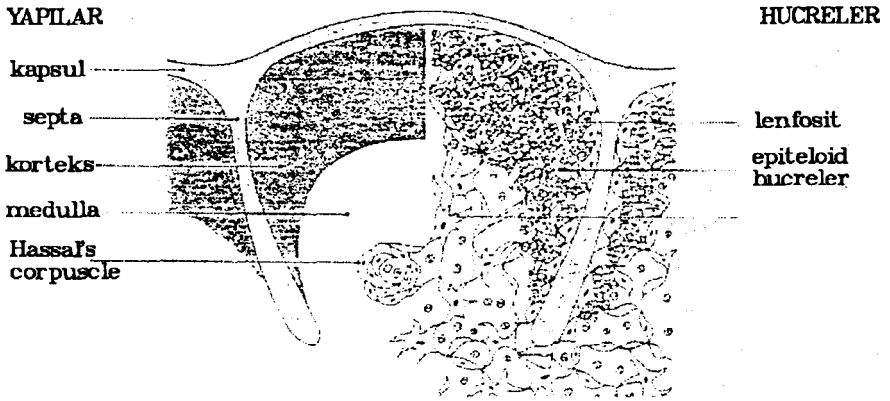
Timus bezi, T lenfosit ontogenezinde merkezi rolü bulunan özelleşmiş bir lenforetiküler organdır. Timus, insan fetal yaşamında, 6. gebelik haftasında şekillenmeye başlar ve olgunlaşmamış timusun gelişimi 3. faringeal cep endodermindeki hücre proliferasyonu ile sağlanır.

Timus, fetus büyüdükçe kalbin büyük damarlarının önünde mediastinumda yerleşmiş kapsüllü iki loblu yapısını kazanır ve loblar içinde belirgin septalar bulunur. Timus lobları retiküler ağlardan en iyi destek alan dokudur. Timusun bir lobunda korteks ve medulla olmak üzere iki ayrı bölüm mevcuttur. Timusun korteks

* Bu çalışma kısmen TÜBİTAK TAG-G-546 Araştırma Projesi tarafından desteklenmiştir.

** Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü.

kısmı, epitel hücrelerin oluşturduğu bir yapı içinde yoğun gruplar halinde paketlenmiş lenfositler şeklinde ayrılmıştır. Korteks kısmında daha çok immatür matürasyona uğrayan lenfositler bulunmaktadır. Medullada ise az sayıda lenfositler ve daha çok kemik iliğinden gelişen "interdigitating" hücreler bulunmaktadır. Medullada epitel yapısındaki retiküler hücreler konsantrik olarak düzenlenmişlerdir. Keratin ile çevrelenmiş ince tabaka şeklindeki bu yapılara "Hassall's corpuscles" ismi verilir (Şekil-1). Bu yapının fonksiyonu henüz açıklık kazanmamıştır^{2,3}.



Şekil-1: Timusun Yapısal Şekli.

b. T Hücre yüzey antijenlerinin kazanılması ve kaybedilmesi;

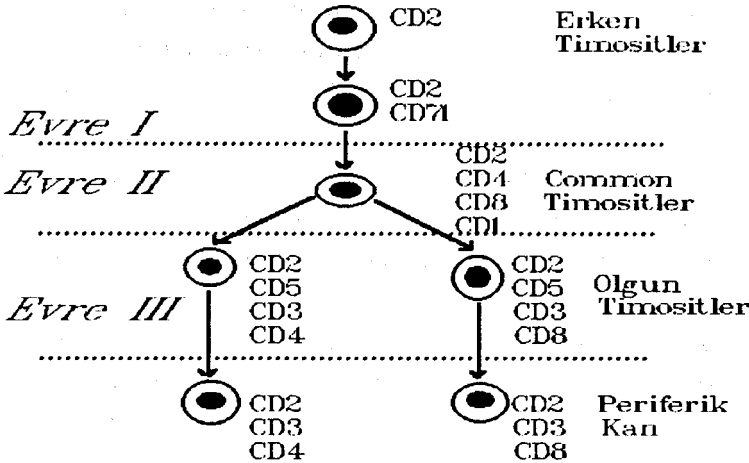
T hücrelerinin farklılaşması için timustaki mikroçevreye gereksinim vardır. Kemik iliğinden kaynaklanan hücreler timus bezine gelirler, orada adeta eğitim görürler, fonksiyonel yeterliliğe eriştikten sonra periferik kandaki lenfosit popülasyonu içine katılırlar. Timustaki lenfoid hücreler için, erken kemik iliğinde bulunan hücre antijenleri taşınır, bu hücrelerde henüz matür T hücre antijenleri bulunmaz. Timustaki farklılaşmanın ilk basamağında erken kortikal timositler bulunur, yüzeylerinde T11(CD2+), T9(CD71+), T10 yüzey antijenlerini taşırlar.

Erken kortikal timositler, bütün timositlerin % 10'unu oluşturur. Geç kortikal timositler ise bütün timositlerin %80'nini oluşturur ve CD2+ yüzey antijeni taşınırken T9 kaybedilir. CD8+, CD1+, CD4+ ve CD5+ antijenleri kazanılır.

