

Kronik Lenfositik Lösemili Hastalarda T Lenfosit Alt Gruplarının Değerlendirilmesi

Evaluation of T Lymphocyte Subgroups in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia

Metin Yusuf Gelmez¹, Suzan Çınar¹, Aynur Dağlar-Aday², Gülce Özçit-Gürel¹, İpek Yönel-Hindilerden², Günnur Deniz¹, Melih Aktan²

Öz

Giriş: Kronik lenfositik lösemi (KLL), olgun B lenfositlerin malign dönüşümünden kaynaklanan ve erişkinlerde en sık görülen lösemi tipidir. KLL, CD5⁺CD19⁺ hücrelerin kan ve kemik iliğinde birikmesi ile karakterizedir. CD8⁺ T lenfositler hücre içi patojen ve tümöre karşı immün yanıtta, CD4⁺ T immün yanıtın düzenlenmesinde rol almaktadır. T foliküler (Tfol) hücreler, hem salgıladıkları sitokinler hem de yüzey molekülleri aracılığı ile B lenfositleri uyarak afinite olgunlaşmasını ve izotip dönüşümünü sağlar. Bu çalışmada KLL tanısı almış hastaların periferik kan örneklerinde CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositleri ve CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺ Tfol hücre oranları sağlıklı bireyler ile karşılaştırılmış, evre ve hastalık seyri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamıza 37 KLL hastası ve 16 sağlıklı kontrol dâhil edilmiştir. Olgulardan elde edilen periferik kan örneklerinde CD4⁺ T, CD8⁺ T ve Tfol lenfosit oranları akan hücre ölçer ile analiz edilmiştir.

Sonuçlar: Hastalarda lenfosit kapısı içerisinde CD4⁺ T, CD8⁺ T ve Tfol lenfosit oranları düşük olarak gözlenirken, T hücreleri içerisinde CD3⁺CD4⁺ T (yardımcı T hücre) oranının azaldığı, CD8⁺ T (sitotoksik T hücre) ve Tfol lenfosit oranlarının ise arttığı gözlenmiştir. T hücre alt gruplarında gözlenen değişikliklerin hastalığın klinik seyri ile ilişkisi bulunmamıştır.

Tartışma: Hastalarda gözlenen yüksek CD8⁺ T lenfosit ve Tfol hücre oranlarının hastalığın klinik seyri için prognostik bir belirteç olamayacağı gösterilmek ile birlikte, hastalığın bir sonucu olarak artan Tfol hücre oranı lösemik B hücrelerinin yaşaması, proliferasyonu ve bu hücrelerde kromozomal delesyonlar ile ilişkili olduğu düşünülen enzimler için gerekli sitokinlerin kaynağı olabilir.

Anahtar Sözcükler: Kronik Lenfositik Lösemi, T Foliküler Hücre, KLL

Abstract

Introduction: Chronic lymphocytic leukemia (CLL) that arises by malignant transformation of mature B cell is the most common leukemia in elderly. CLL is characterized by accumulation of CD5⁺CD19⁺ cells in the peripheral blood and lymphoid organs. While CD8⁺ T lymphocytes response intracellular pathogen and tumor, CD4⁺ T lymphocytes regulate immune response. T follicular (Tfol) cells stimulate affinity maturation and class-switch recombination in B lymphocytes due to cytokine and surface molecules. In this study, we aimed to investigate CD4⁺ T, CD8⁺ T and CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺ follicular T (Tfol) cells in the peripheral blood of the CLL patients compared to healthy controls.

Materials and Methods: Peripheral blood samples were collected from 37 patients with CLL and 16 healthy subjects. CD4⁺ T, CD8⁺ T and Tfol cells in peripheral blood samples were analyzed by flow cytometry.

Results: CD4⁺ T, CD8⁺ T and Tfol cells were decreased in all lymphocyte population, CD4⁺ T cells are decreased, and CD8⁺ T and Tfol cells are increased but in T cell population. There was no differences T cell subgroups and clinical outcome.

Conclusions: Although the high CD8⁺ T lymphocyte and Tfol cell ratios observed in patients may not be a prognostic marker for the clinical course of the disease, the increased Tfol cell ratio as a result of the disease may be the source of the cytokines required for the survival and proliferation of leukemic B cells and the induction of enzymes that were thought to be associated with chromosomal deletions in these cells.

