Review

Turk J Immunol 2021;9(2):59-66
DOI: 10.5222/TJI.2021.40085

Kappa Hafif Zinciri Dairesel Kesip Çıkaran İmmünglobulin Gen Yeniden Düzenlenme Mekanizması ve Transplantasyonlardaki Önemi

Kappa Deleting Recombination Excision Circle (KREC) Immunoglobulin Gene Rearrangement Mechamism and Importance in Transplants

Zeynep Akbulut[1], Gülderen Yanıkkaya Demirel[2]

[1]Maltepe Üniversitesi, Kanser ve Kök Hücre Araştırma Merkezi, İstanbul, Türkiye
[2]Yeditepe Üniversitesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Cite as: Akbulut Z, Yanıkkaya Demirel G. Kappa hafif zinciri dairesel kesip çıkaran immünglobulin gen yeniden düzenlenme mekanizması ve transplantasyonlardaki önemi, Turk J Immunol 2021;9(2):59-66.

Received: 18.02.2021 **Accepted:** 30.05.2021 **Publication date:** 30.08.2021

Corresponding Author: Gülderen Yanıkkaya Demirel, Yeditepe Üniversitesi, 26 Ağustos Yerleşkesi, Tıp Fakültesi Binası 6. Kat Kayışdağı, Ataşehir 34755 Istanbul - Türkiye
gulderen.ydemirel@yeditepe.edu.tr

Öz

Kappa hafif zinciri dairesel kesip çıkaran immünglobulin gen yeniden düzenlenme mekanizması (Kappa deleting recombination excision circle-KREC), B lenfositlerinin, çok farklı çeşitlilikteki antijenlere karşı immün sistemi korumada göstermiş oldukları özgül yanıt sonucunda meydana gelen moleküler bir yapı olup, özellikle immün yetmezliği olan hastalarda erken immün yanıtın göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Kemik iliğinden B hücresi çıkışını göstermek için moleküler analiz yöntemleri ile KREC ölçümü yapılabilmekte ve konu ile ilgili klinik çalışmalarda son yıllarda artış görülmektedir. Bu derleme, KREC'in oluşum mekanizması, KREC ölçümünün önemi ve hastalıkların tedavisindeki yerinin ne olduğunu açıklamaya odaklanmıştır.

Anahtar kelimeler: Kappa hafif zinciri, B lenfositler, immünglobulin gen yeniden düzenlenme, genetik rekombinasyon

Abstract

Kappa deleting recombination excision circle (KREC) is a molecular structure that occurs as a result of the specific response of B lymphocytes to protect the immune system against a wide variety of antigens and is considered to be an indicator of early immune response, especially in immunodeficiency disease patients. KREC can be measured with molecular analysis methods to show B cell output from the bone marrow and there has been an increase in clinical studies on the subject recently. This review is focused on explaining the mechanism of KREC occurrence, the importance of KREC measurement and its role in the treatment of diseases.

Keywords: Kappa deleting recombination excision circle (KREC)

Giriş

Hematopoietik kök hücresi (HSC) veya organ transplantasyonları sonrasında, sıvısal bağışıklığın etkinliği, B lenfositlerinin gelişimi ile takip edilmektedir.[1] Nakledilen dokunun yeni konağa uyumunu sağlayacak immün baskılayıcı ilaçlar ve benzeri uygulamalar otolog B lenfositlerinin uzun süre baskılanmasına neden olmakta, dolayısıyla uzun süreli immünoglobulin (Ig) yerine koyma (replasman) tedavisini gerekli kılmaktadır.[2] Kök hücre transplantasyonundan sonra nakledilen dokunun olgun B hücreleri, alıcının olgun B hücrelerinden köken alarak devam etmektedir.[2] Bu durum, organ nakli yapılan hastalarda farklı B lenfositi kaynağı bulunmasına ve sıvısal bağışıklığın takibinin zorlaşmasına yol açmaktadır.[2] B lenfositlerinin yeniden üretilmesinin izlenebilirliği, yeni üretilen B lenfositlerinin mevcut B lenfositlerinden ayırt edilebilmesi için yeni uygulamaları tedavide zorunlu kılmaktadır.[2] Bu derleme; B lenfositi gelişiminde açığa çıkan ve B hücresi kinetiğinin göstergesi olarak kabul edilen Kappa hafif zinciri dairesel kesip çıkaran immünglobulin gen yeniden düzenlenme mekanizması (KREC) segmentinin moleküler

ORCID: Z. Akbulut 0000-0002-7526-8496, **G. Yanıkkaya Demirel** 0000-0001-5775-491X

© Copyright Turkish Journal of Immunology. This journal published by Logos Medical Publishing.
Licenced by Creative Commons 4.0 International (CC BY)

