

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**MEME KANSERLERİNDE HLA
ANTİJENLERİNİN DAĞILIMI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Barış BAYRAKTAR

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. B.Berat APAYDIN

İSTANBUL

2008

ÖNSÖZ

Gelişmiş ülkelerde, kadınlarda kanserden ölümlerin en sık sebebi meme kanseridir. Yapılan çalışmalarda genetik ve ailesel faktörlerin meme kanseri gelişmesinde önemli rol oynadığı saptanmıştır.

Meme kanserinin erken tanısı ve tedavisi için tümör spesifik markırlar araştırılmış, tümör immunoterapi çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmada daha önce çeşitli hastalıkların ve kanser türlerinin gelişmesinde rolü olabileceği düşünülen İnsan Lökosit Antijeni'nin (HLA) meme kanseri ile ilişkisi incelendi.

Cerrahi eğitimimde emeği geçen, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ertuğrul Göksoy, geçen dönem başkanımız Prof. Dr. Ümit Balcısoy, tez danışmanım Prof. Dr. B.Berat Apaydın olmak üzere tüm öğretim üyelerine, tezimin hazırlanmasında yardımcı olan Kan Merkezi Transplantasyon Ünitesi sorumlusu Uzm. Dr. Erkan Yılmaz'a ve tüm asistan arkadaşlarıma şükranlarımı sunarım.

Dr. Barış BAYRAKTAR

İÇİNDEKİLER

ÖZ	1
ABSTRACT	2
GENEL BİLGİLER	3
Major Doku Uyuşum Kompleksi (MHC)	5
HLA Antijen Sistemi	7
Meme Kanserinde Genetik Faktörler	12
HLA İle Çeşitli Hastalıklar Arasındaki İlişkiler	15
HLA İle Çeşitli Kanser Türleri Arasındaki İlişkiler	18
GEREÇ VE YÖNTEM	21
BULGULAR	24
TARTIŞMA	27
SONUÇ	32
KAYNAKLAR	33

ÖZ

Giriş

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Genetik yatkınlık, çevresel faktörler, hormonlar ve hatta infeksiyöz ajanların etkileşimi ile meme kanserinin oluştuğu düşünülmektedir. Meme kanseri oluşumuna katkısı olan ya da koruyucu rol oynayan faktörler arasında genetik yatkınlık başlıca araştırma konusu olmaktadır. Çeşitli tümör spesifik markerların araştırılması meme kanserinin erken tanı ve tedavisinde kritik rol oynayacaktır.

Amaç

Çalışmanın amacı, vücudun tümör yanıtında ve immunitede önemli rol oynayan molekül olan Human Leukocyte Antigen(HLA) allellerinin, meme kanseri ile ilişkisini araştırmaktır.

Gereç- Yöntem

Meme kanseri tanılı 22 kadın hasta seçildi. Kontrol grubu olarak aralarında akrabalık bağı olmayan, renal transplantasyon adayı 22 sağlıklı kadın çalışmaya alındı. Kanlar 5 cc'lik EDTA'lı tüpler ile toplandıktan sonra, GenoVision Olerup SSP(Olerup SSP, Stockholm, Sweden) kiti kullanarak, SSP yöntemi ile ve HLA A, B ve DR gruplarına bakıldı.

Bulgular

Hasta ve kontrol grubunda HLA A geninin 17 alleli, B geninin 22 alleli, DR geninin 14 alleli olmak üzere toplam 53 allel tespit edildi. Bu allellerden HLA DR18 ve HLA B22 ile meme kanseri gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı($p < 0.05$). HLA B13 antijeni ise sadece kontrol grubunda bulundu.

Sonuç

Çalışmada kontrol grubunda bulunan, istatistiksel olarak anlamlı olan ($p < 0,05$) HLA B13 antijeninin meme kanseri için koruyucu olabileceğini düşünüldü. HLA DR18 ve HLA B22 antijenlerini ise yalnızca hasta gruplarında saptandı ve meme kanseri için risk oluşturabileceği kanısına varıldı. Daha önce yapılmış çalışmalarda tespit edilen, meme kanseri ile anlamlı ilişkisi olan allelleri değerlendirme ve risk gruplarını belirleme amaçlı çalışmaların devam etmesi gerekmektedir.

ABSTRACT

Introduction

Breast cancer is the most frequent cancer diagnosed in women. It is thought to be related with presence of genetic predisposition, extrinsic and hormonal factors and also infectious agents. Genetic predisposition is the main subject for researching protective or predisposing factors of breast cancer. Searching specific tumor markers will have critical role for early diagnosis and treatment of breast cancer.

Purpose

The purpose of this study is to evaluate the relationship between breast cancer and Human Leucocyte Antigen (HLA) alleles, which has an important role for immunity and tumor response of the body.

Methods

Twenty-two women with breast cancer who were hospitalized for surgical intervention were selected. Twenty – two women who have no relationship and were candidates for renal transplantation were selected for control group. After taking blood in 5cc tubes with EDTA, HLA A, B and DR groups were evaluated with SSP method by using GenoVision Olerup SSP(Olerup SSP, Stockholm, Sweden) kits.

Results

Fiftythree alleles; 17 of HLA A, 22 of B, 14 of DR gene were determined in both patient and control group. Statistically revealing correlation was determined between breast cancer evolution and HLA DR18 and HLA B22 alleles ($p < 0.05$). HLA B13 antigen was determined only in control group.

Conclusion

In this study, we thought that HLA B13 allele, statistically revealing ($p < 0.05$) and determined in only control group might be protective from breast cancer. We determined HLA DR18 and HLA B22 antigens only in patient group and thought that they might be responsible for increasing the chance of breast cancer developing. Our opinion is that the studies for detecting risk groups and evaluating the alleles which were determined to have significant relation with breast cancer in prior studies, should continue.

GENEL BİLGİLER

Kanser, gelişmiş ülkelerde ciddi bir halk sağlığı problemidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün verilerine göre, 2000 yılında tüm dünyada olan elli altı milyon ölümün %12'si tanımlanmış malign tümörlere bağlıdır. 5.300.000 erkekte ve 4.700.000 kadında malign tümör gelişmiş ve 6.200.000 kişi hastalık sonucu ölmüştür(1).

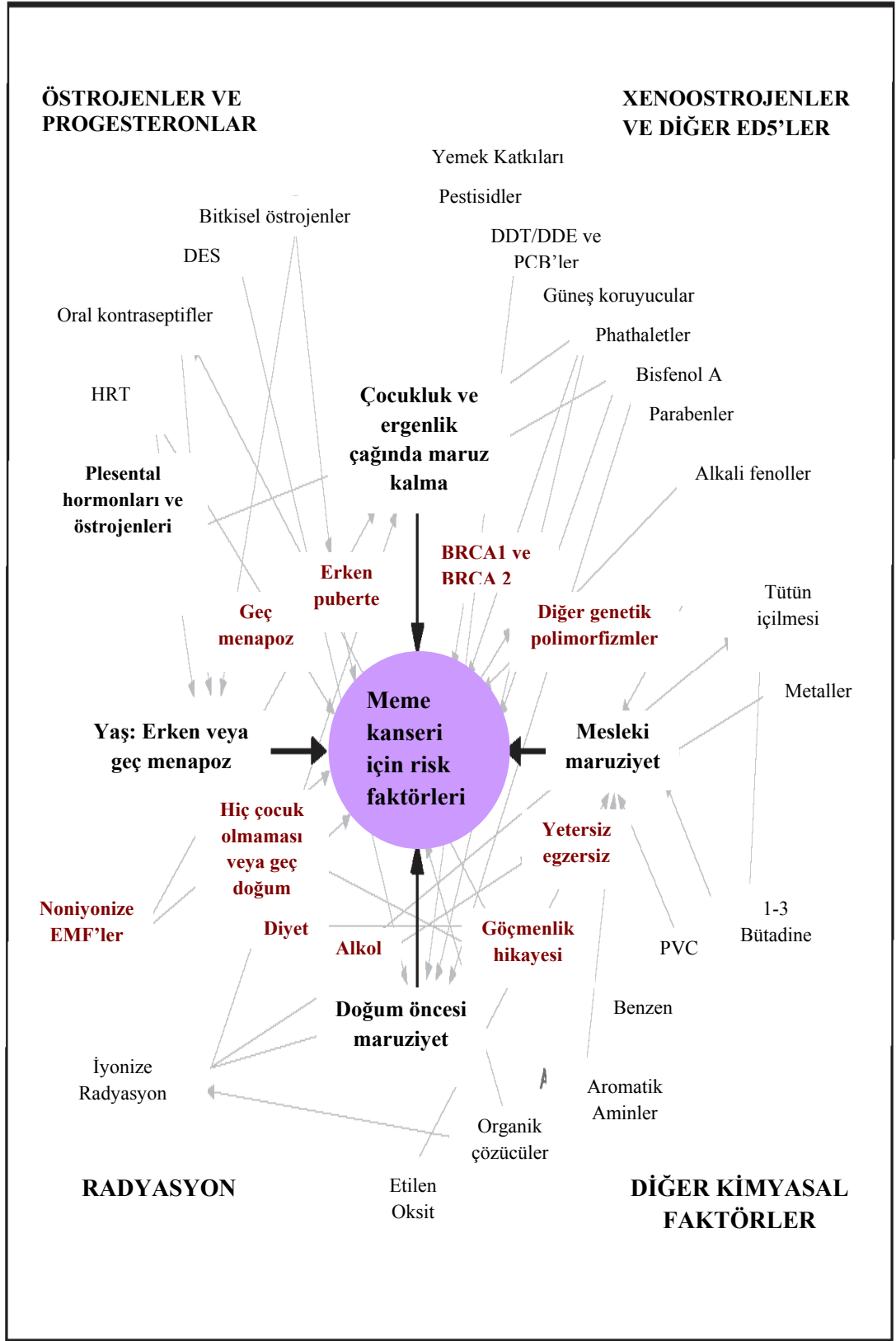
2002 yılı verilerinde, meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Kadınlarda kansere bağlı en sık ölüm sebebi; gelişmekte olan ülkelerde serviks kanserinden sonra ikinci sırada meme kanseri olup, gelişmiş ülkelerde ise en sık meme kanseridir(2).