Keywords: Chronic Lymphocytic Leukemia, Follicular T cells, CLL

Giriş

Kronik lenfositik lösemi (KLL), olgun B lenfositlerinin malign hücrelere dönüşümü ile ortaya çıkan ve erişkinlerde en sık görülen lösemi tipidir.^[1,2] Apoptoz mekanizmasının bozulması sonucu bu hücreler kemik iliğinde, retikuloendotelial sistemde ve kanda birikir. KLL B hücrelerinin karakteristik immünfoenotipik özelliği CD19⁺, CD5⁺, CD23⁺ kuvvetli pozitif olduğu halde, CD22, FMC7, CD79b, yüzey immünoglobülin M (sIgM) ve IgD ifadelerinin düşük olmasıdır.^[3,4] KLL'li hastalarda gözlenen del17p, del13q, del11q ve trizomi 12 gibi kromozom değişikliklerinin yanı sıra CD38, ZAP70

¹İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Correspondence:

Metin Yusuf GELMEZ
İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, Vakıf Gureba Cad, 34393, İstanbul, Türkiye
E-mail: yusufmetin@istanbul.edu.tr
Phone: +90 212 414 20 00 / 33344

Received: Apr 13, 2020

Accepted: Apr 29, 2020

<https://doi.org/10.25002/tji.2020.1240>

©2020 Turkish Journal of Immunology
Available online at
<http://www.turkishimmunology.org>

düzeyinin ve Ig ağır zincir değişken bölge (IgV_H) mutasyon durumunun hastalığın prognozu ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Buna karşın KLL'nin moleküler patogenezi hala anlaşılammıştır.^[5-7]

Edinsel immün sistemin bir üyesi olan T lenfositleri immün yanıtta önemli rol oynar. Alt gruplarından biri olan CD8⁺ sitotoksik T lenfositleri virüs gibi hücre içi patojenlere ve tümöre karşı immün yanıtta rol alır.^[8] Salgıladıkları enzimler aracılığı ile hedef hücreyi lizise uğratar. Diğer geniş T hücre altgrubu CD4⁺ yardımcı T lenfositleri hem salgıladıkları sitokinler hem de yüzey molekülleri aracılığı ile immün sistemin diğer hücrelerinin proliferasyonunu, aktivasyonunu, farklılaşmasını ve fonksiyonlarını uyarıcı rolleri vardır.^[9] Yardımcı T lenfositlerinin bir alt grubu olan T foliküler (Tfol) hücreler fenotipik olarak CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺ dir.^[10] CXCR5 bir kemokin reseptörü olup, lenf nodu ve dalakta salgılanan CXCL13 kemokinine spesifiktir. B lenfositler ve Tfol hücreler yüzeylerindeki CXCR5 aracılığı ile lenf nodlarında foliküler alana göç eder. Lenf düğümlerinde foliküllerde bulunan Tfol hücreler salgıladıkları sitokinler ve yüzeyinde bulunan CD40L gibi moleküller aracılığı ile B lenfositlerde farklılaşmayı, izotip sınıf değişimini ve afinite olgunlaşmasını uyarılmaktadır.^[11] Güncel çalışmalar, B lenfositlerde Ig izotip dönüşümü ve afinite olgunlaşmasından sorumlu olan, buna karşın organizmada ilk potansiyel mutasyon yapan enzim olarak tanımlanan aktivasyonla indüklenen sitidin deaminaz (AID) ekspresyonunun KLL'li hastalarda arttığı bildirilmiş ve malignite ile ilgili delesyonlardan sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür.^[5,12-15]

Son zamanlarda neoplastik B-hücrelerinin mikroçevre ve özellikle T-hücreleri ile etkileşimi önem kazanmış, KLL patogenezinde T-hücrelerinin rolü dikkat çekmiştir.^[16] T_{fol} hücrelerinin KLL B hücre farklılaşmasını, ekspansiyonunu ve sağkalımını düzenleyerek hastalığın klinik seyrini modüle ettiği düşünülmektedir.^[16-18] Bu çalışmada KLL tanısı almış hastaların periferik kan örneklerinde CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositleri ve CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺ Tfol hücre oranları sağlıklı bireyler ile karşılaştırılmış, evre ve hastalık seyri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hasta Grubu

Çalışmamıza İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji polikliniğinde takip edilen ve

tedavi almayan 11'i kadın olmak üzere toplam 37 KLL hastası dahil edilmiştir. KLL tanı kriterleri olarak: çevre kanında morfolojik olarak olgun görünümlü ve fenotipik olarak CD5 ve CD19 ifade eden hücreler bulunan; lenfosit sayısı $5 \times 10^3/\text{mm}^3$ 'ün üzerinde olan olgular seçilmiştir. Binet ve Rai evreleme sistemine göre hastaların evreleri belirlenmiştir. Çalışmaya katıldığı anda enfeksiyonu olan ya da KLL dışında ikinci bir kronik hastalığı olanlar, otoimmünite öyküsü olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Kendisinde ya da birinci derece akrabalarında kanser ve otoimmünite öyküsü olmayan, çalışmaya katıldığı anda herhangi bir enfeksiyonu olmayan yaş ve cinsiyet uyumlu 6'sı kadın toplam 16 sağlıklı erişkin ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı gönüllülerin bilgilendirilmiş ve yazılı onamları alınmıştır (İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu, 12.12.2014 tarih ve 237 sayılı yazı).