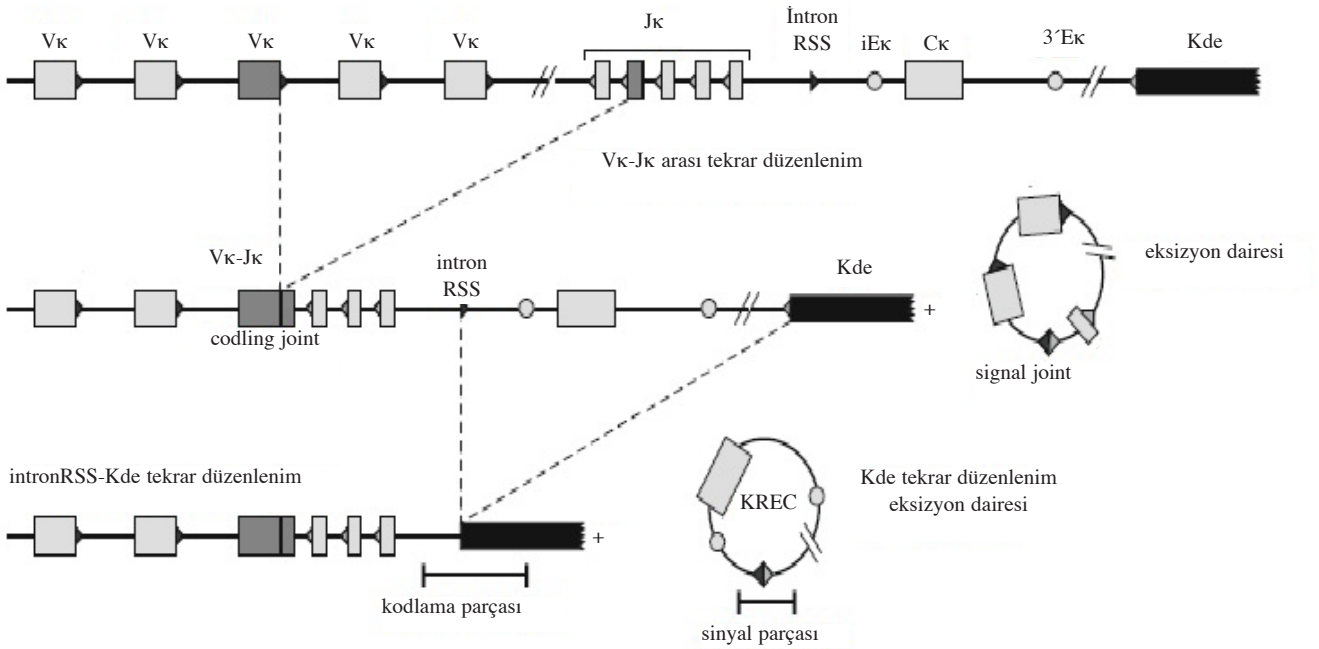
oluşum mekanizması, hangi alanlarda kullanıldığı, doku ve organ transplantasyonlarında B lenfositi kinetiğindeki değişiklikler ile KREC analizinin ilişkilendirilmesi ile ilgili günümüze dek yapılan araştırma ve uygulamaların bir arada değerlendirilmesini amaçlamaktadır.

KREC Moleküler Oluşum Mekanizması

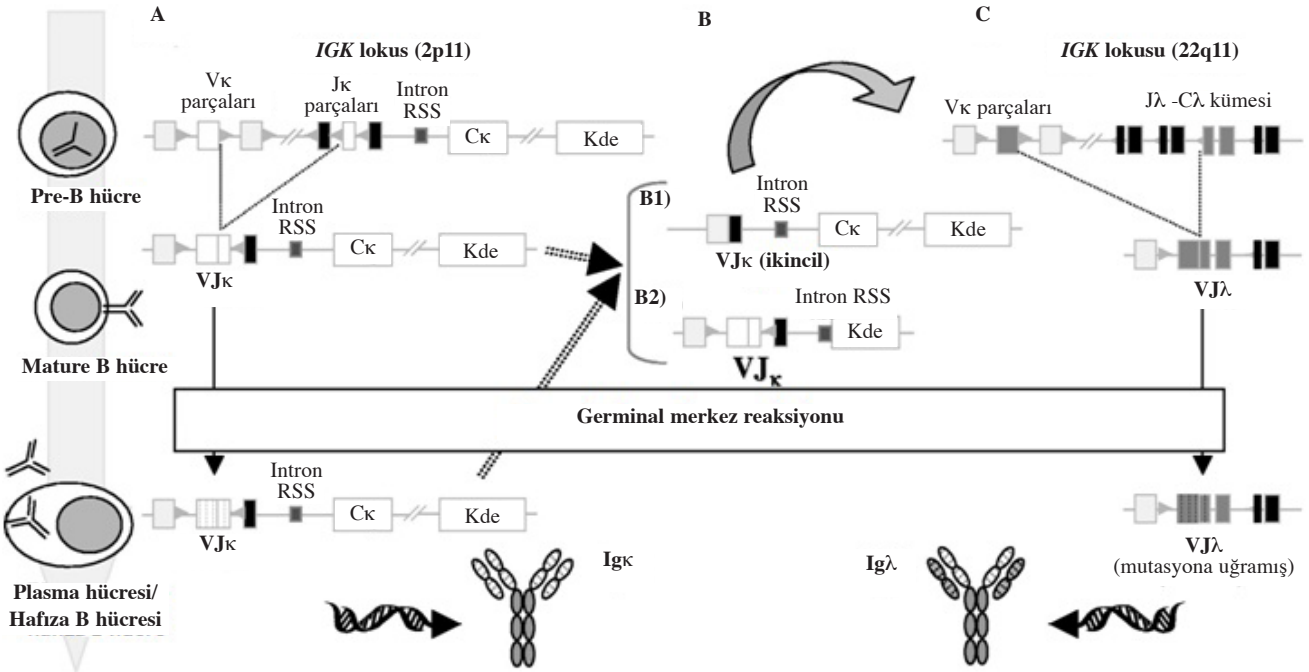
B lenfositlerinin olgunlaşması, hücre reseptörünün ağır ve hafif zincirlerinde meydana gelen genomun yeniden düzenlenimleri ile reseptör genlerinin fonksiyonel duruma gelmesi ile sağlanır[3]. B hücresi reseptör geninde yer alan ilk ekson bölgesi, fonksiyonel olarak özellik göstermemekte, bu gende yer alan V (değişken), D (çeşitlilik) ve J (birleşim) genlerinin rekombinasyonları ile reseptör fonksiyonel bir özellik kazanmaktadır.[3] Ig hafif zincirinin, kappa (κ) ve lambda (λ) olmak üzere iki tipi bulunmakla beraber, B lenfositleri bu iki tip zincirden, ancak birini eksprese etmektedirler. İnsanda B lenfositlerin yaklaşık %60'ı κ zincirini, %40 oranında λ zincirini eksprese etmektedir[4].