Timusun korteks bölgesinden medulla bölgesine geçen timositlere "medullar timosit" adı verilir. Medullar timositler, timositlerin %10'unu oluşturur ve CD2+, CD3+, CD5+, CD4+ yüzey antijenleri ile birlikte CD2+, CD3+, CD5+, CD8+ yüzey antijenlerini bulundurlar. CD2+, CD4+, CD3+ ve CD5+, yüzeylerinde taşıyan hücreler periferik kan lenfositlerinin %65'ini oluşturan yardımcı T hücreleridir. CD2+, CD3+, CD8+, CD5+, yüzeylerinde bulunduran hücreler periferik kan lenfositlerinin %35'ini oluşturan baskılayıcı T lenfositleridir.

Yardımcı T lenfositleri (CD4+), gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonlarında efektör hücreler olarak görev yaparlar, B hücrelerinin Ig sentezleyen plazma hücrelerine dönüşümlerini sağlarlar. Baskılayıcı T lenfositleri (CD8+) sitotoksik T lenfositlerini oluşturur ve immünoglobulin üretimi ile gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonlarını baskılamaktadır^{2,4}.

Timus içindeki hücre farklılaşmaları ve hücre yüzey antijenlerindeki değişiklikler (Şekil-2)'de gösterilmiştir.



Şekil-2: Timustaki Farklılaşma Evreleri ve Kazanılan Hücre Yüzeyi Antijenleri.

c. CD3 + (T3) Antijeni ve T hücre reseptör kompleksi;

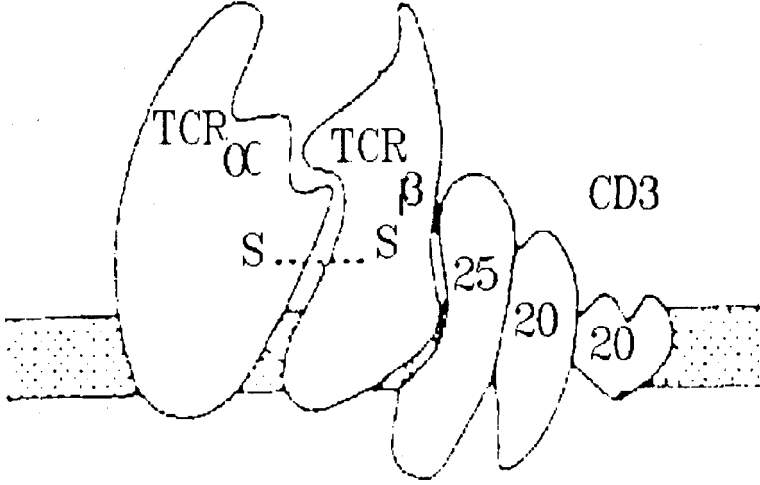
T lenfositleri üzerinde bulunan yüzey antijenleri uygun monoklonal antikolar yardımıyla tanımlanabilmektedir. CD3 + antijeni intratimik gelişimin geç evresinde belirir ve olgun T hücrelerinin en önemli belirleyicisi olup, bütün T hücre alt gruplarında ortak bulunan bir antijenik yapıyı oluşturmaktadır. Yapısal olarak CD3 + antijeni T hücre membranı içine yerleşmiş iki tane 20 kd'luk alt birim ile bir tane 25 kd'luk toplam üç alt birimden oluşmaktadır. Ayrıca, T lenfositleri membranında 62 kd'luk CD4 + antijeni veya 76 kd'luk CD8 + antijeni bulunmaktadır⁵.

CD3 + antijenik bölgesinin anti-CD3 + ile modülasyonu sonucu T lenfosit proliferatif cevabı inhibe olmaktadır. Anti-CD3 ile inkübe edilen T Hücreleri alloantijenlere daha az cevap verebilirler ve IL-2'ye olan proliferatif cevabı da arttırabilirler.

T Hücrelerinin Antijeni Tanıyabilme Özellikleri;

T hücreleri üzerindeki antijeni bağlayan yapılar klonotipik T hücre yüzey antijen reseptörleridir. T hücre yüzey reseptörü için "*T-cell receptor*", "TCR" kısaltması kullanılmaktadır. Klona özgü ve antijen tanıyıcı yapılar bulunmaktadır. Her klona karşı üretilen monoklonal anti-klonotipik antikolar sadece o klon ile reaksiyon verebilirler. Aynı şahıstan elde edilen ayrı lenfosit klonlarına karşı anti-klonotipik antikoların yalnızca hazırlandıkları klonlara karşı reaksiyon verdikleri görülmektedir.

CD3 + ve TCR hücre yüzey antijen moleküllerinin her klonal popülasyonda benzer sayıda bulunmaktadır ve her bir CD3 molekülü bir adet molekül T hücre reseptörünü bağlamaktadır. T hücre membranı üzerinde bulunan CD3-TCR kompleksinin şematik yapısı (Şekil-3)'de gösterilmektedir. T hücre reseptörü disülfid bağlarıyla bağlanmış alfa ve beta alt ünitelerini içeren iki polipeptid zincirinden oluşan bir heterodimerdir. Her iki polipeptid zincirinde sabit (constant) ve değişken (variable) kısımlar bulunmaktadır. Değişken kısım özgül "antijeni" tanıyan kısımdır. T hücre reseptörünün embriyonik alfa ve beta zincir genleri ekspresse olacakları zaman tekrar düzenlenmeleri (rearrangement) gerçekleşmektedir. Genetik "*re-arrangement*" germ line dizilimleri immünglobulin genleri ile benzerlik göstermektedir.



Şekil-3: İnsan T Hücre Reseptörleri Yapısal Şekli.