T Lenfositleri ve Alt Gruplarının Akan Hücre Ölçer ile Analizi

Olgulardan alınan periferik kan örneklerinde CD5⁺CD19⁺ fenotipli KLL B hücreleri insan özgül fare kaynaklı anti-CD19 APC (klon SJ25C1) ve -CD5 PECY7 (klon L17F12) monoklonal antikorları ile; CD4⁺ yardımcı T, CD8⁺ sitotoksik T lenfositleri ve Tfol hücre oranları anti-CD3 PECY7 (klon UCTH1), -CD4 APC (klon RPA-T4) ve -CXCR5 FITC (klon J252D4) monoklonal antikorları kullanılarak tam kan lizis yöntemi ile saptanmıştır.^[19] Kullanılan tüm monoklonal antikorlar BD Bioscience (ABD) firmasından temin edilmiştir. Deney protokolü kısaca şöyledir: Titrasyonla saptanan uygun miktardaki monoklonal antikor ile periferik kan örnekleri (100 ml veya 10^6 hücre/mL) 20 dakika karanlıkta inkübasyonunu takiben, Lysing solüsyon (2 ml, x1, BD-Bioscience) ile 20 dakika oda sıcaklığında eritrositlerin lizisi sağlanmıştır. Hücreler fosfat tuzlu tampon (FTT) çözeltisi ile 1800 rpm'de 5 dakika iki kez yıkandıktan sonra, FTT ilave edilerek CellQuest (BD-Biosciences, ABD) yazılımı kullanılarak FACSCalibur (Becton-Dickinson, ABD) akan hücre ölçer cihazı ile veriler kaydedilmiş ve analizler CellQuest yazılımı ile yapılmıştır. Tüm örneklerde yan ve ön saçılım sayımları (SSC/FSC) grafiğinde lenfosit kapısında 30.000 hücre sayılmıştır. Hasta ve sağlıklı bireylere ait lenfosit hücre popülasyonu içindeki T hücresi (CD3⁺), yardımcı T hücresi (CD3⁺CD4⁺), sitotoksik T hücresi (CD3⁺CD4⁻) ve CD3⁺CD4⁺CXCR5 hücre oranları irdelenmiştir.

İstatistik

Elde edilen verilere SPSS 21 programı yardımıyla parametrik olmayan testler (Kruskall-Wallis, Mann-Withney U) uygulanmıştır. p Değeri 0,05'in altında olduğunda, karşılaştırma istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 37 KLL hastasının yaş ortalaması 64 (48 - 86) yıl idi. Kadınların yaş ortalaması 62 (54 - 68), erkeklerin ise 67 (48 - 86) yıl olarak saptandı. Binet evreleme sistemine göre hastaların 16'sı Evre A, 10'u Evre B ve 11'i Evre C, bir diğer evreleme sistemi Rai sınıflandırmasına göre hastaların 4'ü Evre 0, 16'sı Evre I, 11'i Evre II, 4'ü Evre III ve 2'si Evre IV olarak belirlenmiştir. Olgulara ait demografik ve klinik özellikler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hastaların klinik verileri

Demografik yapı	
KLL	
Yaş (yıl)	64 (48-86)
Cinsiyet (E/K)	26/11
WBC	78,2 (5,9-226,3 × 10 ⁶ /ml)
CD5 ⁺ CD19 ⁺ (%)	66,96 (32,7-95,5)
Sitogenetik Bulgular	
del 17p13	1
del 11q22,3	3
del 13q14	5
tri12	3
Delesyon saptanmayan	16
Belirsiz/bilgi yok	9
Binet Evre	
Evre A	16
Evre B	10
Evre C	11
Rai Evre	
Rai 0	4
Rai I	16
Rai II	11
Rai III	4
Rai IV	2
Sağlıklı Kontrol	
Yaş (yıl)	56 (53-68)
Cinsiyet (E/K)	10/6

Sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalaması 56 olup yaş dağılımları 52 ile 68 yıl arasındadır. Kadınların yaş ortalaması 57 (53 - 68), erkeklerin ise 56 (50 - 60) yıl olarak bulunmuştur.

T Hücresi Alt Gruplarının Dağılımı

KLL patogeneğinde T hücre alt gruplarındaki değişiklikleri saptamak amacı ile hasta ve sağlıklı kontrollerin periferik kan örneklerinde T hücreleri, yardımcı T, sitotoksik T ve CXCR5 moleküllerinin hücre yüzeyindeki ifadeleri ile tanımlanan dolaşımdaki foliküler T hücre oranları akan hücre ölçer cihazında saptandı. SSC/FSC grafiğinde lenfositlerin seçildiği kapılama stratejisi Şekil 1'da gösterilmektedir.