Meme kanserinin patogenezi birçok nedene bağlıdır(Şekil 1). Genetik yatkınlık, çevresel faktörler, hormonlar ve hatta infeksiyöz ajanların etkileşimi ile meme kanserinin oluştuğu düşünülmektedir(3). Bugün için bütün türlerin, Major Histocompatibility Complex (MHC) adı verilen ve T lenfositleri tarafından antijen tanınmasını regüle eden hücre yüzey glikoproteinlerini kodlayan bir gen parçası içerdiği bilinmektedir(3).

Yapılan araştırmalara göre MHC'nin komponenti olan HLA (Human Leukocyte Antigen) sistemi sadece transplantasyonlarda uyumsuzluk faktörü olarak önemli değil, aynı zamanda immunolojik tanıma, immun yanıt ve hastalıklarla ilişki gibi yaşamsal biyolojik olaylarda da etkilidir. HLA allelleri özellikle hücrel immunitede esas rolü oynar ve genetik olarak meme kanserinin gelişiminde önemli olabilir(3,4).

Deneysel çalışmalar, kanser hücrelerinin MHC Sınıf I ekspresyonundaki değişiklik yaparak immunité yolu ile yokedilmekten kurtulabileceğini göstermiştir(5). Yeni tümör spesifik epitoplara bulunması, meme kanseri tedavisinde immunoterapinin gelişiminde kritik bir basamaktır(4,5).

Bu çalışma çeşitli kanser türleri ve çeşitli hastalıklarda dağılımı incelenen HLA'nın meme karsinomu ile ilişkisini araştırmak amacı ile düzenlenmiştir.



Şekil 1. Meme kanserinin meydana gelmesindeki olası etkenler (Breast Cancer Fund State of Evidence 2008 Vol. 1, Fig 1'den).

Major Doku Uyuşum Kompleksi (MHC)

Majör Doku Uyuşum Kompleksi MHC, şimdiye kadar çalışılan bütün omurgalılarda bulunan ve bağışıklıkla ilgili ve bağışıklıkla ilgili olmayan fonksiyonları olan bir grup gen dir (6). 1931 yılında Landsteiner eritrosit antijenlerini keşfetmiş; kan transfüzyonu için grup uyuşumunun gerekliliğini ve doku-organ transplantasyonu içinde doku antijenlerinin uyumundan söz etmiştir. 1930'lu yıllarda Peter A. Gorer ve George D. Snell farelerde doku antijenlerinin varlığından söz etmiş ve bunların gen bölgesine doku uyuşum kompleksi adını vermişlerdir (7). Farelerde 17. kromozomdaki bu H-2 gen bölgesinin sentezini sağladığı doku antijenlerine de MHC antijenleri denmiştir (7, 8, 9, 10, 11). MHC bağışıklığı denetlemekte ve doku uygunluğunda rol oynamaktadır (12). Bu alloantijenler insan lokositleri üzerinde bulduklarından, insan lökosit antijenleri (HLA) olarak tanınırlar.

Sonraları bu insan genlerinin haritasını çıkartmak için aile çalışmalarından yararlanıldı. Salt serolojik yaklaşımla bu ilk üç gen HLA-A, HLA-B ve HLA-C olarak isimlendirilmiştir. İkinci üçlü, adı geçen gen bölgesinin hemen yanında yer almakta ve HLA-D olarak isimlendirilmektedir. Bu bölgenin varlığı karma lökosit reaksiyonlarında yabancı T hücrelerinin ani artması ile belirlenmiştir(13). Alloantijenlerce ortaya çıkartılan ve HLA-D bölgesinde haritalanmış ilk gen ürünü HLA-D ilişkili veya HLA-DR olarak isimlendirilir. Diğer iki gen sırasıyla HLA-DQ ve HLA-DP olarak isimlendirilir. Bu isimlendirme alfabetik sıraya göre yapılmıştır. HLA bölgesi insanlarda MHC, farelerde H-2 bölgesi olarak bilinir. Farklı HLA ve H-2 lokusları yapısal ve fonksiyonel olarak homologdur. Özel olarak insan HLA-A, B ve C'leri fare H-2K, D ve L'lerine benzer ve Sınıf I MHC molekülleri olarak isimlendirirken insan HLA-DP, DQ ve DR'leri fare I-A, I-E'lerine benzer ve Sınıf II molekülleri olarak isimlendirilirler (13, 14, 15).

MHC moleküllerinin başlıca fonksiyonu, T-lenfositlerinin peptide bağlanmasını sağlamaktır. T hücrelerinin enfekte hücreleri tanıyabilmesi için; hücre yüzeyinde viral antijenlerle birlikte MHC antijenlerinin de olması gerekir. T hücrelerinin yabancı antijenleri tanımasında; Herhangi bir bireyde olgun T hücreleri yabancı antijenleri tanıyıp onlara cevap verirken, yerel proteinlere tepki göstermezler. Olgun T hücrelerinin antijen tanıma dağarcığı, vücudun kendi MHC molekülleri ile birleşmiş kendi proteinlerine aktivite gösteren, T hücrelerinin daha timik gelişme aşamasında

eliminasyonu, buna karşın vücudun kendi MHC molekülleri ile birleşmiş yabancı peptidlere etki gösteren T hücrelerinin ise yine aynı aşamada seçilmesi ile meydana getirilir. Gelişen T hücrelerine tanımlanabilen peptit sayısı bireyin ebeveynlerinden aldığı ve bu peptidlere tutunabilen MHC molekülleri çeşitliliğine bağlı olduğundan, MHC molekülleri olgun T hücresi dağarcığı meydana getirerek belirli antijenlere cevap vermede önemli bir yere sahip olabileceği bildirilmektedir (16, 17, 18).

Bağışıklık yanıtının oluşması ve düzenlenmesinden esas olarak üç molekül sorumludur. Bunlar, MHC molekülleri, T hücre reseptörleri (T-cell receptor – TCR) ile bağışıklık yanıtının başlama ve sonlanmasında belirleyici rol oynayan peptid yapıdaki antijenlerdir (19, 20). Bu mekanizmanın çalışmasında rol oynayan 4 temel hücre; antijen-sunucu hücreler (antigen presenting cell – APC), yardımcı T lenfositler (T-helper cell - Th, CD4+), B lenfositler (B) ve öldürücü / baskılayıcı T lenfositlerdir (cytotoxic / supressor T cell - Ts, CD8+). Antijen sunucu hücreler (APC); mikroglia, dendritik hücreler ve makrofajlardan oluşur, ancak özel koşullarda diğer bağışıklık sistemi hücreleri de (örneğin B lenfositler) APC olarak fonksiyon gösterebilirler. APC'ler yüzeylerinde MHC Sınıf II (MHC-II) moleküllerini taşırlar. Peptid yapısındaki antijen ile birlikte bir birleşik yapı oluşturan MHC-II ler, TCR ler yoluyla Th'leri uyarırlar. Bu uyarı için ayrıca yardımcı sinyaller (costimulatör) de gerekmektedir (19, 21, 22).