İnsan TCR beta lokusunun insan 7. kromozomu üzerindeki geni haritalanmıştır. TCR-beta alt birimi DB1-JB1-CB1 ve DB2-JB2-CB2 şeklinde tanımlanmış iki sıradan ibarettir. Değişken (variable) segmenti 5' kısımda gösterilmektedir. Joining (birleştirici) kısım ve sabit (constant) segmentleri 3' kısımda gösterilmektedir.

İnsan ve fare TCR-alfa alt ünitesine ait benzer çalışmalar bu moleküllerin aminoterminal değişken (variable) kısımlarının 14. cü kromozom üzerindeki germ-line genlerinin birleşmesi sonucu ortaya çıktığını göstermiştir.

TCR-alfa alt ünitesi ile TCR-beta alt ünitesi, immüoglobulinlerin ağır ve hafif zincirleriyle homoloji göstermektedir. TCR-alfa ve beta alt ünitelerinin değişken kısımları antijen ve MHC (major histocompatibility) antijenleri ile tek bir bağlama bölgesi oluşturmaktadır.

T hücre reseptörü ekspresyonu ve T hücre reseptör beta geni ile yapılan çalışmalar, bu reseptörün yüzeyde CD3 antijeni ile birlikte timus-içi farklılaşma döneminin Evre III'de belirdiğini göstermektedir^{5,7,8}.

T Hücre Aktivasyonu;

İmmün cevabın başlaması, T hücre reseptörü ile alloantijenlerin antijene spesifik karşılıklı yakın ilişkilerine bağlıdır. Hücreler arası ilişkileri başlatan hücresele aktivasyonun öncüsü olan transmembran uyarımlarıdır. Oluşan olaylar süresince, T lenfositleri kompleks hücreler arası değişmelerden geçerler ve bunun sonucunda antijene spesifik T lenfositlerinin farklılaşması ve klonal büyümesi gerçekleşmektedir⁷.

Antijen, T hücre reseptörüne karşı oluşturulan anti-TCR antikor ve anti-CD3 antikorunun sepharose gibi solid sistemlere bağlanması sonucu, klonal proliferasyon, lenfokin sekresyonu ve IL-2 salınımının başlamasına neden olmaktadır. Dinlenme halindeki T hücreleri, IL-2 sekresyonu yapmazlar ve IL-2 mRNA'sına sahip değildirler. Dinlenme halinde iken antijeni tanıyarak T hücre antijen reseptörüne bağlanmayı takiben T hücresi, membran içi ve takiben sitozol içine ulaşan seri kimyasal olaylar sonucu aktive olmaktadır. T hücre reseptörleriyle düzenlenen iki erken sinyal iletimi oluşmaktadır. Bunlardan birincisi inositolfosfolipid yolu diğeri ise tirozin kinaz yoludur.

T hücrelerini; antijen, mitojenik lektinler veya anti-T hücre reseptörüne bağlanan monoklonal antikorlar uyarırlar ve sitoplazmik serbest kalsiyum seviyesini arttırlar. Bunun sonucunda protein kinaz C, fosfolipide bağımlı serin ve threoninekinaz aktive olur. Protein kinaz C'nin aktivasyonu ve sitoplazmik serbest kalsiyum seviyesinin artması hücre-içi olayları başlatmaktadır. Çok sayıda reseptör-ligand bağlantısı cevap oluşturur. Membran iç yapısında bulunan fosfolipaz enzimin aktive olması sonucunda fosfotidil inositol hidroliz olur ve bu reaksiyon sonucu diaçil gliserol ve inositol-trifosfat açığa çıkar. Diaçil gliserol protein kinaz-C'yi aktive ederek protein fosforilasyonu yapmaktadır.

İnositol fosfolipid yolu tarafından gelişen bu biyokimyasal reaksiyonlar nükleusu etkiler ve sonuçta DNA replikasyonu gerçekleşir. T hücrelerinin aktive olması aynı zamanda T hücreleri üzerindeki IL-2 reseptörlerinin hızla artışına neden olur ve aynı anda hücre içi IL-2 sentezini takiben IL-2 sekresyonu gerçekleşir. Antijen ile uyarımı takiben hücre yüzeyi üzerinde beliren IL-2 reseptörleri 20 saat içinde maksimum düzeye ulaşırlar. T hücrelerinden sekrete edilen IL-2, reseptörlere

yapışarak T lenfositlerini uyarır ve T hücrelerinde DNA sentezi gerçekleşerek hücreler mitoz evresine girerler. Antijenik stimülasyonun kesilmesi sonucu yüzey CD3-TCR antijen reseptör kompleksi tekrar eksprese edilir ve buna karşılık aktivasyon siklusundaki T hücreleri tekrar dinlenme fazına geçer.

Diğer bir sinyal iletişim yolu ise T hücre reseptörünün uyarılmasına bağlı olan tirozin kinaz aktivasyonudur. T hücresi için spesifik bir kinaz bulunmaktadır. Bu tirozin kinaz yolunun T hücre aktivasyonundaki fonksiyonu henüz açıklanmış değildir.

Antijenik uyarımı takiben T hücrelerinin yüzeyleri üzerinde IL-2 reseptörlerinin oluşması ve kendi sentezlediği IL-2'nin buraya bağlanarak T lenfositlerinin proliferasyonu ile sonlanan bütün bu olaylar dizisine "T Hücrelerinin Otokrin Aktivasyon Yolu" adı verilmektedir^{6,8,9,10}.