KLL hastaların lenfositleri içinde CD3⁺ T hücreleri (p<0.0001), CD3⁺CD4⁺ yardımcı T hücreleri (p<0.0001), CD3⁺CD4⁻ sitotoksik T hücreleri (p<0.0001), CD3⁺CXCR5⁺ foliküler T (p=0.0154) ve CD4⁺CXCR5⁺ foliküler yardımcı T (p<0.0001) hücreleri oranları sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (Şekil 1b, Tablo 2).

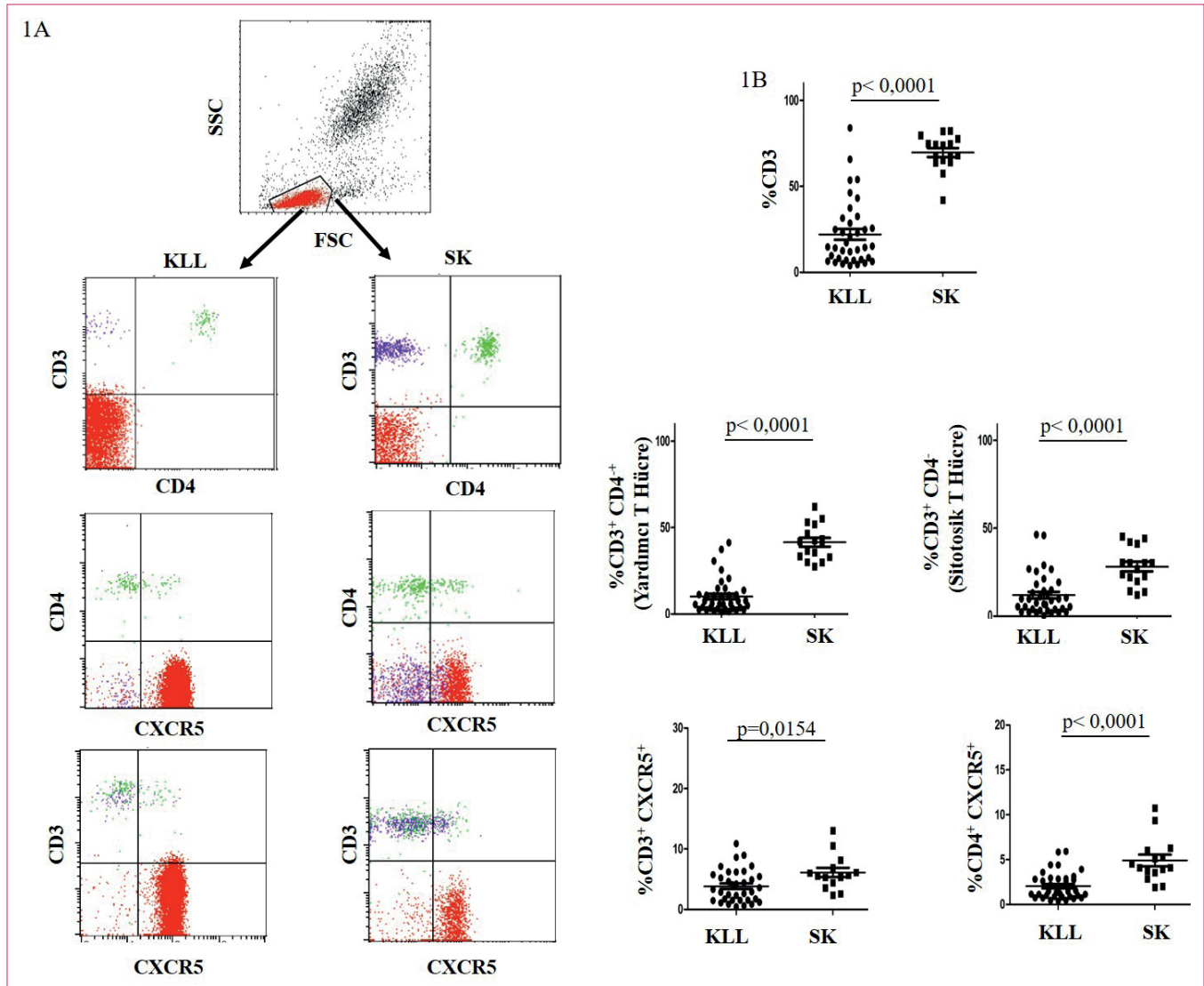
CD3⁺ T Hücreleri İçinde Yardımcı, Sitotoksik ve Foliküler T Hücre Alt Gruplarının Dağılımı

Akan hücre ölçer ile yapılan analizler SSC/FSC grafiğinde seçilen lenfositler içinde SSC/CD3 grafiğinde CD3⁺ hücreler seçilerek CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD4⁻ ve CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺ hücre oranları olacak şekilde ayrıca yapıldı (Şekil 2A).