Igκ hafif zincir genlerinin ekspresyonu, DNA bağlanma proteinlerinin promotor ve (özgüllük artırıcı-enhancer) sekansları ile etkileşmesiyle düzenlenmektedir.[5] Kappa hafif zincirde; biri (KE5´) Jκ ile Cκ genleri arasında intronik bölgede, Cκ geninin 3´ ucunda, proksimal (KE3´P) ve distal bölgede (KE3´D) olmak üzere üç "enhancer" bulunmaktadır. Bu üç arttırıcı özgül transkripsiyon faktörlerine bağlanabilen özgül nükleotid motifi taşır. Genellikle yalnızca bir tip Ig hafif zincir geni ekprese edilir.[5] Kappa genleri fonksiyonel olmadığında ise diğer tip hafif zincir olan lambda genleri kodlanmaktadır.[5] Ig Vκ geni ile Ig Jκ genleri arasında oluşan yeniden düzenlenmeler, işlevsel olmayan Vκ-Jκ ürünü üretirlerse bu lokus, kappa silici öğe (Kde)'in yeniden düzenlenmesi, kısmi olarak silinir.[5] İnsan ve farelerde tanımlanmış olan Kde elemneti Ig Cκ genin 3´ bölgesinde lokalize durumdadır.[5] Kde ile gerçekleşen gen yeniden düzenlenmesi en çok Jκ-Cκ intron bölgede yer alan RSS bölgesi üzerinden gerçekleşmektedir.[6] KREC, κ hafif zincir gen yeniden düzenlenmeleri sonucunda DNA'dan ayrılarak dairesel yapıda ekstra kromozomun DNA segmenti olarak sentez edilen bir yapıdır.[6] Şekil 1'de KREC oluşumunun moleküler mekanizmasının şematize edilmiş hâli bulunmaktadır.

Hücrede, pre B aşamasında IgH zincir gen yeniden düzenlenmeleri tamamlandıktan ve bir mü (μ) ağır zincir üretiminden sonra, Igκ lokusunda Vκ ve Jκ segmentleri arasında yeniden gen düzenlenmesi ile hafif zincir üretimi gerçekleşir.[7,8] Eğer hücrede bu gen yeniden düzenlenmeleri başarılı bir şekilde tamamlanırsa hücre germinal merkeze girerek somatik hipermutasyona uğrar ve sonuçta Igκ tipi hafif zinciri bulunan hafıza veya plazma hücreleri meydana gelmiş olur (Şekil 2a).[9,10] Ancak, pre-B aşamasındaki hücrede, Igκ lokusunda gerçekleşen bu gen yeniden düzenlenmeleri fonksiyonel bir κ zinciri oluşturmazsa, hücre germinal merkeze girmeden önce her iki Igκ allelinde ilave gen yeniden düzenlenmesi gerçekleşir.[10,11] Bu aşamada, hücrede ilk 5'Vκ ve 3'J kısımlarında başarısız



Şekil 1. KREC oluşumunun moleküler mekanizması (vanZelm ve ark. alıntılanmıştır).[6]



Şekil 2. B hücresi gelişimi boyunca Igκ (kappa) ve Igλ (lambda) zincirleri oluşumunun şematik gösterimi (Gonzalez ve ark. alıntılanmıştır).[7]

bir düzenlenme olursa, ikinci bir VJκ gen düzenlenmesi gerçekleşir ve fonksiyonel yeni bir hafif zincir meydana getirilir (Şekil 2b).[7]

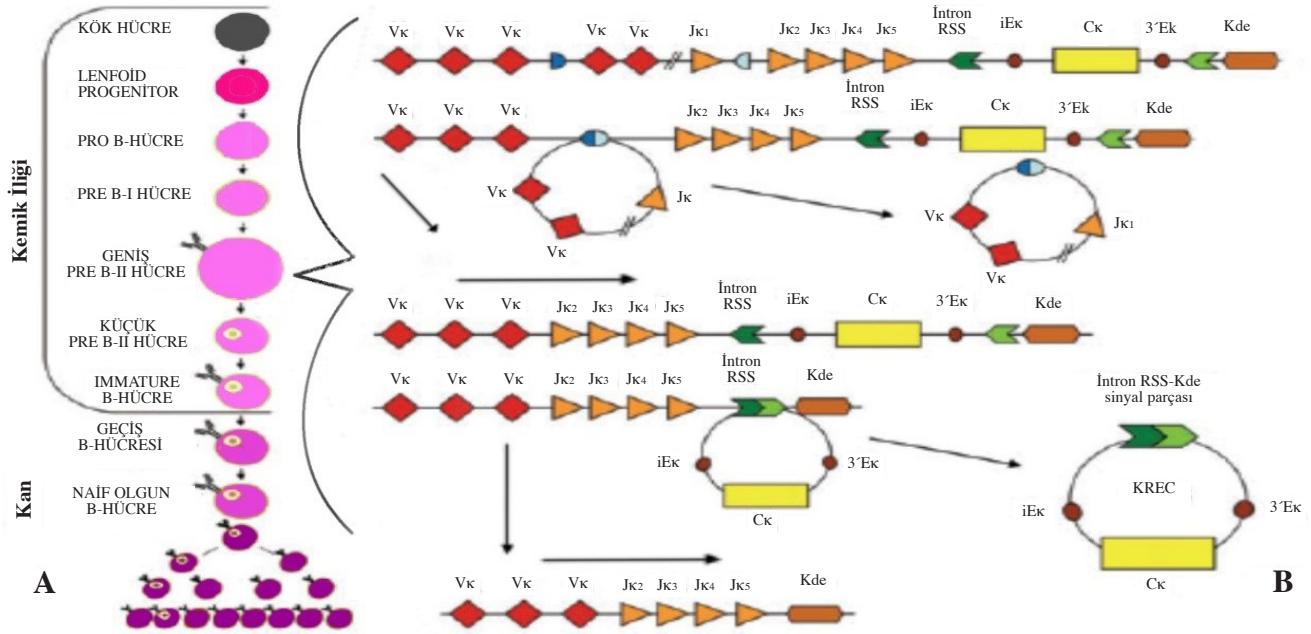
Şekil 2c'de görüldüğü gibi, alternatif olarak Kde bölgesinin, Jκ-Cκ intron bölgesine yeniden düzenlenme yapması ile Cκ ekson ve "enhancer" bölgelerin silinip çıkarılmasıyla Igκ lokusu işlevsiz hâle gelir. Bu tür silinmelere normalde Igλ lokusunun B hücrelerini apoptozdan kurtarmak için yeniden düzenlenmesi eşlik eder.[7] Bu şekilde hayatta kalan hücre germinal merkeze girer ve normal B hücresinin olgunlaşma süreci devam etmiş olur.[7] Bu kısmi silinme sonucunda Vκ-Jκ kodlama parçası olarak genomda stabil kalırken, KREC bir sinyal parçası ("signal joint") olarak çift iplikli dairesel bir DNA olup, genomdan ayrılarak kararlı bir yapı gösterir.[6] κ gen yeniden düzenlenmesi genel bir durumdur. Bu tekrar düzenlenme, Igκ tipi hafif zincir taşıyanların %30'unda, Igλ hafif zincir taşıyan nerdeyse tüm olgun B lenfositlerde gerçekleşmekte, ancak meydana gelen bu gen yeniden düzenlenmesi antijen özgüllüğünü etkilememektedir.[6]