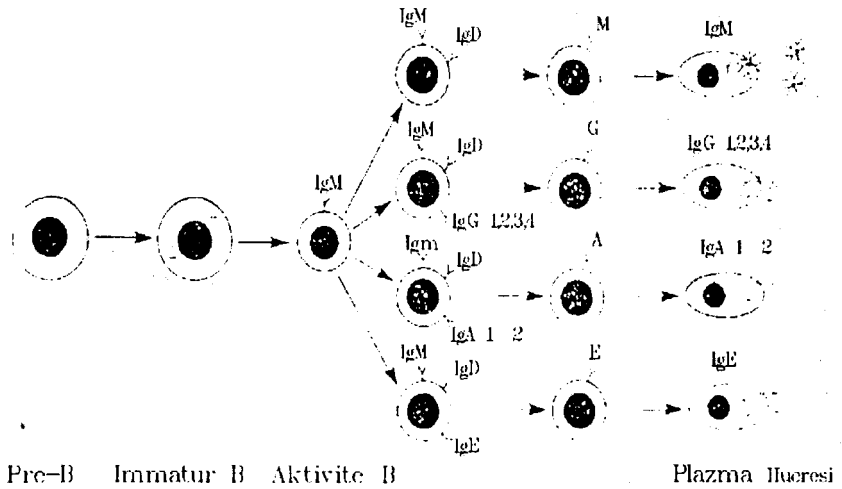
II- B LENFOSİTLERİ

Ontogenez ;

B lenfositlerinin gelişimi, insanda kuşlardaki "Bursa Fabricus" eşdeğeri bir organ olan kemik iliğinde ve az oranda Peyer plaklarında gerçekleşmektedir. Hematopoetik pluripotent stem hücreden köken alan B hücreleri fetal yaşamda sarı kesede bulunurlar. Gebeliğin 8.ci haftasından itibaren B-hücreleri sarı keseden fetal karaciğere yerleşirler ve daha sonra kemik iliğine giderler. Kemik iliğinde B-Hücrelerinin gelişimi pro-B; pre-pre-B ve pre-B hücresinden matür B lenfosit oluşumunu içeren antijene bağımlı olmayan "Başlangıç Dönemi" ile matür B lenfositlerinden antikör sentezleyen plazma hücrelerine dönüşümü içeren "Antijene Bağımlı Dönemi" içine almaktadır¹¹.

B lenfositlerinin stem hücreden sonraki evresini antijene bağımlı olmayan dönem izler. Pro-B, pre pre-B, pre-B ve B hücrelerinde sitoplazmik ve yüzey immünglobulinlerinin ekspresyonu immünglobulin genlerinin konfigürasyonu ile tanımlanmıştır. Pro-B hücrelerinde Ig gen germ-line konfigürasyonu ve re-arrangementi vardır. Pre-B hücreleri, sitoplazmalarında mu-(u) ağır zincirinin öncülünü içeren fakat hafif zincir içermeyen büyük hücrelerdir. Takiben pre-B hücresi yüzeyinde mu-(u) ağır zinciri belirlemektedir. Hücre yüzey Ig(-) dir. Bu

dönemde pre-B hücrelerinde gen düzeyinde re-arrangement başlar, izleyen evrede membran IgM (mu) (+) B hücreleri oluşmaya başlar. Yüzeyde ilk beliren immünglobulin molekülü IgM'dir. Bu hücreler yüzeylerinde IgM taşıyan ve sitoplazmik Ig bulundurmayan immatür B hücreleridir. B-hücremembranında ikinci olarak eksprese edilen izotip ise IgD'dir. Diğer izotiplerin (IgG, IgA, IgE) eksprese edilmesinde IgM ve IgD molekülleri "switch" görevini üstlenirler. B hücre yüzeyindeki immünglobulin molekül tipinin değişmesi "izotipik switch" olarak adlandırılır. (Şekil-4)'de B hücre differansiasyonu sırasında immünglobulin izotip switch mekanizmaları görülmektedir¹².

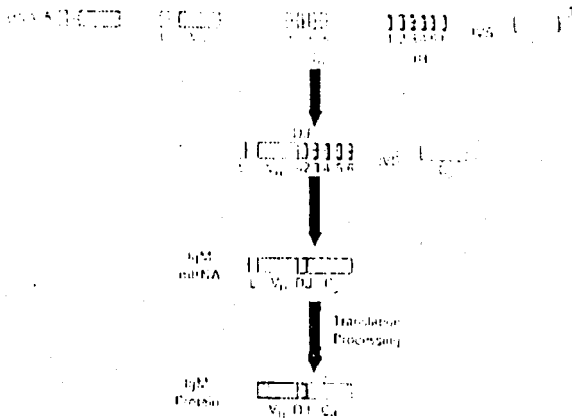


Şekil-4: B Hücre Membranında Oluşan İzotipik Switch.

B Hücrelerinde İmmünglobulin Genlerin Düzenlenmesi (*Re-Arrangement*) ve Ekspresyonu;