CD3⁺ T hücresi alt grupları açısından sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında KLL'li hastaların CD3⁺CD4⁺ yardımcı T hücrelerinin azaldığı gözlenirken (p=0.03), CD3⁺CD4⁻ (CD8⁺ sitotoksik T hücreleri) hücrelerinin arttığı (p=0.03) saptandı. Bununla birlikte KLL'li hastalarda CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺ (p=0.024) ve CD3⁺CD4⁻CXCR5⁺ (p=0,0004) hücre oranları sağlıklı kontrollere göre yüksek bulundu (Şekil 2B). Ortanca (minimum - maksimum) değerler Tablo 2'de gösterilmektedir. Tfol, yardımcı ve sitotoksik T hücresi alt grupları evreleme sistemleri ve delesyon durumlarına göre analiz edildiğinde hasta grupları arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tartışma

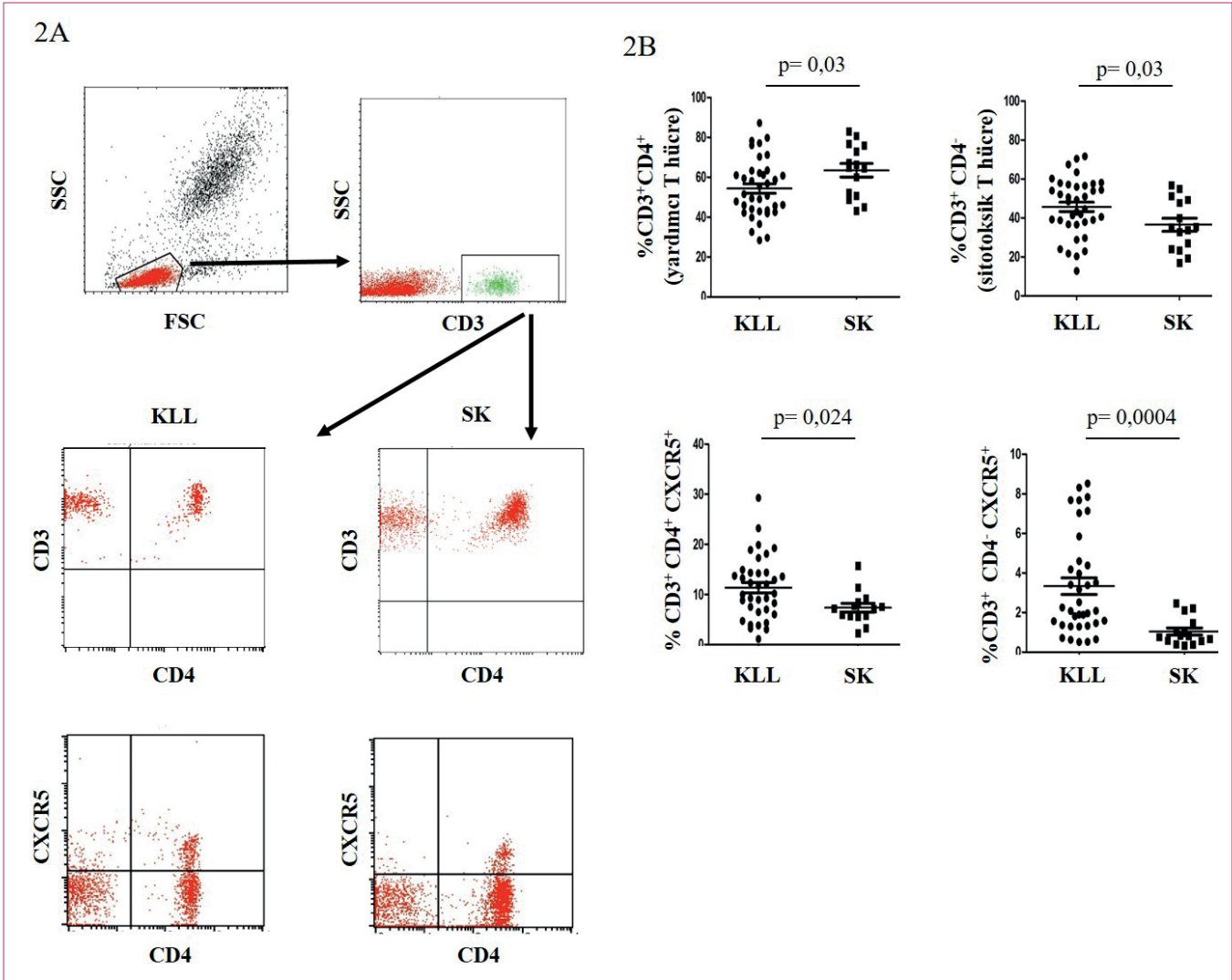
KLL, monoklonal B hücrelerinin kemik iliği ve periferik kanda birikimiyle karakterize, klinik seyri çok değişken



Şekil 1. SSC/FSC grafiğinde lenfosit bölgesinde T hücreleri alt grupları değerlendirme stratejisi, hasta ve sağlıklı kontrole ait örnek dot-plot grafikleri (1A). KLL hasta grubuna ait T (CD3⁺), yardımcı T (CD3⁺CD4⁺), sitotoksik T (CD3⁺CD4⁻), foliküler T (CD3⁺CXCR5⁺) ve foliküler yardımcı T (CD4⁺CXCR5⁺) hücre oranları sağlıklı bireylerinkine göre anlamlı derecede azaldı (1B).