RSS intron-κ'da yeniden düzenleme geçirmiş bir B lenfosit hücresi ikiye bölündüğünde meydana gelen yavru hücrelerin ikisinde, genomdaki RSS intron-κ'da kodlama parçası bulunurken, sinyal parçası olan epizomal KREC kendini eşlemediğinden, yavru hücrelerin ancak birinde bulunur.[12] Bu durumda KREC, her hücre bölünmesinde iki kat yarılanarak yeni hücrelere aktarılır. Böylece sinyal parçası ve kodlama parçalarının artmış baz sayısı üzerinden, B lenfositlerinin bölünme sayısı elde edilebilir. Dolayısı ile oluşan KREC parçası; geçiş tipi B hücrelerinin değil, olgun B hücrelerinin hemostatik proliferasyonunu göstermektedir.[6] Kendini eşleyemeyen ve yeni hücrelere azalarak aktarılan bu sinyal parçası, hücre öldüğünde ortadan kaybolur.[13]

RSS intron-κ'da yeniden düzenlenmesi, pre-B hücrelerde kemik iliğindeyken başlaması, periferdeki B lenfositlerinde RAG geni transkripsiyon seviyesinin ve Jκ gen segmentinde çift iplikçikli kırılmaların düşük olması, reseptör revizyonunun kemik iliğinde başlatıldığı görüşünü desteklemektedir.[14] Eğer RSS intron-κ'da yeniden düzenlenmeleri, periferik B lenfositlerindeki reseptör düzenlenmesinden kaynaklıysa, hücre bölünmesi sayısı ile hesaplanan KREC ölçümlerinin çok az olması gerekmektedir. B lenfositlerinin yalnızca %10'u olgunlaşma potansiyeli göstererek kemik iliğinden ayrılır.[15] Perifere çıkan hücreler, antijenle karşılarak veya T lenfositleri aracılığı ile aktive olmazlarsa bir süre sonra ölürler.[16] Ancak, bir kez aktifleşen B lenfositleri proliferasyon göstererek, plazma hücrelerine kadar farklılaşabilir.[16] B lenfositlerin gelişim evrelerinin ve KREC meydana gelmesi Şekil 3'te gösterilmiştir.

KREC DÜZEYİNİN BELİRLEMENİN ÖNEMİ

B lenfositlerinin çok farklı çeşitlilikteki antijenlere karşı immün sistemi korumada göstermiş oldukları özgül yanıtının sonucunda KREC düzeyinin ortaya çıkıyor olması, özellikle immün yetmezliği olan hastalarda erken immün yanıt göstergesi olarak KREC seviyesinin belirlenmesi için önem taşımaktadır.[1] Tedavide başvurulan HSC transplantasyonu sonrasında, uzunca bir süre immün sistemin



Şekil 3. B hücresinin farklılaşma basamaklarında KREC oluşumunun şematik gösterimi (Chiarini ve ark. alıntılanmıştır).[9] **A.** Progenitör B hücrelerinden (pro-B hücreleri), en erken ayırt edici B-soy hücreleri olan hücrelere farklılaşması. **B.** Kök hücreden plazma hücresi evrelerine ve Ig V (D) J yeniden düzenlemesi yolu ile B hücresinin farklılaşması.

etkinliği görülmemekte, sıvısal bağışıklığın etkinliği B hücrelerinin gelişimi ile takip edilmektedir.[1] Nakledilen dokunun yeni konağa uyumunu sağlayacak uygulamalara başvurulması, otolog B lenfositlerinin uzun süre baskılanmasına neden olmakta, bu da uzun süreli Ig replasmanı tedavisini gerekli kılmaktadır.[17] Kök hücresi transplantasyonundan sonra nakledilen dokunun olgun B hücreleri, artık alıcının olgun B hücrelerinden köken alarak bölünmeye devam etmektedir.[18] Sonuç olarak, nakil yapılan hastalarda farklı B lenfositi kaynağı bulunması, sıvısal immünitenin takibini zorlaştırmaktadır.[2] B lenfositlerinin yeniden üretilmesinin izlenebilirliği ve yeni üretilen B lenfositlerinin mevcut B lenfositlerinden ayırt edilebilmesi, kök hücresi nakli yapılmış hastaların takibinde oldukça önemlidir.[2] Kemik iliğinden B hücrelerinin çıkışını göstermede kullanılan KREC'ler periferdeki olgun ve prolifere olmuş B hücrelerine bölünerek geçer.[2] B hücrelerinin yenilenmesi ile KREC seviyesindeki artış arasında orantı vardır.[2] Oldukça kararlı bir yapı gösteren KREC'ler periferik kanda belirlenebilir bir sürede kalır ve bu kararlılığını korumaya devam eder. Gen kodlama parçası ile sinyal parçası arasındaki oran, B lenfositi alt tiplerinin bölünme durumunu ve B hücresi neogenezini yansıtmaktadır.[14]