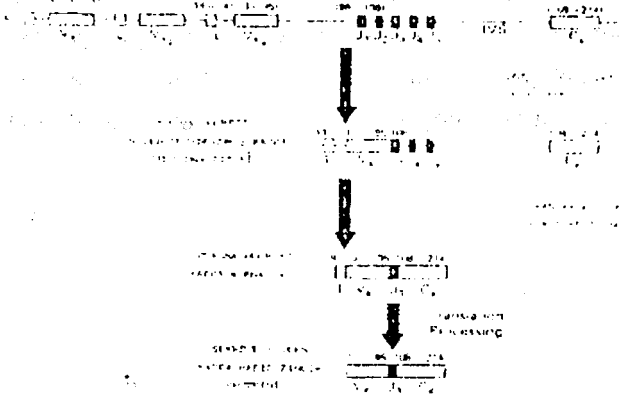
İnsan immünglobulin moleküllerinin ağır zincir genleri 14.kromozomun kısa kolu üzerinde, kappa-hafif zincir geni 2. kromozom, lambda hafif geni de 22. kromozom üzerinde bulunmaktadır. Her immünglobulin ağır zinciri dört gen

segmenti tarafından kodlanmaktadır. Bu genler; Değişken (*Variable-Heavy* = VH), *Diversity* (D), Birleştirici (*Joining* = JH) ve Sabit (*Constant* = CH) gen bölgeleridir. İmmünglobulin ağır ve hafif zincir genleri "discontinuous gen bölgeleri" tarafından kodlanmaktadır. Germ line'deki gen yapılarında immünglobulin polipeptid zincir kodlayan bölgeler gen üzerinde 5' ve 3' arasında bulunurlar. B hücrelerinin gelişimi ile discontinuous gen bölgelerinde yeni ağır ve hafif zincir genleri bu şekilde ortaya çıkarlar. Ağır zincir; Değişken (V) bunları birleştiren J-genleri tarafından kodlanmaktadır. Hafif zincir gen kodlamasından farklı olarak ağır zincir için Diversity (D) gen segmenti bulunur. Diversity (D) segmenti VH ile JH bölgeleri arasına girer. Embriyonik DNA'da ağır zincir gen düzenlenmesi V + D + J şeklinde rekombinasyon gösterir. Bu yapı değişken (variable) ağır zinciri kodlamaktadır. (Şekil-5)'de ağır zincir gen dizisinin düzenlenmesi şematik olarak gösterilmektedir.



Şekil-5: İnsan Ağır Zincir Gen Dizisinin Şematik Düzenlenmesi. Çok sayıda değişken bölge genleri bulunmaktadır. Bu genlerin ön tarafında lider gen dizileri vardır. Altı adet fonksiyonel (*Joining* = J) segmentleri ile *Diversity* (D) segmentleri mevcuttur. Tek VH DH ve JH segmentleri DNA seviyesinde birleşmektedirler. RNA-Splicing işlemi sonucunda intervenin = IVS sekansları çıkarılmaktadır.

Kappa hafif zincir genini kodlayan üç gen segmenti mevcuttur. Bunlar Değişken-Kappa (VK=Variable Kappa) ve bunları tamamlayan joining (J) kodlanmaktadır. Her allel için bir adet Kappa-sabit (CK=Kappa constant) gen bölgesi bulunur. Bu bölge JK'dan (Intervening sequences=IVS) ile ayrılmıştır. (Şekil-6)'da insan kappa gen lokusunun şeması gösterilmektedir.



Şekil-6: İnsan Kappa Gen Lokusunun Şematik Görünümü. Değişken kappa segmenti için çok sayıda embriyonik DNA dizisi mevcuttur. Bu genlerin önünde lider gen grubu vardır. Birleştirici olarak beş bölge bulunur. Her allel için bir tane kappa sabit geni bulunur. DNA gen düzenlenmesi sırasında tek V-kappa ve J-kappa segmenti birleşir. RNA-splicing işlemi sonucu ara bölgeler Intervening = IVS sekansları çıkarılmaktadır.

Lambda hafif zincir sentezinde kodlayıcı genlerin temel dizileri benzerdir. Fakat yapılan çalışmalar sonucunda variable (V) ve joining (J) gen segmentlerini takiben en az dört constant (C) gen segmenti bulunduğu gösterilmiştir^{11,12}.

B Lenfositlerinin Aktivasyonu ve Farklılaşması;

B Hücre farklılaşma evrelerinde matürasyonun başlamasıyla çok sayıda farklı

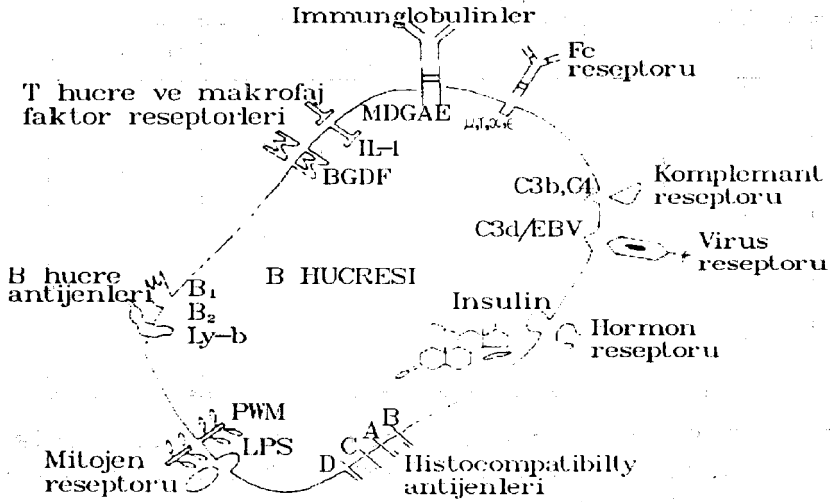
B hücre klonları oluşmaktadır. Antijenik uyarım dinleme halindeki B hücrelerinde DNA sentezini başlatır. B hücre yüzeyindeki class II molekülleri ve antijenik fragmentlerin birleşmesi T hücrelerinin antijeni tanımasıyla olur. Antijeni tanıyarak aktive olan yardımcı T hücreleri bazı eriyebilir faktör üretirler ve salarlar. Bu faktörler B hücrelerini büyüme ve farklılaşma için stimule ederler. Bu faktörler önceleri BCGF ve BCDF olarak isim verilmiş iken son yıllarda IL-6 olarak bilinmektedir.