Uyarılan yardımcı T lenfositler (Th; CD4+) proliferer olur ve "lenfokin" olarak adlandırılan solübl maddeler (örneğin interlökinler) salgılar ve bu yolla bir dizi bağışıklık reaksiyonunun başlatılmasının yanı sıra B hücrelerini de uyararak antikor sentezlenmesine yardım ederler. Th lenfositlerin değişik altgrupları (Th0, Th1 veya Th2) değişik lenfokinler salgılar ve lenfokin tipine göre de farklı etkiler gösterirler (21).

B lenfositlerin görevi antikor salgılamaktır ve uyarılmaları için 2 çeşit sinyal gerekmektedir (19, 20, 21):

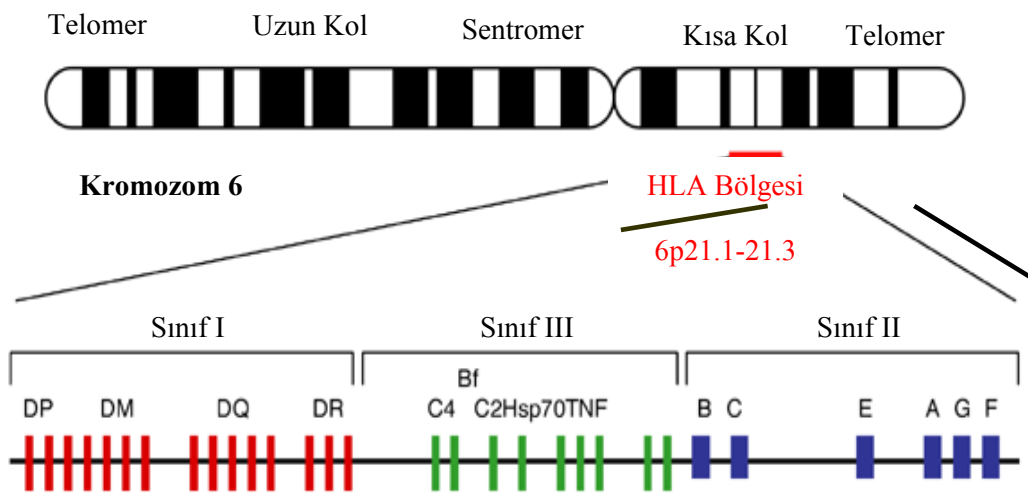
- 1) Uygun Th lenfosit B hücresi ile ilişkiye girmeli ve lenfokinler yoluyla uyarıcı sinyaller göndermelidir - T hücresine bağımlı (Tcell dependent).
- 2) İlgili antijen, B hücre yüzey reseptörlerine veya antikorlara bağlanmalıdır - T hücresinden bağımsız (T cell independent).

APC lerin dışındaki diğer hücreler MHC-II yerine MHC-I leri taşırlar, bunlar aracılığı ile de enfekte eden antijenik yapıdaki maddeleri yüzeylerinde sunarlar. Öldürücü / baskılayıcı T lenfositler (Ts,CD8+); patojen ile enfekte olan hücrelerin ortadan kaldırılmasından sorumludur ve Th lenfositlerin aksine, MHC-I molekülleri ile birleşen antijenik peptid moleküllerini tanıyarak aktif hale dönüşürler. CD8+ hücrelerin bir diğer rolü de; bağışıklık reaksiyonunu doğru zamanda yavaşlatmak ve durdurmaktır (T supressor'den anlaşıldığı gibi) (19, 21, 22).

Bağışıklık dışındaki fonksiyonları arasında, dikkate değer biri; hücre yüzeyinde diğer reseptörlerle (değişik hormon reseptörleri, epidermal büyüme faktörü ve transferrin faktörle) etkileşimidir(23). MHC; insanlar, fareler ve sıçanların üreme süreçlerine etki ederek, insanlar ve farelerde ise çiftleşmede seçmeye etkili olarak üremeyi önlemektedir(24).

HLA Antijen Sistemi

MHC tüm omurgalıların genomunda yer alan, en yüksek polimorfizme sahip olan ve evrim süresince en iyi korunmuş bölgelerden biridir. Kromozom 6'nın kısa kolunda, 6p21.3 bölgesinde yer alır (Şekil 2) ve yaklaşık 4000 kb uzunluğundadır. Telomerden sentromere doğru dizilim, sırasıyla Sınıf – I, III, II bölgeleri şeklindedir(25).

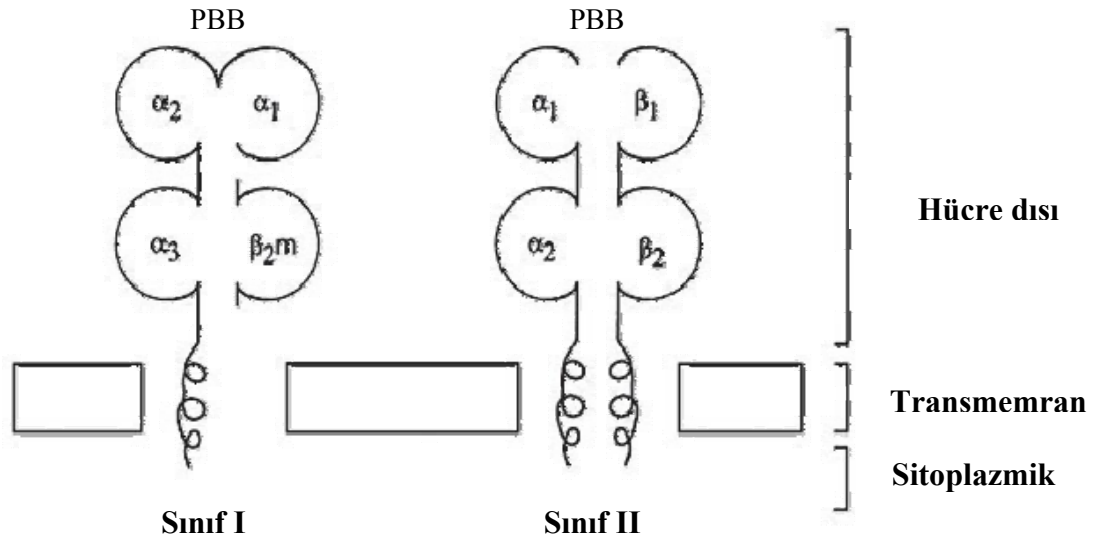


Şekil 2. Kromozom 6'daki HLA gen bölgesi (Expert reviews in molecular medicine 2003 Vol. 5, Fig 1'den değiştirilerek).

MHC Sınıf-I bölgesi, tüm çekirdekli hücrelerde, kısmen de trombositlerde ve retikülositlerde bulunur. Klasik genler olarak nitelenen HLA-A, -B , -C ve non-klasik olarak tanımlanan HLA-E, -F, -G genlerinin ağır zincirlerini ve bunlara ek olarak MICA, MICB, çok sayıda psödogen ve ayrıca işlevleri iyi anlaşılmamış birçok geni kodlamaktadır. Bütün molekül 2 polipeptid zincirden oluşmuştur. Ağır zincir bir glikoproteindir. Ağır zincire eşlik eden B2-mikroglobulin molekülü ise MHC bölgesi dışında, kromozom 15'den kodlanmaktadır. Bunlar birbirlerine non-kovalent bağlarla bağlanmışlardır(25, 26) (Şekil 3).

MHC Sınıf-II bölgesi, daha az doku dağılımına sahiptir. HLA-DR, -DQ, -DP, -DM ve -DO genlerinin a ve b zincirleri kodlanmaktadır ve bütün B hücreler, makrofajlar ve Dendritik hücreler gibi profesyonel antijen sunan hücrelerde bulunurlar (antigen Presenting Cells-APCs). Birbiri ile non-kovalent bağlanmış Alfa ve Beta adlı iki polipeptid zincirinden oluşur(25, 26) (Şekil 3).

MHC Sınıf-III bölgesinde ise kompleman C4 ve C2, Faktör B, 21 hidroksilaz, TNF ve Ksp 70 genleri kodlanmaktadır. MHC içinde yer almasının nedeni henüz anlaşılamamıştır (25).



Şekil 3. MHC Sınıf 1 ve 2 moleküllerinin şematik gösterimi. PBB: Peptid

Bağlanma Bölgesi (Annual Review of Genetics 1998'den değiştirilerek).