T Hücresi Reseptörü Alfa Sabit Zinciri

KREC düzeyinin araştırıldığı çalışmaların hemen hepsinde kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu metodunda kontrol geni olarak, T Hücresi Reseptörü Alfa Sabiti (T cell receptor alpha constant - TCRAC) kullanılmaktadır.[1-7,12-14,16,19] T hücresi reseptörleri (THR), Ig sentezinde ve B hücresi aracılığıyla major doku uyumu kompleksine (MHC) bağımlı antijen tanınmasında oldukça önemlidir.[20] T hücresi reseptörlerinin büyük bir kısmı alfa (α) ve beta (β) dimerlerinden oluşurken, bazı T hücreleri gama (γ) ve delta (δ) zinciri içermektedir.[21] T hücresi reseptörü γ zinciri, α gen lokusunda yer almakta, her THR gen lokusu da V ve J gen parçası içermektedir. Ayrıca Ig gen lokusunda olduğu gibi β ve δ bölgelerinde D parçası bulunur. TCR'in α ve γ zincirindeki V zinciri, V ve J eksonları ile kodlanırken, β ve δ proteinlerindeki V zinciri, V, D ve J gen parçaları aracılığı ile kodlanırlar.[22] T hücresinin reseptör oluşumu da immünoglobülin genlerindeki V(D)J gen yeniden düzenlenmesindeki gibi meydana gelmektedir.[22] T reseptörü α lokusunun gen yeniden düzenlenmesinden önce δ lokusu DNA rekombinasyonu ile çıkartılır.[23,24] Bu rekombinasyonlar arasında yer alan ve T hücrelerinin %70'inde gerçekleşen δRecψJα rekombinasyonu, kodlama ve sinyal parçalarının oluşmasına yol açar.[20] TREC kendini eşlemezken, kodlama parçası kendini eşleyerek yeni oluşan hücrelere aktarılır.[24] TCRAC'in her hücrede iki kopyası bulunduğundan yapılan moleküler çalışmalarda elde edilen kantitatif sonuçlar ikiye bölünerek değerlendirilmektedir.[1,2,25,26]

Doku ve Organ Transplantasyonlarında KREC Ölçümünün Önemi

Tüm solid organ ve HSC nakillerinde düşük oranda sağ kalım ile nakil öncesi vericiye özgü antikorlar veya de-novo nakil sonrası antikor üretiminin varlığı korelasyon göstermektedir.[27-29] Antikor üretimi ve kompleman aktivasyonu ile karakterize edilen sıvısal yanıtta doku reddi gelişebilmekte, nakil yapılan alıcıda insan lökosit antijenlerine (Human leucocyte antigen - HLA) karşı antikorlarının varlığı yalnızca kısa dönemde değil, kronik doku reddinde de etkili olmaktadır. Olgun B lenfositlerinin yalnızca antikor salgılayan hücreler olarak değil, önceden somatik hiper mutasyon geçiren ve daha yüksek afinite ile antikor sağlayan, T lenfositleri ile etkileşime giren antijen sunan hücreler olarak da rolleri bulunmaktadır.[30] Bu antikorlar direkt akut sıvısal reddi etkinleştirebildikleri gibi, alloreaktif T lenfositi aktivasyonunu da geliştirerek akut hücresel redde neden olabilirler.[31] Ayrıca alloreaktif bellek B hücrelerinin ve alloantikorların toleranslarının zayıflatılması, anti-CD154 (CD40L) uygulanan modellerde başarılı olmuştur.[32] Bununla birlikte, tolerans gösteren modellerde B lenfositlerinin zıt işlevleri de gösterilmiştir. Alloantijen varlığında vericiye özgü sıvısal toleransı teşvik etmek için, monoklonal antikor ile B lenfositlerin tüketilmesinin önerildiği çalışmalar bulunmaktadır.[27,33]

Bazı Avrupa ülkelerinde yenidoğan tarama testleri arasında KREC ölçümünün yer alması için pilot çalışmalar yapılmakta, KREC sayısı klinikte, immün yetmezliği bulunan yeni doğanlarda lenfopeniyi belirleyerek hastalıkların karakterize edilmesinde de kullanılmaktadır.[18,34] İmmün yetmezliğin bir tipi olan adenozin deaminaz eksikliği olan çocuk hastalarda, HIV pozitif olup, anti retroviral tedavi gören yetişkenlerde, immün sistemin gelişiminde KREC düzeyi belirleyici olmaktadır.[19,29] Bu çalışmalar, transplantasyon hastalarında, tedavi öncesi ve sonrasında saptanacak KREC miktarının, immün sistemin yerleşmesinin bir göstergesi olarak klinik değerlendirmelerde kullanılabileceğini göstermektedir.