Tablo 2. KLL hastaları ve sağlıklı bireylerde lenfosit ve CD3⁺ T hücre alt grubu içindeki T hücreleri alt gruplarının ortanca (minimum – maksimum) değerleri

	KLL % Ort. (min – max)	Sağlıklı Kontrol % Ort. (min – max)	p
Lenfosit hücre grubunda			
CD3 ⁺	14,7 (3,9–83,9)	70,9 (42,0–82,1)	p<0,0001
CD3 ⁺ CD4 ⁺	6,0 (1,2–41,3)	41,2 (27,4–62,1)	p<0,0001
CD3 ⁺ CD4 ⁻	8,8 (0,1–46,3)	28,5 (12,0–45,2)	p<0,0001
CD3 ⁺ CXCR5 ⁺	3,3 (0,4–10,8)	5,6 (2,3–10,8)	p<0,0001
CD4 ⁺ CXCR5 ⁺	1,4 (0,3–10,7)	4,1 (1,9–10,7)	p<0,0001
CD3⁺ T hücre grubunda			
CD3 ⁺ CD4 ⁺	51,5 (28,3–87,1)	64,8 (43,2–83,0)	p=0,03
CD3 ⁺ CD4 ⁻	48,4 (12,8–71,6)	35,1 (16,9–56,7)	p=0,03
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CXCR5 ⁺	10,9 (1,1–29,3)	7,1 (2,2–15,7)	p=0,024
CD3 ⁺ CD4 ⁻ CXCR5 ⁺	2,1 (0,5–8,5)	0,8 (0,3–2,4)	p=0,0004



Şekil 2. SSC/CD3 grafiğinde CD3⁺ hücre kümesi içinde yer alan T hücreleri alt gruplarının kapılma stratejisi (2A). T hücreleri (CD3⁺ T hücre kapısı) içindeki oranlar değerlendirildiğinde KLL'li bireylerde CD3⁺CD4⁺ hücre oranları azalır iken, CD3⁺CD4⁻, CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺ ve CD3⁺CD4⁻CXCR5⁺ hücre oranları arttı (2B).

ve önceden tahmin edilmesi zor bir hastalıktır. KLL'li hastaların çoğu semptomsuzdur ve hastalık tanısı, diğer hastalıkların değerlendirilmesi veya rutin inceleme sırasında periferik kanda mutlak lenfositoz saptanması ile konulmaktadır.^[2,3]

T lenfositleri fonksiyonlarına ve yüzey belirteçlerine göre CD4⁺ T ve CD8⁺ T lenfositleri olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır.^[20] CD8⁺ T lenfositleri tümör hücrelerine karşı yanıtta doğal öldürücü (NK) hücreleri ile benzer şekilde işlev görmektedir. CD4⁺ T lenfositleri ise salgıladıkları çeşitli sitokinler aracılığı ile immün yanıtların düzenlenmesinde rol almaktadır.^[20,21]

Bu çalışmada KLL tanısı almış hastaların periferik kan örneklerinde T lenfositleri alt gruplarının oranı incelendi.

KLL immünofenotipik olarak CD5⁺CD19⁺ B hücrelerinin periferik kanda birikimi ile karakterize olmasından dolayı, beklenildiği üzere lenfosit hücreleri içindeki CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit oranları düşük olarak saptandı. CD3⁺ T hücreleri içinde analiz yapıldığında hastalarda CD8⁺ T lenfosit oranlarının sağlıklı kontrollere göre arttığı gözlemlendi. Yapılan çalışmalar KLL hastalarında sağlıklı kontrollere göre dolaşımdaki T hücreleri oranlarında farklılık olduğunu, özellikle, CD8⁺ T lenfosit sayılarının arttığını göstermektedir.^[22,23]

KLL patogenezi ile ilgili yapılan son çalışmalar, hastalarda AID ekspresyonunun arttığı ve KLL'de görülen delesyonlardan bu enzimin sorumlu olabileceği yönündedir.^[13,15,24] Grubumuzun yapmış olduğu