Tablo 1. HLA Sınıf I Genleri

Gen	Genomik uznkluk (Kb)	Kodlama bölgesi (nt)	Aksesyon No
MICB	11.7	1152	NM005931, U65416, X91625
MICA	11.5	1152	NM 000247, X92841
HLA-B	2.7	Yaklaşık. 1089	AB008102 (Bir çok allel)
HLA-C	2.9	1101	D83031 (Bir çok allel)
OTF3 (POU5F1)	1.6	798, 1083	NM002701, Z11899, Z11898
SC1-1 (TCF19)	3.2	1038	AB029516 to AB029519
HCR (PG8)	14.3	2271	AB029331
CDSN (PSORS1, S)	4.4	1590	NM 001264, AF030130, L20815
GTF2H4	4.9	1389	Y07595, NM 001517
CAK (DDR,	10.6	2631	NM 001954
DIF2 (PRG1, IEX1, IEX1L)	0.6	471	NM 003897, AF083421, AF071596
FL0T1	14.1	1284	NM 005803
TUBB (M40)	3.9	1338	J00314; (Prot: P07437;G338695)
KIAA0170	7.8	6270	D79992
PTD017	6.9	777	AF100761
PPP1R10 (FB19)	8.4	2823	Y13247
ABC50	19.2	2424	AF027302
CAT56	5.4	762	U63336
GNL1 (HSR1)	8.6	1293	L25665, NM 005275
HLA-E	3.1	1077	NM 005516, M20022 (Bir çok allel)
TC4	0.7	651	M31469
ZNF173	13.1	1620	NM 003449, U09825
ZNFB7	8.7	1398	U34249
RFB30	2.3	1446	(Y07829)
HCGI	2.7	-	X81006
HCGV	3.1	-	X81003
HTEX4	(0.5)	-	AF032110
HCGIX-4	0.2	234	X95289, X92109
HLA-A	2.9	1098	U83415, U03861-3 (Bir çok allel)
HCG1V-6	1.1	-	X81005
HCGII-7	3.5	-	X81001
HLA-G	3.2	1017	NM 002127, M32800
HLA-F	4.3	1089	(X17093)
MOG	15.6	744	X74511
GABBR1	28.9	2886	AF099148
Diubiquitin	4.1	498	Y12653
MRG	1.1	1134	S78653
Hs6MI-16	0.9	948	-

Tablo 2. HLA Sınıf II Genleri

Gen	Genomik uzunluk (Kb)	Kodlama bölgesi (nt)	Aksesyon No
DAXX	3.2	2224	NM_001350; AB015051
Bingl	2.0	1905	NM_005453
TAPBP (Tapasin)	12.3	1347	NM_003190; AF009510
RGL2 (HKE1.5)	6.5	2334	NM_004761
HKE2	0.8	390	AA369134; Z97184
BING4	9.3	1158	Z97184; AF031228
BING5 (Put.)	0.4	348	AL031228
GalT4	1.1	1137	Y15061
RPS18 (KE3)	4.3	459	X69150
SACM2L(ARE1)	21.0	2169	AJ006026; AF031228
-	-	-	TATSF1';
-	-	-	ZFN'
RING1 (RNF1)	2.8	1134	NM_002931
RING2 (KE6)	2.0	1290	D82060
RING5 (KE4)	2.6	1290	AF117221
RXRB	5.8	1602	AF120161; M84820
C0L11A2	29.0	4887	U32169
DPB1 (SB)	10.2	777	NM_002121
DPA1 (DPw3al)	4.9	783	M27487; X03100
DNA (DZA, DOA)	2.7	753	NM_002119
RING3	6.1	2265	X96670
DMA (RING6)	4.2	786	NM_006120
DMB (RING7)	5.8	792	NM_002118
LMP2 (RING12)	5.3	660	NM_002800
TAP1 (RING4)	8.1	2247	L21208
LMP7 (RING10)	3.5	831	U17497
TAP2 (RING11)	9.3	1962	AF078671
DOB	3.7	822	M26040; NM_002120
DQB1 (IDDM1)	6.7	786	NM_002123
DQA1	5.3	768	NM_002122
DRB1	13.0	801	U66826; NM_002124; M20429-30
DRB3	12.7	801	U66825; U95819
DRA	4.0	765	K01171; M60334
BTN	12.4	1581	NM_001732
TSBP	32.4	1707	U60665

Tablo 3. HLA Sınıf III Genleri

	Genomik uzunluk (Kb)	Kodlama bölgesi (nt)	Aksesyon No
N0TCH4	28.5	6012	NM_004557
G18	1.1	342	-
HBX2 (PBX2, H0X12)	3.5	1293	X59842
RAGE	3.1	1029	AJ133822
G16	1.8	543	-
hL-PAAT-alpha (G15)	2.2	849	NM006411
NG3	1.8	882	-
PPT2 (G14)	9.3	909;	Y17958, NM_005155
NG5	1.4	603	-
CREB-RP (CREBL1)	12.5	2103	U31903
Tenascin X (TNXB)	56.9	Yaklaşık 12 Kb	X71923-X71938
CYP21B	2.7	1485	M26856, M13935
C4B	20.4	5235	NM_000592, K02403
STK19 (G11)	8.6	777	X77386
D0M3Z	1.8	1191	NM_005510
SKI2W	10.5	3741	X98378
RD (NELFE)	6.1	1143	L03411
Bf	5.8	2295	X72875
C2	17.4	2259	X04481
NG35 (G10)	1.4	1400	-
NG36	3.3	555	-
G9a	12.8	3006	X69838
NG22	15.3	2139	-
NEU (G9)	3.1	1248	U84246
G8	4.7	-	-
HSPA1B (HSP70-2)	1.9	1926	M59830, NM_005346
HSPA1A (HSP70-1)	1.9	1926	M59828, NM_005345
HSPA1L (HSP70-HOM)	1.9	1926	M59829, NM_005527
snRNP (SMRNP)	9.0	288	(U85207)
VAR51 (Val-TRS, G7a)	17.6	3795	NM_006295
NG37	11.0	2559	-
NG23	1.5	447	-
MSH5 (MutSH5)	22.1	2505	AF034759
NCC27 (CLIC1, G6, hRNCC)	5.5	726	U93205
DDAH (NG30, G6a)	1.9	858	-
G6b (NG31)	1.7	726	-
G6c (NG24)	2.6	378	-
G6d (NG25)	2.4	402	-
NG32	3.5	873	-
NG26	16.1	1677	-
NG33	7.1	447	-
CSK2B	3.1	648	X16312

HLA genleri, Mendelian kalıtım ve eş baskın (co-dominant) özelliği gösterirler. Kalıtım haplotipler olarak birbirine bağlı gen blokları halindedir. Her birey bir maternal bir de paternal haplotip alarak her ikisini de eksprese eder. İmmun sistemin en önemli işlevi kendine ait ve yabancı olanı birbirinden ayırabilmektir(25).

Virüslerle infekte olan hücrelerin veya neoplastik hücrelerin T- hücrelerinden kaçabilmek için kullandıkları bir yöntemde HLA moleküllerinin ekspresyonunda azalmaya gitme (down regulation) işlevi olduğu tespit edilmiştir(25).

Bu konudaki en önemli işlevleri şunlardır:

a. Timustaki olgunlaşma sürecinde, T-hücresi reseptörü (TCR)–Self MHC afinitesi düzeyinde kontrol edilen apoptozis işlemleri sonucu, yalnızca kendi MHC molekülleri üzerinde sunulan yabancı peptidleri tanıyıp yanıt vermesidir.

b. T-hücrelerine antijen sunumu: T hücrelerinin peptidleri tanıyabilmeleri için, antijenin öncelikle antijen sunan hücrelerde işlenip MHC üzerinden T hücresine sunulması gerekmektedir. Böylece işlenmiş antijenler Sınıf I molekülü ile CD8+ T hücrelerine sunulur ve hücrenin eliminasyonu sağlanır. HLA-DM ile Sınıf II molekülüne bağlanarak bu kez CD4+ T hücrelerine sunularak eliminasyon sağlanır.

c. Doğal öldürücü hücre (Natural Killer cell- NK) aktivasyonunun düzenlenmesi.

d. Gebelikte, Plasental Trofoblastlar HLA A, B, C gibi Sınıf I molekülleri eksprese etmediklerinden, fetüsü T-lenfosit saldırısından korunurlar.

e. Kendisinden farklı MHC antijenini taşıyan organizmayı tercih ederek yeni kuşaklara daha geniş çeşitlilik sağlanır (25).

Meme Kanserinde Genetik Faktörler

Çalışmaların büyük çoğunluğunda meme kanserinin çevresel, epigenetik faktörlerle yakından ilişkili olduğu saptanıp, spontan mutasyonlar ve / veya genetik eğilimin neden olduğu genetik kaynaklı bir hastalık olduğu ileri sürülmüştür(27).