Daha çok immün yetmezliği bulunan hastaların takibinde başvurulan KREC analizi ile ilgili çalışmaların çoğunda, hastaların uzun süreli takiplerinin yapıldığı görülmüştür. Farklı tipte immün yetmezliği bulunan ve HSC transplantı olan 10 çocuk hasta ile yapılan bir çalışmada, hastalar 12-79 ay arasında takip edilmiştir.[1] KREC düzeyi gerçek zamanlı PCR ile analiz edilen çalışmada immün yetmezlik tipleri ile KREC düzeyleri arasında farklılıklar bulunmuştur.[1] Nakil sonrası immün yetmezliğin çoğu tipinde bir kaç ay sonra T ve B hücreleri belirlenirken, primer immün yetmezlik (PIY) grubunda yer alan hastalarda immün hücreler 75 ay sonra gösterilmiştir.[1] HSC nakli yapılmış 15 yetişkin hasta ile yapılan bir başka çalışmada ise hastalar, nakil sonrası 15-180. günlerine kadar takip edilmiş, kan örneklerinde KREC analizi yapılmıştır.[2] Bu hastalarda B hücresi alt tip paneli eşzamanlı olarak akan hücre ölçer ile çalışılmış, nakil öncesi mililitre kandaki KREC kopya sayısı, sağlıklı kontrole göre çok düşük bulunurken, nakil sonrası 60. günde artmaya başlamış ve bu değerin 180. günde nakil öncesinin 5 katına kadar çıktığı gösterilmiştir.[2] Bu iki çalışmada da TCRAC kontrol gen olarak değerlendirilmiş ve plazmid DNA'sı tekniği kullanılarak standart gen örnekleri hazırlanmıştır.[1,2] Daha önce yapılan çalışmamızda, akciğer transplantasyonu yapılan 11 hastada KREC düzeyi araştırılmış, gerçek zamanlı ile TCRAC geni kontrol gen olarak kullanılırken, standart gen örnekleri plasmid DNA ile değil 0-3 yaş arası sağlıklı çocukların periferik kanından elde edilen KREC genlerinin standart dilusyonları hazırlanarak elde edilmiştir.[35] Böylece benzer çalışmalar arasında validasyon aşamaları da yapılarak plazmid DNA'sına alternatif olacak standart genler elde edilebilmiştir.[35] Nakil hastalarına uygulanan immün sistemi baskılayıcı tedavilerin B hücresi üretimi üzerinde etkisi olduğu[36] göz önünde bulundurulduğunda nakil hastalarında erken immün yanıtın gösterilmesinde KREC analizinin daha uzun süreli takiplerle kontrol edilmesi gerektiği görülmektedir.

RAG-2 eksikliğine bağlı ağır birleşik immün yetmezliği olan çocuk hastalar ile yapılan bir çalışmada, doku uygunluğu bulunmayan verici kök hücre nakli yapılmış ve sonrasında erken B hücre kinetiği takibinde KREC analizi kullanılmıştır.[14] Çalışmada, hastalar nakil sonrası 6 ay takip edilmiş, belirlenebilir B hücrelerin çoğunun sinyal parçası taşıdığı, bunun da B hücresi neogenezini destekler yönde olduğunu belirtilmiştir.[14] Böylece nakil sonrasında uzun süren intravenöz Ig tedavilerinin daha kısa sürelere çekilebilmesi ve kişiye özgü koruyucu tedavilerin geliştirilmesinin olası olabilabileceği vurgulanmıştır.[14]

Akan hücre ölçerle B hücresi alt tip analizi ile eşzamanlı KREC düzeylerinin de analiz edildiği ve $CD19^{+}IgD^{+}CD27^{-}CD38^{high}$ olan hücreleri geçiş B hücreleri, $IgD^{+}CD27^{-}CD38^{int}$ olanlar uyarılmamış B lenfositleri, $CD27^{+}$ olanları da bellek B hücreleri olarak sınıflandırılan bir çalışmada, 15 yetişkin hematolojik hastalığı bulunan bireyde, HSC nakli sonrasında 15., 30., 60., 90. ve 180. günlerde kan örnekleri alınarak B lenfositi alt tipleri ile KREC düzeyleri karşılaştırılmıştır.[2] Hastalarda genel olarak nakil sonrası B hücrelerinde artış gösterilirken, bellek B hücreleri 30. günde, geçiş B hücreleri 60. günde, uyarılmamış B hücrelerinin 120. güne kadar nakil öncesi değerlerin altında olduğu saptanmıştır.[2] Ancak, nakil öncesi KREC düzeyi sağlıklı kontrole göre çok düşük bulunan bu hastalarda, nakil sonrası KREC düzeyi 60. günde artmaya başlamış ve bu düzeyin 180. günde nakil öncesinin 5 katına kadar çıktığı gösterilmiştir.[2] KREC'deki bu yenilenme, hem uyarılmamış hem de geçiş B hücrelerinin yenilenmesi

ile korelasyonun gösterirken bellek B lenfositlerinde bu korelasyon bulunmadığı vurgulanmaktadır.[2] Farklı tip immün yetmezliği olan çocuk hastalarda akan hücre analiz sonuçları ve moleküler yöntemle elde edilen KREC düzeylerinin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada, B hücresi yüzey belirteci olan ve B hücresi reseptörü ile ilişkili koreseptör olarak bilinen $CD19^+$ hücrelerin irdelenmesine göre lenfositlerin düşme eğiliminde olduğu, KREC düzeylerine göre ise yeni B hücrelerinin üretiminin stabil ve hafif artış gösterdiği belirtilmektedir.[1,37] 2003-2014 yılları arasında immün yetmezlik tanısı almış toplam 246 hasta ve 40 sağlıklı kontrol grubunda yapılan bir çalışmada ise, lenfosit alt tipleri KREC düzeyleri ile karşılaştırıldığında, hem uyarılmamış B hücresi ($CD19^+CD27^-$) sayısı hem de hafıza hücresi ($CD19^+CD27^+$) sayısı ile pozitif bir korelasyon belirlenmiştir.[38] KREC ölçümünün DiGeorge sendromlu yenidoğan hastaların teşhis edilmesi ve izlenmesinde kullanıldığı bir çalışmada, periferik kanda KREC kopya sayısı, hem doğumda hem de sonrasında normal seviyede belirlenmiş, ancak ilerleyen yaşlarda KREC seviyesinin azaldığı belirlenmiştir.[39] Farklı yaş grubunda primer immün yetmezlik tanısı bulunan 12 hastada KREC seviyesinin araştırıldığı bir çalışmada ise, gerçek zamanlı PZR ile elde edilen KREC seviyesinin, primer immün yetmezlik hastalıklarının tanısında kullanılmasının uygun olacağı belirtilmiştir.[24]