çalışmalarda da AID ekspresyonunun özellikle kromozomal delesyonu olan hastalarda arttığını ortaya koymaktadır. [5,12,15] B lenfositlerinde AID enziminin ifade edilebilmesi için B lenfositlerinin Tfol hücreler tarafından hem yüzey molekülleri, hem de sitokinler aracılığı ile uyarılması gerekmektedir. Çalışmamızda, KLL'li hastaların periferik kan örneklerinde CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺ Tfol hücre oranlarının arttığı saptandı. Cha ve ark.'nın çalışmasında dolaşımdaki Tfol hücre oranlarının bulgularımızı destekler şekilde KLL hastalarında arttığı bulunmuştur. [25] Benzer şekilde Ahearne ve ark. dolaşımdaki Tfol hücre oranlarının ve bu hücreler tarafından sekrete edilen IL-4 ve IL-21 düzeylerinin arttığını saptamıştır. [26] Böylece artan Tfol hücresi oranı B hücrelerinde, daha önce gösterildiği gibi, AID ekspresyonunu tetikleyebilir. Hastalarda gözlenen yüksek Tfol hücresi oranı ile klinik evreleme sistemleri ve bazı prognostik belirteçler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır. [26] Benzer şekilde bizde çalışmamızda Tfol hücresi artışının klinik evreleme sistemleri yada hastalardaki delesyon durumu ile arasında bir ilişki saptamadık. Bu durum Tfol hücrelerinin hastalığın klinik seyri için prognostik bir belirteç olamayacağını göstermekle birlikte, hastalığın bir sonucu olarak artan Tfol hücre oranı lösemik B hücrelerinin yaşaması ve proliferasyonu için gerekli sitokinlerin kaynağı ve yüksek AID ekspresyonunun nedeni olabilir. Çalışmamızın en önemli sınırlaması az sayıda heterojen hasta grubunda çalışılmış olmasıdır. Daha geniş ve homojen hasta grubundan elde edilecek veriler ile bulguların desteklemesi faydalı olacaktır.

Bulgularımız, KLL'li hastalarda CD8⁺ T lenfosit ve Tfol hücresi oranlarının arttığını göstermiştir. Tfol hücrelerin hem lösemik hücreler için gerekli sitokinlerin kaynağı olması hem de bu hücrelerde AID ekspresyonu üzerindeki rolleri göz önüne alındığında, Tfol hücrelerin KLL'deki önemini ortaya koymaktadır. Bu hücrelerden kaynaklanan sitokin veya yüzey moleküllerinin B lenfositlerini uyardaki rolü araştırılması hastalığın biyolojisinin aydınlatılmasında önemli olacağı izlenimini vermektedir.

Ethics Committee Approval: The study has been approved by IU Istanbul Medical Faculty Clinical Research Ethics Committee (No. 237. Date: 12.12.2014)

Informed Consent: Patients and healthy volunteers who participated in the study were informed and their written consents were obtained.

Conflict of interest: The authors declared that there were no conflicts of interest.

Contribution of authors: Concept: MYG, MA; Design: MYG, SC, GD; Data Collection or Processing: ADA, İY-H; Analysis or Interpretation: MYG, MA, GD, SC, İY-H, GO, ADA; Literature Search: MYG, GO, ADA, İY-H; Writing: MYG, SC, GD; Critical Review: MYG, MA, GD, SC, İY-H.

Acknowledgment: This work was supported by TÜBİTAK (project no: 2155026) and Istanbul University Scientific Research Unit (project no: 29871).

Etik Komite Onayı: İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (12.12.2014 tarih ve 237 sayılı yazı).

Hasta Onamı: Çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı gönüllüler bilgilendirilmiş ve yazılı onamları alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Yazarlık Katkısı: Fikir: MYG, MA; Tasarım: MYG, SC, GD; Veri Toplama ve İşleme: ADA, İY-H; Analiz/ Yorum: MYG, MA, GD, SC, İY-H, GO, ADA; Literatür Tarama: MYG, GO, ADA, İY-H; Yazıyı yazan: MYG, SC, GD; Eleştirel Değerlendirme: MYG, MA, GD, SC, İY-H.