Meme kanserinin çok sayıda mutasyon gösteren gen ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Meme kanseri, 25 yaşından önce ailesel olgular dışında nadir görülmektedir. İnsidansı 30 yaşından sonra artar ve ortalama 65 yaşında görülür. Aile öyküsü en önemli risk faktörünü oluşturmasına rağmen, meme kanseri tanısı konulan

kadınların çoğunluğunda aile öyküsü saptanmamıştır. Bazı genetik hastalıklarda (örneğin Li- Fraumeni, Cowden, Peutz-Jeghers) meme kanseri riski artmıştır(27). Tablo 4' de gösterilmiştir.

BRCA 1, BRCA 2, p53 ve ATM genleri kalıtsal ailesel meme kanserlerinin çoğundan sorumludur. Meme kanserlerinin %5-10' una, otozomal dominant tarzda ve değişken penetrans ile kalıtsal geçiş gösteren BRCA-1 ve BRCA-2 gibi germline mutasyonları neden olmaktadır (Tablo 4). BRCA-1 ve BRCA-2 tümör baskılayıcı genler olup, bu genlerin herbiri için her iki allelin kaybı kanser oluşumuna neden olmaktadır(27).

BRCA-1

BRCA-1 kromozom 17q da yer alır ve genomda 100kb DNA lık yer kaplar. BRCA-1'in izolasyonundan beri toplanan veriler bu genin transkripsiyon, hücre siklus kontrolü, DNA hasarı onarımında rolü olduğunu ve 500 sıradan fazla varyasyonu bulunduğunu göstermiştir. Günümüzde BRCA-1'deki germline mutasyonlarının herediter meme kanserlerinin %45'den fazlasına ve herediter over kanserlerinin en az %80'ine predispozisyon oluşturduğu bilinmektedir. Bayan germline mutasyon taşıyıcılarında % 90'a ulaşan meme kanseri ve %40'a ulaşan over kanseri gelişme riski vardır. Bu ailelerde meme kanseri yüksek penetranslı otozomal dominant geçiş özelliği taşımaktadır. Genelde BRCA-1 ilişkili meme kanserleri az diferansiye, hormon reseptörü negatif invaziv duktal kanserlerdir. Yüksek bilateral olma insidansına sahip olup, sporadik olan tipe göre erken başlangıç yaşına sahiptir. Bu gen ile etkilenen erişkinlerde özellikle over, prostat ve kolon kanserleri sık görülmektedir(27).

BRCA-2

BRCA-2 kromozom 13q'da yer alır ve genomda 70kb DNA'lık yer kaplar. BRCA-2 geni önceden tanımlanan herhangi bir genle homolojiye sahip değildir ve proteinde daha önce tanımlanan hiçbir fonksiyonel alan da bulunmamaktadır. BRCA-2'nin biyolojik rolü tam olarak tanımlanamamakla birlikte BRCA-1'de olduğu gibi DNA hasar tamir yolunda görevi olduğu varsayılmaktadır. Günümüze dek 250'den fazla mutasyonu saptanmıştır. Meme kanseri, BRCA-2 taşıyan ailelerde otozomal dominanttır ve yüksek penetransa sahiptir. BRCA-2 mutasyonu taşıyanlarda hayat boyu meme kanseri riski % 85'e yakın iken over kanseri riski BRCA-1 taşıyanlara göre daha düşük olarak % 20'ye yakındır. BRCA-1 mutasyonlu erkek taşıyıcılardan farklı olarak BRCA-

2 mutasyonlu erkeklerde, meme kanseri riski genel populasyonun 100 katı artarak tahmini % 6 seviyesine çıkar. Genelde BRCA-2 ilişkili meme kanserleri iyi diferansiye, hormon reseptörü pozitif invazif duktal kanserlerdir. Yüksek bilateral olma insidansı mevcut olup, sporadik olana göre erken başlangıç yaşına sahiptir. Bu gen ile etkilenen erişkinlerde özellikle over, muhtemelen prostat, kolon, safra kesesi ve yolları, mide kanseri ve melanom gibi kanserler sık görülmektedir (28).

p53

Tümör supressör bir gen olan p53, 17p13 kromozomunda yerleşip 53 kd'luk bir fosfoproteini kodlamaktadır. Birçok malign hastalıkta saptanmaktadır. Bu genin over ekspresyonu aksiller nodülden ve menapoz durumundan bağımsız olup, tümör çapı ile zayıf, DNA ploidi ve nükleer derece ile yakın ilişkilidir(29).

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR)

Tirozin kinaz reseptörleridir. 7q21 geni tarafından klonlanan 170 kd'luk bir transmembran glikoproteinidir. Meme kanserlerinde (%35-60) over ekspresyonu vardır. EGFR ile steroid reseptörleri arasında negatif bir ilişkisi vardır. Tümör derecesi ve proliferasyon göstergeleri arasında ise direkt ilişki olduğu bulunmuştur(27).

c-erbB-2

17q21 kromozomunda yer alır, 185 kd'luk bir glikoproteindir. c-erbB-2; in situ tümörlerden, komedo, büyük hücreli, duktal karsinoma in situ da over eksprese olurken, papiller ve kribriform tümörlerde düşük düzeyde bulunur. Son çalışmalarda c-erbB-2 ekspresyonunun çeşitli terapötik ajanlara direnç ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Tedavi edilemeyen nod pozitif hastalarda klinik gidişle ilişkisi yokken, adjuvan kemoterapi ve hormon tedavisi alan hastalarda sağkalım ve hastalıksız sağkalım için prediktör bir faktör olduğu belirtilmiştir. c-erbB-2 aşırı ekspresyonu olan hastalarda Tamoksifen yanıtının düşük olduğu tespit edilmiştir(27).

Tablo 4. Sporadik, ailesel ve herediter meme kanseri insidans yüzdeleri

Meme Kanseri	Yüzdeleri (%)	Herediteye Katkısı (%)
Sporadik meme kanseri	% 65-70	
Ailesel meme kanseri	% 20-30	
Hereditör meme kanseri	% 5-10	↓
Genler:		
BRCA-1		45 %
BRCA-2		35 %
p53 (Li-Fraumeni Send.)		1 %
STK11/LKB1 (Peutz-Jeghers Send.)		< 1 %
PTEN (Cowden Hast.)		<1 %
MHS2/MLH1 (Muir-Torre Send.)		<1 %
ATM (Ataksia-telenjektazia)		<1 %
Bilinmeyen		20 %

(Schwartz's Principles of Surgery/2008'den değiştirilerek).

HLA İle Çeşitli Hastalıklar Arasındaki İlişkiler

HLA antijeni ve hastalık ilişkisi 1970'li yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. Özellikle bazı otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu bilinmektedir. 1967 yılında HLA B5 ve Hodgkin, 1970'lerde HLA B27 ve Ankilozan Spondilit ilişkisi araştırılmıştır. İnsüline bağımlı Diabetes mellitus için HLA DR2 koruyucu rol oynarken, HLA DR3 ve DR4'ün kolaylaştırıcı rol oynadığı saptanmıştır(30). (Tablo 5).

HLA antijenleri ve hastalıklarla ilişkisi konusunda olası mekanizmalar şunlardır:

- HLA antijenlerinin hastalığa yol açan etmene yapısal benzerlik göstermesi (HLA B27-Ankilozan Spondilit),

- b. Patojen için reseptör özelliği göstermesi,
- c. HLA antijenlerince kontrol edilen immün cevap genlerinin aşırı ya da zayıf reaksiyon göstermeleri (HLA DR-Multipl Skleroz),
- d. HLA bölgesindeki proteinlerde defektler oluşu ya da bu proteinlerin var olmaması (HLA A3-İdiopatik hemokromatozis),
- e. HLA Sınıf 3 bölgesindeki genlerle ilgili kompleman sisteminde var olan defektler (C2, C4 yetersizliği- SLE),
- f. Human diferansiyasyon genlerinin anormal allellerinin söz konusu olması (HLA DW7-Testiküler teratokarsinom),
- g. HLA Sınıf 2 antijenlerinin uygunsuz ekspresyonu,
- h. HLA antijenlerinin yetersiz ekspresyonu ve tümörlerin denetimden kaçışı(30).

Tablo 5. HLA ile çeşitli hastalıklar arasındaki ilişkiler

Hastalıklar	HLA Antijeni	Çalışmacılar	HLA ile ilişkisi
Çölyak Hastalığı	HLA A1, HLA A8	Stokes P.L. ve ark.(31)	Hastaların %88'inde HLA A 1 ve 8 de anlamlı artış saptanmıştır.
Psoriasis Hastalığı	HLA A1, HLA DR7, HLA B17, HLA B27	Lee FI ve ark. (32), Yates VM ve ark. (33)	HLA A1, HLA DR7 ve HLA B17 sıklığı artmaktadır. Ayrıca Psöriatik artritli hastalarda HLA B27 insidansı artmaktadır.
Hodgkin Hastalığı	HLA A1	Hafez ve ark. (34)	Anlamlı ilişki saptanmıştır.
Duodenal Ülser	HLA B5	Bilir ve ark.(35)	HLA B5 doku grubu taşıyanların duodenal ülser geliştirme riski anlamlı derecede yüksek bulunmuş.
Parkinson Hastalığı	HLA B22, HLA DR14	Yılmaz ve ark. (36)	Anlamlı ilişki saptanmıştır.