Sıvısal ve hücresel immün yanıttaki defektlere bağlı olarak, kemik iliği, lenf nodları, dalak gibi organlarda immünoglobülin ağır zinciri mutasyonlarının neden olduğu ve B lenfositlerinin birikimi ile karakterize edilen kronik lenfositik lösemi (KLL) hastalarda immünitenin sürdürülebilmesi için yeni türetilmiş T ve B lenfositlerinin kaynağına gereksinim duyulmaktadır.[12] KREC birden fazla bölünme geçirmiş hücrelerde bulanamayacağı için normal ve lösemili hasta ayrımına gidilmeden, hiç tedavi görmemiş erken dönemdeki hasta ve kontrol grubundan oluşturulmuş bir çalışmada, periferik kan mononükleer hücre başına düşen KREC sayısının hasta grubunda kontrole göre düşük bulunmasının, lösemili hücrelerin genişlemesi, normal B hücrelerindeki azalma ile ilgili olduğu, mililitre kandaki KREC sayısında belirlenen düşüşün de yeni üretilen B hücrelerin kontrole göre gerçek bir düşüş olduğunun kanıtı olarak değerlendirilmiştir.[12] KLL hastalarındaki lenfosit hücrelerindeki artış oranı ile KREC seviyeleri karşılaştırıldığında bir korelasyon bulunmamıştır.[12]

Bu çalışmalar sonucunda, KREC düzeyinin takip edilmesiyle kemik iliğinden dolaşıma geçen B hücrelerinin takibinin yapılabileceği ve KREC düzeylerinin, lenfosit alt tiplerinin belirlenmesine göre daha etkili olabileceği vurgulanmaktadır.[1,2]

Sonuç

Özellikle immün yetmezlik hastalıklarını araştırmada, en çok da hematopoietik kök hücre ve organ nakilleri sonrası immün sistemin gelişimini gösterebilmek ve izlemek amacıyla başvurulan KREC analizi, B hücresi kinetiğinde önemli bir araç olmaktadır.

Daha erken saptanabilir oluşu, lenfosit alt tiplerinin sayısına göre daha erken monitorize edilebilirliği, özellikle klinikte nakil hastalarının erken immün dönemdeki takip ve tedavi planında KREC seviyesinin analizinin daha etkin olabileceği son dönemlerde yapılan çalışmalar ile gösterilmektedir.

Çıkar Çatışması: Yok
Finansal Destek: Yok

Conflicts of Interest: None
Funding Information: None

Kaynaklar

1. Sottini A, Ghidini C, Zanotti C, ve ark. Simultaneous quantification of recentt hymic T-cell and bone marrow B-cell emigrants in patient with primary immunodeficiency undergone to stem cell transplantation. Clin Immunol 2010;136:217-27. **[CrossRef]**
2. Mensen A, Ochs C, Stroux A, ve ark. Utilization of TREC and KREC quantification for the monitoring of early T- and B-cell neogenesis in adult patients after allogenic hematopoietic stemcellt ransplantation. J Transl Med 2013;11(188):1-9. **[CrossRef]**
3. Serana F, Chiarini F, Zanotti C ve ark. Use of V(D)J recombination excision circles to identify T and B cell defects and to monitor the treatment in primary and acquired immunodeficiencies. J Trans Med. 2013;11(119):1-11. **[CrossRef]**
4. Bräuninger A, Goossens T, Rajewsky K ve ark. Regulation of immünoglobulin light chain gene rearrangements during early B cell development in the human. Eur. J. Immunol 2001;31:3631-7. **[CrossRef]**
5. Dasa S, Nikolaidis N ve Nei M. Genomic organization and evolution of immünoglobulin kappa gene enhancers and kappa deleting element in mammals. Mol Immunol 2009;46(15):3171-7. **[CrossRef]**
6. vanZelm CM, Szczepanski T, Hazend Burg M ve ark. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B cell expansion. J Exp Med 2007;204(3):645-55. **[CrossRef]**
7. Gonzalez D, van der Burg M, Garcıa-Sanz R ve ark. Immünoglobulin gene rearrangements and the pathogenesis of multiplemyeloma. Blood 2007;110:3112-312. **[CrossRef]**
8. Alt FW, Yancopoulos GD, Blackwell TK ve ark. Ordered rearrangement of immünoglobulin heavy chain variable region segments. EMBO J. 1984;3:1209-19. **[CrossRef]**

9. Tonegawa S. Somatic generation of antibody diversity. Nature. 1983;302:575-81. **[CrossRef]**

10. Pan PY, Lieber MR, Teale JM. The role of recombination signal sequences in the preferential joining by deletion in DH-JH recombination and in the ordered rearrangement of the IgH locus. Int Immunol. 1997;9:515-22. **[CrossRef]**

11. van Zelm MC, van der Burg M, de Ridder D ve ark. Ig gene rearrangement steps are initiated in early human precursor B cell subsets and correlate with specific transcription factor expression. J Immunol. 2005;175:5912-22. **[CrossRef]**

12. Motta M, Chiarini M, Ghidini C, ve ark. Quantification of newly produced B and T lymphocytes in untreated chronic lymphocytic leukemia patients. J Transl Med. 2010;8:1-7. **[CrossRef]**

13. Chiarini M, Zanotti C, Serana F ve ark. T-cell receptor and K-deleting recombination excision circles in newborn screening of T- and B-cell defects: review of the literatüre and future challenges. Journal of Public Health Research 2013;2(e3):9-16. **[CrossRef]**

14. Lev A, Simon JA, Bareket M ve ark. The kinetics of Early T and B cell immune recovery after bone marrow transplantation in RAG-2-Deficient SCID patients. PLoS ONE [serial online] 2012; 7:1-12. Erişim 03.05.2018, **[CrossRef]**

15. Beishuizen A, de Bruijn MAC, Pongers-Willemse MJ ve ark. Heterogeneity in junctional regions of immünoglobulin kappa deleting element rearrangements in B cell leukemias: a new molecular target for detection of minimal residual disease. Leukemia 1997;11:2200-7. **[CrossRef]**