B hücreleri matürasyonlarını tamamladıktan sonra antijenik uyarım sonucu antikor üreten plazma hücrelerine veya hafıza hücrelerine dönüşürler. Hafıza hücreleri ikinci kez antijenle karşılaştıklarında çok hızlı ve fazla miktarda antikor cevabının oluşmasını sağlar.

Plazma hücreleri ise B-hücre farklılaşma evresinin en son terminal kısmını oluşturur. Yüksek miktarlarda belirli bir immünglobulin sınıfı antikor üretirler ve sekrete ederler. Plazma hücreleri üzerinde anti-PCA ile reaksiyon veren plazma hücreleri için spesifik PCA-1 antijeni bulunmaktadır. İnsan B-lenfositleri farklılaşma antijenleri (Tablo-I)'de görülmektedir¹¹.

B Hücreleri Üzerindeki İmmünglobulin Dışı Reseptörler;

Matür B hücreleri üzerinde antijen tanıma reseptörü olarak görev yapan immünglobulinlerden başka, çevresel uyarımları alan ve uygun hücre uyarımları altında B hücre cevabını düzenleyen diğer bazı önemli fonksiyonel reseptörler mevcuttur. Matür B hücreleri yüzeyinde komplemanın C3b, C4 ve C3d fragmentleri için, IgG, IgA, IgM, IgD, IgE yapısındaki antikorların yapışabilmesine kolaylık sağlamak üzere immünglobulinlerin Fc kısmı için reseptörler, B hücre farklılaşma faktörü, histocompatibility (doku uygunluk antijenleri) (HLA-grubu) nin özellikle sınıf II antijenleri, B hücre yüzey antijenleri (B1 ve B2 gibi) EBV (Epstein Barr virüs) ve hormon (insülin gibi) reseptörleri mevcuttur. B hücreleri üzerindeki immünglobulin dışı reseptörler (Şekil-7)'de gösterilmektedir¹².



Şekil-7: B Hücre Yüzeyindeki İmmünglobulin Dışı Reseptörlerin Şematik Gösterilmesi.

III- LENFOİD KAYNAKLI AKUT KRONİK LÖSEMİLERDEKİ HÜCRELERİN YÜZEY ANTİJENLERİ

Lenfoid kökenli akut ve kronik lösemiler, lenfoid hücrelerin differansiasyon aşamalarının farklı evrelerindeki klonal proliferasyon sonucu oluşmaktadır. Lenfoid hücrelerinin gelişme evrelerindeki immünotipik özellikler, lenfoid malign hastalıkların kaynak aldıkları tiplerini ve differansiasyon aşamalarını tayin etmede büyük önem taşımaktadırlar¹³.

Son on yıl içinde geliştirilen monoklonal antikor teknolojisi ile lenfoid kaynaklı B ve T hücreli lösemiler lenfoblastların immünotipik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır (Tablo II, III, IV).

Tablo-II: B Hücre Kaynaklı Lenfoblastik Lösemide Lenfoblastların Yüzeyinde Eksprese Edilen Yüzey Antijenleri.

B Hücre Neoplazmaları	TdT	HLA-DR	CD19 (B4)	CD24 (BA-1)	CD10 (CALLA)	CD20 (B1)	clg	sIg	CD21	CD5
Akut lenfoblastik lösemi non T-ALL										
Farklılaşmış ALL	+	+	-	±	-	-	-	-	-	-
pre B1-ALL	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-
pre B2-ALL	+	+	±	±	+	-	-	-	-	-
pre B3-ALL	+	+	+	±	+	+	+u	-	-	-
pre B4-ALL (B-ALL)	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-
B-KLL	-	+	±	+	-	±	+u	+	±	+

Tablo-III: T Hücre Kaynaklı Lenfoblastik Lösemide Lenfoblastların Yüzeyinde Eksprese Edilen Yüzey Antijenleri.

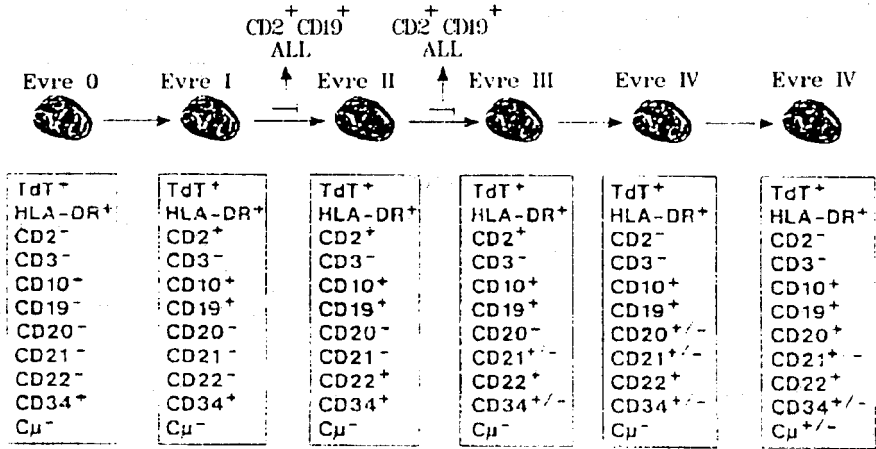
T Hücre Neoplazmaları	TdT	T9	T10	CD7	CD5 (T1)	CD2 (T11)	CD3 (T3)	CD4 (T4)	CD8 (T8)
Erken Timosit (Pre-TALL)	+	+	+	+	+	±	-	-	-
Common T Timosit	+	-	+	+	+	+	±	±	±
Geç T Timosit Yardımcı (CD4+)T hücre farklılaşması	+	-	+	+	+	+	+	+	-
Baskılayıcı (CD8+)T hücre farklılaşması	+	-	+	+	+	+	+	-	+
Matür T Hücre Yardımcı (CD4+)T hücre farklılaşması	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Baskılayıcı (CD8+)T hücre farklılaşması	-	-	-	+	+	+	+	-	+