HLA İle Çeşitli Kanser Türleri Arasındaki İlişkiler

Tümörlerin birçoğu immun cevap ile oluşacak hasardan kaçmak için çeşitli mekanizmalar geliştirir(36):

- Tümör hücresi yüzeyinde görevli B7 reseptörü eksprese olmaz ve sonuçta CD28 lenfositleri tümör hücresi ile etkileşemediğinden tümör immun sistem tarafından yakalanamaz.
- İmmun sistemi baskılayıcı Transforming Growth Factor Beta (TGF Beta) salgılar, bu sayede sitotoksik T lenfositler (CD 8+) inhibe olur.
- Normalde CD8 lenfositlerin yüzeyinde olması gereken aktif FAS-L reseptörü tümör hücresi yüzeyinde olursa, tümör hücreleri yerine CD8 lenfositler apoptozise uğrar.
- Tümör hücresi antijenik proteinler sergilerse, bu proteinler CD8 ile reaksiyona giremediğinden etkisiz hale getirilemez.
- Tümör hücresi müsin oluşturarak kendi yüzey antijenlerini örtüp CD8 lenfositlerden kaçabilir.
- Tümör hücresi MHC Sınıf I ve Sınıf II antijenleri eksprese etmez ve bu sayede lenfositler tarafından tanınmaz(37).

Çalışmalarda tümör hücrelerinin immun cevaptan kurtulmak için 4 farklı şekilde HLA kaybı oluşturduğu iddia edilmiştir(38):

- Total HLA kaybı: Beta2 mikroglobulin sentezinin, antijen sunumu ile ilgili taşıyıcıların (antijeni olduğu yerden hücre yüzeyine getiren taşıma sistemi) ve MHC genlerinin yapısal defektleri sonucu olabilir.
- HLA haplotip kaybı: HLA antijenlerden bazılarının delesyona uğraması yoluyla olmaktadır. Kromozomal olabilir. Özellikle kolon karsinomunda, pankreas karsinomunda ve malign melanomda rastlanılmıştır.
- HLA lokus kaybı: MHC Sınıf I'de yer alan A, B, C lokuslarından sadece birinin veya birkaçının ürettiği antijenlerin görülmemesidir.
- Allel kaybı: A, B, C allellerinden birinin kaybıdır (nokta mutasyonlara bağlı gelişebilir)(38).

Primme ve ark. (39) oral kansere bitişik displastik epitelde MHC Sınıf I allellerinin azalmış ekspresyonunu göstermişlerdir. Bontkes ve ark. (40) premalign servikal epitel lezyonlarda da Sınıf I antijeninin ekspresyon kaybını saptamışlardır. Sınıf I ekspresyonu olmayan renal hücreli karsinomlu hastaların survileri, yüksek derecede Sınıf I ekspresyonu olanlara göre daha kısa bulunmuştur(41).

Osteosarkomlu tek yumurta ikizi hastalarda HLA antijenlerinin birbirinin aynı olduğu saptanmıştır. HLA B18'in hastalarda yüksek sıklıkta görüldüğü, HLA B12'nin de azaldığı bildirilmiştir. Bu hastalarda metastaz oluşanlarda HLA A3'ün sık görüldüğü saptanmıştır(42, 43). Larenks squamöz hücreli karsinomunda yapılan çalışmada HLA A02011 ve A31012 alleleri taşıyan hastada tümör dokusunun A31.012'nin mutasyona uğramış bir halinin eksprese edildiği bildirilmiştir(44). Sindirim sistemi karsinomlarında yapılan çalışmada HLA DR11 ve HLA B67 allelleri anlamlı olarak yüksek bulunmuş. Ayrıca iyi diferansiye adenokarsinomlarda HLA DR11 ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir(45). Yapılan çalışmalar sonucunda HLA antijenleri ile ilişkisi saptanan maligniteler Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. HLA ile çeşitli kanser türleri arasındaki ilişkiler

Kanser	HLA antijeni	Çalışmacılar	HLA ile ilişkisi
Kolorektal Kanser	HLA 6p21 bölgesindeki 14 mikrosatellit marker	Mirjam M. De Long ve ark.(46)	Anlamli ilişki bulunamamıştır.
Over Kanseri	HLA Sınıf I	Rolland P. ve ark.(47)	Over Kanserlerinde , HLA Sınıf I antijenlerinin down regülasyonu bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuş.
Akciger Kanseri	HLA Aw19, B5	Weiss GB. ve ark. (48)	Antijenin iyi sağ kalım göstergesi olarak bulunmuş.
Meme Kanseri	HLA B7, HLA DR4	Casoli C. ve ark.(49)	Anlamli korelasyon saptanmış.
Meme Kanseri	HLA B7	Lavado R. ve ark. (50)	Anlamli ilişki saptanmış.
Meme Kanseri	HLA DRB1, DQB1	Chaudhuri S. ve ark. (51)	DRB1*1101, DQB1*03032 allelleri meme kanserine karşı koruyucu olduğu saptanmış.
Meme Kanseri	HLA DRB1	Ghaderi A. ve ark. (52)	HLA DRB1'deki 12.allel frekansı anlamli olarak daha yüksek bulunmuş.
Meme Kanseri	HLA DRB1	Harrath AB. ve ark. (53)	HLA DRB1*07 ve HLA DRB1*02 allelleri ile meme kanseri arasında ters bağlantı saptanmış.
Meme Kanseri	HLA sınıf I	Madjd Z. ve ark. (54)	MHC sınıf I'in total kaybının, meme kanserlerinde iyi prognoz için bağımsız bir belirteç olduğu saptanmış.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu prospektif klinik çalışma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi, Cerrahi ve İlaç Araştırmaları Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alındıktan sonra, hasta grubu, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalına ameliyat için yatırılmış, takip ve tedavileri kliniğimizde yapılan, meme kanseri tanılı yaş ortalaması 48.2 olan, 22 kadın hasta seçilerek yapıldı.

Kontrol grubu olarak aralarında akrabalık bağı olmayan, renal transplantasyon adayı olmaları sebebiyle doku grupları tayin edilen, yaş ortalaması 45 olan, 22 sağlıklı kadın seçildi. Kanlar 5 cc'lik EDTA'lı tüpler ile toplanarak, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kan Merkezi Doku Tipi Tayini Laboratuvarı'nda analiz edildi.



Şekil 4. Genovision Olerup SSP PCR Cihazı (ADN Extractor, Electrophoresis apparatus, Olerup SSP™)

HLA tiplendirmesi GenoVision Olerup SSP (Olerup SSP, Stockholm, Sweden) kiti (Şekil 5) kullanarak yapıldı. HLA A, B ve DR gruplarına bakıldı.



Şekil 5. GenoVision Olerup SSP kiti (Olerup SSP™ HLA Kits)

PCR-SSP Yöntemiyle Doku Tipleme

HLA-A, B ve DR tipleme için kliniklerden gönderilen hastalardan ve vericilerden 3 ml kan alınarak EDTA'lı tüplere aktarılır. Mevcut kanlardan standart protokollere göre DNA izolasyonu yapılır(55). Spektrofotometrik olarak 260/280 nm dalga boyunda okunarak DNA'nın saflığı hesap edilir, konsantrasyonu ayarlanır. HLA-A için 23, HLA-B için 48, HLA-DR için 23, farklı primer kullanılır. PCR malzemeleri ayrı ayrı alınıp hazırlanabilir ya da yarı hazır şekilde ticari olarak sağlanabilir. PCR reaksiyonu kurulduktan sonra ısıl döngü cihazına kaldırılır(56).

PCR reaksiyonu 3 farklı aşamadan ibarettir:

- 1-DNA denatürasyonu
- 2-Primerlerin eşleşmesi
- 3-Taq polimeraz ile replikasyon

Bu 3 aşama farklı sıcaklıklardan ibarettir ve 1 döngü sayılır. 25-30 döngü sonra reaksiyon sona erdirilir. Elde edilen PCR ürünleri ürününe göre %2'lik agaroz jel elektroforezinde (1XTBE veya 0,5XTBE) yürütülürler. Sonra UV transilluminatörde fotoğrafları çekilerek doku grupları belirlenir. Sonuçlar serolojik ya da allelik

numaralama sistemine göre gruplandırılarak yazılır. Çalışmalarda internal kontrollerin çalışıp çalışmadığı daima kontrol edilir(56). Olerup ve ark. yaptıkları çalışmada genomik HLA-A, B, C, DR tiplendirmesinin serolojik yöntemle göre çok daha doğru ve hassas olduğunu (%99.2) belirlemişlerdir (56, 57, 58).