16. Storek J, Geddes M, Khan F ve ark. Reconstitution of the immune system after hematopoietic stem cell transplantation in humans. Semin Immunopathol. 2008;30:425-37. **[CrossRef]**

17. Bemark M, Holmqvist J, Abrahamsson J ve ark. Translational mini-review series on B cell subsets in disease. Reconstitution after haematopoietic stem cell transplantation - revelation of B cell developmental pathways and lineage phenotypes. Clin Exp Immunol. 2012;167:15-25. **[CrossRef]**

18. Barbaro M, Ohlsson A, Borte S ve ark. Newborn Screening for Severe Primary Immunodeficiency Diseases in Sweden-a 2-Year Pilot TREC and KREC Screening Study. J Clin Immunol 2017;37(1):51-60. **[CrossRef]**

19. Quiros-Roldan E, Serana F, Chiarini M ve ark. Effects of combined antiretroviral therapy on B- and T-cell release from production sites in long-term treated HIV-1+patients. J Transl Med. 2012;10(94):1-11. **[CrossRef]**

20. Hazenberg MD, Verschuren Dörte Hamann MCM, van Dongen JJM. T cell receptor excision circles as markers for recent thymic emigrants: basic aspects, technical approach, and guidelines for interpretation. Mol Med. 2001;79:631-40. **[CrossRef]**

21. Li R, Xue C, Li C ve ark. TRAC variants associate with IgA nephropathy. J Am Soc Nephrol. 2009;20:1359-67. **[CrossRef]**

22. Abbas KA, Lichtman HA, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. USA: Elsevier; 2012.

23. van der Weerd K, Dik WA, Schrijver B ve ark. Combined TCRG and TCRA TREC analysis reveals increased peripheral T-lymphocyte but constant intra-thymic proliferative history upon ageing. Molecular Immunology 2013;53:302-12. **[CrossRef]**

24. Hazenberg MD, Borghans JAM, de Boer RJ ve ark. Thymic output: a bad TREC record. Nature Immunology 2003;4(2):97-99. **[CrossRef]**

25. Shih YH and Krangel SM. Chromatin architecture, CCCTC-Binding Factor, and V(D)J Recombination: Managing long-distance relationships at antigen receptor loci. The Journal of Immunology 2013;190:4915-21. **[CrossRef]**

26. Serana F, Sottini A, Chiarini M, ve ark. The different extent of B and T cell immune reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation and enzyme replacement therapies in SCID patients with adenosine deaminase deficiency. J Immunol 2010;5:1-10.

27. Segundo SD, Lopez-Hoyos M, ve Arias M. Regulatory B-Cell in transplantation. Antibodies 2013;2:587-97. **[CrossRef]**

28. Fidler SJ, Irish AB, Lim W ve ark. Pre-transplant donor specific anti-hla antibody is associated with antibody-mediated rejection, progressive graft dysfunction and patient death. Transpl. Immunol. 2013;28:148-53. **[CrossRef]**

29. Lobo LJ, Aris RM, Schmitz J ve ark. Donor-specific antibodies are associated with antibody-mediated rejection, acute cellular rejection, bronchiolitis obliterans syndrome, and cystic fibrosis after lung transplantation. J. Heart Lung Transplant. 2013;32:70-7. **[CrossRef]**

30. Patel R, Terasaki PI. Significance of the Positive Crossmatch Test in Kidney Transplantation. N Engl J Med. 1969;280:735-9. **[CrossRef]**

31. Burns AM, Chong AS. Alloantibodies Prevent the Induction of Transplantation Tolerance by Enhancing Alloreactive T Cell Priming J Immunol. 2011;186:214-21. **[CrossRef]**

32. Burns AM, Ma L, Li Y ve ark. Memory Alloreactive B Cells and Alloantibodies Prevent anti-CD154-Mediated Allograft Acceptance. J. Immunol. 2009;182:1314-24. **[CrossRef]**

33. Deng S, Moore DJ, Huang X ve ark. Cutting edge: Transplant Tolerance Induced by anti-CD45RB Requires B Lymphocytes. J. Immunol. 2007;178:6028-32. **[CrossRef]**

34. Olbricha P, Felipea B, Delgado-Pecellin C ve ark. A first pilot study on the neonatal screening of primary immunodeficiencies in Spain: TRECS and KRECS identify severe T- and B-cell lymphopaenia. An Pediatr (Barc) 2014;81(5):310-7. **[CrossRef]**

35. Akbulut Z. (2017). Akciğer transplantasyonu olgularında erken immün iyileşme döneminde B hücre kinetiğinin, KREC (Kappa Deleting Recombination Excision Circle) düzeyi ile izlenmesi (Doktora Tezi). Erişim adresi Ulusal Tez Merkezi Turkiye Ankara (464120).

36. Bhorade MS ve Stern E. Immunosuppression for lung transplantation. Proc Am Thorac Soc 2009;6:47-53. **[CrossRef]**

37. Carsetti R. The development of B Cells in the bone marrow is controlled by the balance between cell-autonomous mechanisms and signals from the microenvironment. J Exp

Med. 2000;191(1):5-8. **[CrossRef]**

38. Lee IW, Huang LJ, Lin JS ve ark. Applying T-cell receptor excision circle and immünoglobulin κ- deleting recombination excision circles to patients with primary immunodeficiency diseases. Ann Med, 2014;46(7):555-65. **[CrossRef]**

39. Fronkova E, Klockperk A, Novakova M ve ark. The TREC/KREC Assay for the diagnosis and monitoring of patients with DiGeorge Syndrome. PlosOne 2014;9(12):1-13. **[CrossRef]**

40. Kwok SYJ, Cheung KFS, Ho CYJ ve ark. Establishing simultaneous T Cell Receptor Excision Circles (TREC) and K-Deleting Recombination Excision Circles (KREC) quantification assays and laboratory reference intervals in healthy individuals of different age groups in Hong Kong. Front Immunol 2020;11(1411):1-12. **[CrossRef]**