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK (proje no: 2155026) ve İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi (proje no: 29871) tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Rawstron AC. Monoclonal B cell lymphocytosis--what does it really mean? *Curr Hematol Malig Rep* 2013;8:52–9. [Crossref]
2. Damle RN, Calissano C, Chiorazzi N. Chronic lymphocytic leukaemia: a disease of activated monoclonal B cells. *Best Pract Res Clin Haematol* 2010;23:33–45. [Crossref]
3. Kipps TJ, Stevenson FK, Wu CJ, Croce CM, Packham G, Wierda WG, et al. Chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:16096. [Crossref]
4. Matutes E, Attygalle A, Wotherspoon A, Catovsky D. Diagnostic issues in chronic lymphocytic leukaemia (CLL). *Best Pract Res Clin Haematol* 2010;23:3–20. [Crossref]
5. Hancer VS, Kose M, Kucukkaya RD, Yavuz AS, Aktan M. Activation-induced cytidine deaminase mRNA levels in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2011;52:79–84. [Crossref]
6. Delgado J, Salaverria I, Baumann T, Martinez-Trillos A, Lee E, Jimenez L, et al. Genomic complexity and IGHV mutational status are key predictors of outcome of chronic lymphocytic leukemia patients with TP53 disruption. *Haematologica* 2014;99:e231–4. [Crossref]
7. Gaidano G, Foa R, Dalla-Favera R. Molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Invest* 2012;122:3432–8. [Crossref]
8. Turbitt WJ, Rosean CB, Weber KS, Norian LA. Obesity and CD8 T cell metabolism: Implications for anti-tumor immunity and cancer immunotherapy outcomes. *Immunol Rev* 2020;295:203–19. [Crossref]
9. Brightman SE, Naradikian MS, Miller AM, Schoenberger SP. Harnessing neoantigen specific CD4 T cells for cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol* 2020;107:625–33. [Crossref]
10. Crotty S. T Follicular Helper Cell Biology: A Decade of Discovery and Diseases. *Immunity* 2019;50:1132–48. [Crossref]
11. Panneton V, Chang J, Witalis M, Li J, Suh WK. Inducible T-cell co-stimulator: Signaling mechanisms in T follicular helper cells and beyond. *Immunol Rev* 2019;291:91–103. [Crossref]
12. Gelmez MY, Coskunpinar E, Saracoglu B, Deniz G, Aktan M. Investigation of AID, Dicer, and Drosha Expressions in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *Immunol Invest* 2017;46:433–46. [Crossref]
13. Kumar R, DiMenna LJ, Chaudhuri J, Evans T, et al. Biological function of activation-induced cytidine deaminase (AID). *Biomed J* 2014;37:269–83. [Crossref]
14. Pettersen HS, Galashevskaya A, Doseth B, Sousa MML, Sarno A, Visnes T, Aas PA, Liabakk NB, Slupphaug G, Sætrum P, Kavli

- B, Krokan HE. AID expression in B-cell lymphomas causes accumulation of genomic uracil and a distinct AID mutational signature. *DNA Repair (Amst)* 2015;25:60–71. [[Crossref](#)]
15. Gelmez MY, Teker ABA, Aday AD, Yavuz AS, Soysal T, Deniz G, Aktan M. Analysis of activation-induced cytidine deaminase mRNA levels in patients with chronic lymphocytic leukemia with different cytogenetic status. *Leuk Lymphoma* 2014;55:326–30. [[Crossref](#)]
 16. Correia RP, Silva FAM, Bacal NS, Campregher PV, Hamerschlak N, Amarante-Mendes GP. Involvement of memory T-cells in the pathophysiology of chronic lymphocytic leukemia. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2014;36:60–4. [[Crossref](#)]
 17. Riches JC, Ramsay AG, Gribben JG. T-cell function in chronic lymphocytic leukaemia. *Semin Cancer Biol* 2010;20:431–8. [[Crossref](#)]
 18. Scrivener S, Goddard RV, Kaminski ER, Prentice AG. Abnormal T-cell function in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Leuk Lymphoma* 2003;44:383–9. [[Crossref](#)]
 19. O’Gorman MR. Role of flow cytometry in the diagnosis and monitoring of primary immunodeficiency disease. *Clin Lab Med* 2007;27:591–626, vii. [[Crossref](#)]
 20. Golubovskaya V, Wu L. Different Subsets of T Cells, Memory, Effector Functions, and CAR-T Immunotherapy. *Cancers (Basel)* 2016;8:36. [[Crossref](#)]
 21. Morvan MG, Lanier LL. NK cells and cancer: you can teach innate cells new tricks. *Nat Rev Cancer* 2016;16:7–19. [[Crossref](#)]
 22. Palma M, Gentilcore G, Heimersson K, Mozaffari F, Näsman-Glaser B, Young E, et al. T cells in chronic lymphocytic leukemia display dysregulated expression of immune checkpoints and activation markers. *Haematologica* 2017;102:562–72. [[Crossref](#)]
 23. Nunes C, Wong R, Mason M, Fegan C, Man S, Pepper C. Expansion of a CD8(+) PD-1(+) replicative senescence phenotype in early stage CLL patients is associated with inverted CD4: CD8 ratios and disease progression. *Clin Cancer Res* 2012;18:678–87. [[Crossref](#)]
 24. Leuenberger M, Frigerio S, Wild PJ, Noetzi F, Korol D, Zimmermann DR, et al. AID protein expression in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma is associated with poor prognosis and complex genetic alterations. *Mod Pathol* 2010;23:177–86. [[Crossref](#)]
 25. Cha Z, Zang Y, Guo H, Rechlic JR, Olanova LM, Gu H, et al. Association of peripheral CD4+ CXCR5+ T cells with chronic lymphocytic leukemia. *Tumour Biol* 2013;34:3579–85. [[Crossref](#)]
 26. Ahearne MJ, Willimott S, Piñon L, Kennedy DB, Miall F, Dyer MJS, Wagner SD. Enhancement of CD154/IL4 proliferation by the T follicular helper (Tfh) cytokine, IL21 and increased numbers of circulating cells resembling Tfh cells in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2013;162:360–70. [[Crossref](#)]