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz, Windows bilgisayar programında SPSS ver: 13.0 (SPSS inc. Chicago, IL) kullanılarak yapıldı. Hasta ve kontrol grubu HLA'larını Chisquare testi ile kıyasladık, $p < 0.05$ anlamlılık seviyesine göre farkı bulunan HLA'lar için Odd's Ratio (OR) hesaplandı.

BULGULAR

Çalışmamızda hasta grubunda 22 meme kanseri tanısı almış kadın, kontrol grubunda 22 sağlıklı kadın vardı. Hasta grubu 28 ile 79 yaş arasında değişmekte ve ortalama yaş 48.2 idi. Çalışma grubu 23 ile 60 yaş arasında değişmekte ve ortalama yaş 45 idi. Çalışma grubundaki hastaların hepsinin patolojisi invazif duktal karsinomdu. Kontrol grubu ise tamamen sağlıklı renal transplantasyon donör adaylarıydı.

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kan Merkezi Doku Tipi Tayini Laboratuvarı'nda HLA A, B, DR genlerinin tüm alt gruplarına bakıldı.

Çalışma grubunda HLA A geninin 14 alleli, HLA B geninin 15 alleli, HLA DR geninin 13 alleli bulundu.

Kontrol grubunda ise HLA A geninin 12 alleli, HLA B geninin 16 alleli, HLA DR geninin 12 alleli bulundu.

Her iki grupta A geninin 17 alleli, B geninin 22 alleli, DR geninin 14 alleli olmak üzere toplam 53 allel tespit edildi.

Tablo 7. Saptanan HLA A allelleri.

	Çalışma		Kontrol		p	OR	CI(%95)
	n	%	n	%			
A1	6	27,3	3	13,6	0,262	2,37	0,51-11,04
A2	9	40	9	40	0,1	0,3	0,3-3,32
A3	3	13,6	6	27,3	0,262	0,42	0,09-1,95
A11	5	22,7	1	4,5	0,79	6,17	0,65-58,03
A19	3	13,6	0	-	0,073	-	0,98-1,36
A23	2	9,1	0	-	0,148	-	0,96-1,255
A24	6	27,3	6	27,3	1	1	0,26-3,76
A26	2	9,1	3	13,6	0,635	0,63	0,09-4,21
A28	2	9,1	0	-	0,148	-	0,96-1,25
A29	1	4,5	1	4,5	1	1	0,06-17,06
A30	1	4,5	2	9,1	0,550	0,47	0,40-5,67
A32	3	13,6	3	13,6	1	1	0,17-5,59
A33	0	-	2	9,1	0,148	-	0,79-1,03
A68	1	4,5	2	9,1	0,550	0,476	0,4-5,67

Tablo 8. Saptanan HLA B allelleri.

	Çalışma		Kontrol		p	OR	CI(%95)
	n	%	n	%			
B4	1	4,5	1	4,5	1	1	0,06-17,06
B5	0	-	1	4,5	0,312	-	0,87-1,04
B7	2	9,1	2	9,1	1	1	0,12-7,81
B8	3	13,6	3	13,6	1	1	0,17-5,59
B13	0	-	4	18,2	0,036	-	0,67-0,99
B14	0	-	2	9,1	0,148	0,909	0,79-1,03
B15	0	-	2	9,1	0,148	-	0,79-1,03
B17	1	4,5	0	-	0,312	-	0,95-1,14
B18	1	4,5	4	18,2	0,154	0,214	0,02-2,09
B21	1	4,5	0	-	0,312	-	0,95-1,14
B22	4	18,2	0	-	0,036	-	1-1,48
B27	4	18,2	1	4,5	0,154	4,667	0,47-45,6
B38	2	9,1	2	9,1	1	1	0,12-7,81
B44	6	27,3	5	18,2	0,472	1,688	0,4-7,07
B50	1	4,5	0	-	0,312	-	0,95-1,14
B51	4	18,2	3	13,6	0,68	1,407	0,27-7,18
B52	0	-	2	9,1	0,148	-	0,79-1,03
B53	0	-	3	13,6	0,073	-	0,73-1,02

Tablo 9. Saptanan HLA DR allelleri.

	Çalışma		Kontrol		p	OR	CI(%95)
	n	%	n	%			
DR1	1	4,5	3	13,6	0,294	0,302	0,03-3,15
DR2	1	4,5	0	-	0,312	-	0,95-1,14
DR3	1	4,5	4	18,2	0,154	0,214	0,02-2,09
DR4	6	27,3	7	31,8	0,741	0,804	0,21-2,94
DR7	2	9,1	3	13,6	0,635	0,633	0,09-4,21
DR8	2	9,1	1	4,5	0,550	2,1	0,17-25
DR11	10	45,5	6	27,3	0,210	2,222	0,63-7,82
DR13	4	18,2	6	27,3	0,472	0,593	0,14-2,48
DR15	6	27,3	3	4,5	0,262	2,375	0,51-11
DR16	1	4,5	5	22,7	0,079	0,162	0,01-1,52
DR18	5	22,7	0	-	0,018	-	1,03 - 1,62

HLA B13 hasta grubunda hiç kimse de bulunmazken, kontrol grubunda 4 kişi de saptandı. Arada saptanan fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulundu. Güven aralığı 0,67-0,99 olarak belirlendi. Bu antijen yalnızca kontrol grubunda saptandığı için koruyucu bir etkinliği olduğunu düşünöldü.

Hasta grubunda HLA B22 4 kişide saptanırken, HLA DR18 ise 4 kişide saptandı. Her iki antijen, kontrol grubunda hiçbir hastada tespit edilmedi. İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunan antijenlerin güven aralıkları HLA B22 için 1-1,48 ve HLA DR18 için 1,03-1,62 olarak belirlendi (Tablo 10).

Tablo 10. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan HLA antijenleri.

	Meme CA	Kontrol	p<0,05
HLA B13	0	4	0,036
HLA B22	4	0	0,036
HLA DR18	5	0	0,018

TARTIŞMA

Hücre yüzeyine eksprese olan HLA antijenleri immün cevabı düzenlerler. HLA ekspresyonundaki bozulmalar veya yetersizlikler malignitenin gelişmesinde önemli rol oynar. Sitotoksik T lenfositler (CTL) tümörlü doku üzerindeki HLA ve tümöre ait antijenleri görürler ve bunları tanıyarak tümör hücrelerini tahrip ederler. Sınıf 1'i tanıyan sitotoksik T lenfositler (CD8+) birincil ve hızlı cevaptan sorumludur. Sınıf 2 HLA antijenlerine bağlı olarak yardımcı T lenfositlerce (CD4+) oluşturulan ikincil cevap ise tümöre ve patojenlere verilen esas yanıttır(59).

HLA Sınıf 1 antijenlerinin ekspresyonunun kaybının görüldüğü tümörler, genelde malign tümörlerdir. Genlerdeki mutasyon ile Sınıf 1 antijenlerini oluşturan beta 2 mikroglobulinlerin sentezindeki yetersizlik sebebi ile tümör hücreleri CD8 lenfositlerin denetiminden kaçabilmektedir(60). Kanserle ilişkili olarak tümör hücresi yüzeyindeki HLA antijeninin yapısı bozulabilir. Bu durumda CD8 lenfositler antijenleri yeterince tanıyamayabilir. Örneğin akciğer tümöründe HLA CW3 varlığı yüksek saptanmıştır. Yapısının bozulması, ekspresyonunun iyi yapılamamasından dolayı tümör proteinleri tanımlanamamış ve bu sebeple tümörün agresif ilerlediği bulunmuştur(61).

HLA Sınıf 1 ekspresyonundaki azalma, tümör biyolojisinin en önemli fenomenlerinden biridir. Ancak bu azalma bir yandan tümörün immün mekanizmalardan kaçmasına neden olurken diğer yandan HLA Sınıf 1 eksprese etmeyen Sınıf 1 hücreleri hedef alıp onları öldüren Naturel Killer (NK) hücrelerini de bunlara karşı aktif hale getirir. Özellikle metastazlarda HLA'sız tümör hücrelerinin dolaşıma katılması söz konusudur(62).