Tablo-IV: Lösemik Blast Hücrelerinin İmmünofenotip Tayininde Kullanılan Monoklonal Antikorlar.

<u>CD Sistemi</u>	<u>Monoklonal Antikor</u>	<u>Antijen Ekspresyonu</u>
CD1	T6	Timosit
CD2	T11	Pan-T
CD3	T3	Pan-T
CD4	T4/Leu-3	Yardımcı-T
CD5	T101/Leu-1	Pan-T/B Hücresi
CD7	Leu9	Pan-T
CD8	T8 (Leu-2)	Baskılayıcı/Sitositik T Hücresi
CDW29	T4+/4B4	Yardımcı/İndükleyici T Hücresi
	T4+/2H4+	Baskılayıcı/Sitositik T Hücresi
CD19	B4	Pan-B
CD20	B1	Pan-B
CD21	B2	C3dR
CD24	BA1	Pan-B
	PCA-1	Plazma Hücresi
CD11	LeuM5	Monosit
CD13	My7	Pan-myeloid
CD14	My4/MO-2	Monosit
CD15	Leu-M1	Monosit/Polimorfonükleer Hücreler
CD33	My9	Pan-myeloid
CD9	BA2	Hematopoetik Hücreler
CD10	CALLA/J5	ALL/Burkitt Hücresi
CD34	My10/HPLA-1	Hematopoetik Hücreler
CD410	Plt-1	Trombositler/Megakaryosit
CD45	T-200/LCA	Pan-Lökosit
	T9	Transferrin Reseptörü

Akut lenfoblastik lösemi (ALL) hastalığında lenfoblastlar yüzeylerinde eksprese edilen yüzey antijenlerine göre farklılık göstermektedir. Farklılaşmamış akut lenfoblastik lösemide; B hücreleri CD19, CD20; T hücreleri (CD1-CD8), cALLA (CD10) ve myeloid (CD12, CD15, CD33) yüzey işaretleri negatif olarak bulunurken, HLA-sınıf II molekülleri kuvvetli olarak pozitif bulunmaktadır. B hücreli ALL'de pre-B ALL'nin bütün tiplerinde blast hücreleri yüzeylerinde kuvvetli olarak HLA-sınıf II molekülleri, CD19 hücre yüzey işaretleri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu pre-B ALL ve T hücreli ALL'nin 4 alt tipi tanımlanmıştır. Erken B hücre fenotipi ile ALL içinde pre-B1'den pre-B4'e kadar adlandırılan dört tip elde edilmiştir. pre-B1 ALL olarak adlandırılan grupta sıklıkla CD19+ pan B hücre yüzey işareti bulunurken, pre-B2 ALL grubunda CD19 her zaman hücreler üzerinde bulunmaz, CD10+ bu grup ALL'yi belirleyici fenotipik işarettir. Pre-B3 ALL'de CD19+, CD10+ ile beraberinde CD20+ yi taşıyan hücreler ile birlikte sitoplazmik Ig (cIg) bulunur. Yüzey immünglobulini taşıyan bütün hücrelerde B hücreli ALL olarak tanımlanmıştır.

T hücreli akut lenfoblastik lösemide blast hücrelerin membranı üzerinde CD2+ ve CD7+ antijenleri bulunmaktadır. Erken timosit veya pre-T ALL olarak adlandırılan grupta CD2+ yüzey antijeni daha az bulunurken, CD7+ bütün T hücreli ALL gruplarında bulunabilir. T9 (CD71) transferrin reseptörü için spesifik olan T hücre yüzey antijenidir. TdT nükleer enzimi immatür hematopoetik hücrelerde bulunan yüzey işaretidir. Common T timosit veya T-ALL'de T10+, CD7+, CD5+, CD2+ hücreler üzerinde sıklıkla eksprese edilen yüzey antijenleridir. Geç T timosit evresinde oluşan T hücre neoplazmlarında T10+, CD7+, CD5+, CD2+, CD3+ ile birlikte bu hücrelerin immünofenotipinde CD4+ veya CD8+ yüzey antijenleri tesbit edilmektedir^{1,2,14}. Fatih Uçkun ve arkadaşlarının ALL hastalarının kemik iliğindeki blastlarında geniş paneller kullanarak yaptıkları immünofenotipik analizlerde, oldukça az oranlarda TdT+, HLA-DR+, CD34+ antijenlerle birlikte CD2+ ve CD19+ hücre yüzey antijenleri eksprese edilmiştir. Bifenotipik lenfosit öncüllerinin membranları üzerinde, lenfosit farklılaşma antijenlerinin kazanılması ve gelişim evreleri (Şekil-8)'de gösterilmektedir¹⁵.



Şekil-8: Bifenotipik Lenfosit Öncülleri Üzerinde Lenfosit Farklılaşma Antijenlerinin Kazanılması ve Matürasyon Evreleri. Fetal yaşamdaki lenfopoezde (Evre I) immatür bifenotipik lenfosit öncülerinde nükleer TdT ve CD2⁺, CD10⁺, CD19⁺ ifade edildiği halde, CD20⁺, CD21⁺ ve sitoplazmik μ /yüzey immünglobulini bulunmaktadır. Bifenotipik lenfosit öncülerinin gelişiminde (Evre II) CD22⁺ varlığı tanımlanmıştır. Evre III'de CD21⁺ yüzey antijeni kazanılır. CD22⁺ antijeni kaybolur. Evre IV'de lenfosit öncülleri Evre III öncülleri içinde farklılaşırlar. Bunu takiben Pre-B hücre evresi olan Evre V gelmektedir. Bu dönemde CD19⁺, CD20⁺ sitoplazmik μ hücre üzerinde ifade edilirler.

Kronik lenfositik lösemi (KLL), matür lenfositlerin düzensiz malign ve monoklonal olarak B-hücre proliferasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Kronik lenfositik lösemi, B-KLL ve T-KLL olmak üzere iki temel alt grupta incelenmektedir, E rozet formasyonu (CD2⁺), CD3⁺, CD5⁺, CD19⁺ sitoplazmik Ig ve yüzey Ig işaretleri kullanılarak tanımlanır. E rozet formu CD2⁺ ve CD3⁺ oluşturan KLL hücrelerinde monoklonal antikorlar ile ilk alt grupta CD4⁺ ve CD8⁺ monoklonal antikorlarıyla reaksiyon veren karışık bir hücre topluluğu olarak ifade edilir. İkinci alt grupta CD3⁺ monoklonal antikorunun yokluğundan CD8⁺ ile reaksiyon veren hücreleri içerir^{16,17,18}.

B hücreli KLL'de B hücreleri üzerinde yüzey immünglobulini ve HLA-DR birlikte bulunur. CD5 + ile kolay tanınırlar. Lambda veya Kappa hafif zincirlerden birinin yüzeyde bulunması B hücresi monoklonalitesini tanımlar. Plazma hücresi kaynaklı poliklonal immünglobulin taşıyan hücreler, mu-kappa ve mu-lambda olarak antijenik özellik gösterirler¹⁹.

KAYNAKLAR

- 1.Foon AS, Schroff WR and Gale PR: Surface markers on leukemia and lymphoma cells. Recent Advances, Blood, 60:19,1982.
- 2.Stites PD, Terr IA: Basic and clinical immunology, International Edition, Lange Medical Publications, U.S.A. 1991, p.9.
- 3.Roitt I, Brostoff J, Male D: Immunology Gower Medical Publishing, England, 1985, p.14.2
- 4.Reinherz EL, Schlossman SI: Regulation of the immune response-inducer and suppressor T-lymphocyte subsets in human beings. N Engl J Med 303:370,1980.
- 5.Flier JS, Underhill LH: The human T cell receptor, structure and function. N Engl J Med 312:1100,1985.
- 6.Kansu E: T hücre reseptör kompleksi. İç Hastalıkları Dergisi Nisan 1987, s.20.
- 7.Mever SC, Fitzgerald KA, Hussey RE, Hodgdon JC, Schlossman SF, Reinherz EL: Colontypic structures involved in antigen specific human T-cell function: relationship to the T3 molacular complex. J Exp Med 157:705,1983.
- 8.Royer HD, Reinherz EL: T lymphocytes: Ontogeny, function and relevance to clinical disorders. NEngl J Med 307:1136,1987.
- 9.Gootenberg JE, Ruscelti FW, Mier-JW, Gazdor A, Gallo RC: Human cutaneous T cell lymphoma and leukemia cell lines produce and respond to T cell growth factor. J Exp Med 154:1403,1981.
- 10.Krensky AM et al: T-lymphocyte-antigen interactions in transplant rejection. N Engl J Med 322:510,1990.
- 11.Stites DP, Stobo JD, Wells JV: Basic and clinical immunology. Lange Medical Publication 1987, p.73.
- 12.Cooper MD: B lymphocytes.N Engl J Med 317:1452,1987.

- 13.Preud homme JL et al: Lymphocyte markers in human leukemias and lymphomas: Methodologic remarks. *Sem Hematol* 21:296,1984.
- 14.Garand R: Correlations between ALL immunophenotype and clinical and laboratory data at presentation *Cancer* 64:1437,1989.
- 15.Uçkun FM: Regulation of human B-cell ontogeny. *Blood* 76:1908,1990.
- 16.Shrooff RW, Foon KA, Billing RJ, Fahey JL: Immunologic classification of lymphocytic leukemias based on monoclonal antibody-defined cell surface antijens. *Blood* 59:207,1982.
- 17.Gorcias JC et al: Lymphocyte surface markers in acute lymphoblastic leukemia and adults. *AJCP* 68:543,1977.
- 18.Foon KA, Billing RJ, Terasaki P, Cline MJ: Immunologic classification of acute lymphoblastic leukemia; Implications for normal lymphoid maturation. *Blood* 56:1120,1980.
- 19.Yong LI Chin: Immunocytochemical techniques for identifying leukemias. *Mayo Clin Proc* 59:185,1984.

Yazışma Adresi:

Prof.Dr.Emin KANSU

H.Ü.Onkoloji Enstitüsü

Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı

Hacettepe-ANKARA

Alındığı Tarih: 27.08.1991

Kabul Tarihi : 02.10.1991