Meme kanseri, etiyolojisinde genetik faktörlerin rolü olabileceğini düşündüren ailesel bir yığılma eğilimi göstermektedir(27). Ayrıca HLA sistemi ile bazı hastalıklar arasında bir ilişki olduğunu vurgulayan bir çok çalışma olduğundan biz de HLA

antijenleri ile meme kanseri arasında bir ilişki kurabilme amaçlandı(30, 31, 32, 33, 34). 1970'lerden beri meme kanseri ile HLA ilişkisini inceleyen çeşitli çalışmalar yapılmıştır(48, 49, 50, 51, 52, 53, 54).

1979 yılında Subira ve ark. (63) çalışmasında HLA A9, HLA A10, HLA B14, HLA B27 haplotiplerinin frekansının normal popülasyona göre fazla olduğu saptanmıştır. Yokoe ve ark.(64) HLA A24 ve HLA Cw7 haplotiplerinin, bilateral meme kanseri bulunan hastalarda tek taraflı bulunan hastalara göre daha sık bulmuştur. Bununla birlikte ailesinde meme kanseri olanlarda herhangi bir spesifik HLA antijeni görülmemiştir. Goepel ve ark. (65) metastatik kolon ve meme kanserleri üzerine yapmış oldukları çalışmada HLA A2 ekspresyonunun meme kanserlerinin $\frac{3}{4}$ 'ünde ve tüm metastazlarında azalmış veya yok olduğunu saptamış, kolon karsinomunda ise tamamında HLA A2 ekspresyonunun yok ya da azaldığını saptamıştır. Linehan ve ark. (66) ise meme kanserli hastaların metastatik efüzyonlarından elde edilen tümör ilişkili lenfositlerin (TAL) sadece HLA A2'ye özel, tümör spesifik olduğunu belirlemiştir. Bu lenfositlerin tümör hücrelerini HLA A2 sayesinde tanıyıp, parçaladıklarını göstermiştir. Biswal ve ark. (67) HLA A2, A11, Aw19, A30; HLA-B8, B14 ve HLA Cw6 allellerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur. HLA-A11, HLA-Aw19 ve HLA-B8 allellerinin meme kanserine karşı koruyucu olduğu saptanmış, buna karşın HLA-A2, HLA-B14 ve HLA-Cw6 allellerinin meme kanseri için risk teşkil ettiği bulunmuştur. Patel ve ark. (68) ile İaffaioli ve ark. (69)'nın yapmış olduğu çalışma HLA B7 ile meme kanseri arasında anlamlı ilişki saptanarak, bu antijeni taşıyanlarda ortak özellikler menapoz öncesi durumu, hormon reseptörlerinin olmaması ve primer tümörün yüksek histolojik grade'e sahip olması şeklinde belirlenmiştir. Boulinelle ve ark. (70) yaptıkları çalışmada HLA A28 ile meme kanseri arasında anlamlı ilişki saptanmış, bu antijenin özellikle nullipar ve postmenapozal kadınlarda sık görüldüğünü saptamıştır.

Emekçioğlu ve ark. (26), HLA B7, B17, Bw50 ve DR4'ün meme kanseri ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Casoli ve ark. (49), HLA B7 ve DR4'ün, Lavado ve ark. (50) ise sadece HLA B7'nin meme kanseri ile anlamlı ilişkisini ortaya koymuştur. Chaudhuri ve ark. (51) HLA DRB1*1101, DQB1*03032 allellerinin meme kanserine karşı koruyucu olduğunu saptamışlar. Chen ve ark. (71) yaptıkları çalışmada HLA DQA1 ve HLA DQB1 ile meme kanseri arasında anlamlı ilişki tespit etmemişler.

Ghaderi ve ark. (52) HLA DRB1'deki 12.allel frekansı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Harrath ve ark. (53) ise HLA DRB1*07 ve HLA DRB1*02 allelleri ile meme kanseri arasında ters bağlantı saptamıştır.

Tümörün MHC ekspresyonu, immunoterapi sırasında, öncesinde veya sonrasında tedaviye yanıtında etkili olabileceği düşünülmüştür. Bir kaç çalışmada, premalign lezyonlarda veya tümör formasyonu için yüksek risk taşıyan dokularda, HLA Sınıf I ekspresyonu incelenmiştir. Böylece, ailesel ve sporadik kolon karsinogenezinde, HLA antijenlerinin adenomlarda olduğu kadar, adenoma yakın normal mukozada da azaldığı saptanmıştır(47). Madjd ve ark. (54) meme kanserli olgularda yaptığı çalışmada MHC Sınıf I'in total kaybının meme kanserlerinde iyi prognoz için bağımsız bir belirteç olduğunu tespit edilmiştir. HLA antijenlerinin ekspresyonu üzerine hormonların muhtemelen etkisi vardır ve tümörün davranışının düzenlenmesinde indirekt etkilidir. Gerçekte, ortama östrojen eklenmesinden sonra MCF-7 hücre hattında HLA Sınıf I ekspresyonu indüklenir(72, 73). Bununla beraber Renondo ve ark. (74) östrojen reseptörleri ve HLA Sınıf I antijenleri arasında anlamlı ilişki gösterememiştir. HLA A24 ve HLA Cw-7 haplotipi taşıyan hastalarda bilateral meme kanseri görülme riski, bu haplotipi taşımayanlardan 12 kat fazla bulunmuş.

Mammoglobulin A2 meme kanserli hastalardaki özel salınım gösterir. Bu nedenle bu molekül hastaların immunoterapisinde cazip bir hedeftir(75). Tanaka ve ark. (75) mammoglobulin A2 proteinindeki, HLA A2 ile sınırlı immunojenik T hücresi epitoplarını tanımlamışlar. Buldukları 7 mammoglobulin peptidinden 2'sinin T hücrelerini uyardığını tespit etmiştir. Mammoglobulin A kaynaklı peptid olan Mam 3'ün, mamamoglobulin A spesifik immunitiyi uyabileceğini ve böylece meme kanserli hastaların aşılmasında faydalı olabileceğini söylemiştir.

Bu çalışmada meme kanserli kadın hastalarda ve sağlıklı renal transplantasyon donör adaylarında PCR SSP yöntemi ile HLA doku tipi tayini yapıldı. Ulaştığımız sonuçlarda hasta grubunda HLA B22 ve HLA DR18 anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu iki HLA antijeninin meme kanseri yönünde bir yatkınlık sağladığı, kontrol grubunda anlamlı olarak fazla saptanan HLA B13 antijeninin ise koruyucu bir etkinliğinin olduğu düşünüldü.

Literatürde meme kanseri ve HLA antijenleri arasındaki ilişkiyi inceleyen diğer çalışmalarda HLA B22 antijeni ile meme kanseri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. HLA B22 antijeni ile ilişkili saptanan hastalıklar şunlardır:

HLA B22 radikal cerrahi yapılan mide kanserli hastalarda kötü prognostik faktör olarak saptanmıştır(76).

Nüks ALL hastalarında, kadınlarda HLA A1, HLA A32 ve HLA A33 ile birlikte HLA B22 anlamlı bulunmuştur(77).

Aktif pulmoner tüberküloz ile HLA B22 antijeni ilişkili saptanmıştır(78).

HLA B54, B55 ve B56'dan oluşan HLA B22 serogrupları HIV enfeksiyonu olan hastalarda hızlı ilerleyen hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Erken HIV enfeksiyonunda ortalama HIV RNA yükünün HLA B22 pozitif erkeklerde negatif olana nazaran daha yüksek olduğu saptanmıştır. HLA B22 pozitif olan serolojik taşıyıcılarda, bilinen progresyon belirteçlerinden bağımsız olarak AIDS gelişme zamanı daha kısa bulunmuştur(79).

HLA B22 normal popülasyona göre malign melanomlularda yüksek saptanmıştır. Bu hastaların histolojik regresyonu gösterdikleri tespit edilmiştir(80).

Psöriatik artritte HLA B 22'nin hastalık ilerlemesine karşı koruyucu olduğu saptanmıştır(81).

Literatürde meme kanseri ve HLA antijenleri arasındaki ilişkiyi inceleyen diğer çalışmalarda HLA B13 antijeni ile meme kanseri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Yapılan çalışmalarda HLA B13 ile ilişkili saptanan hastalıklar şunlardır:

Minimal değişimli nefrotik sendromda HLA A1, HLA B12 ve HLA B13 anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir(82).

HLA B13'e özelleşmiş, yeni tanımlanmış 6 tane sitotoksik T lenfosit (CD8) epitopu, vireminin kontrolü ile bağlantılı, esas glukozaminoglikan (Gag) spesifik CD8+ cevabına katkı sağlar(83).

HLA B13 sınırlı minimal CD8 epitopu olan RI9, iyi seyirli HIV enfeksiyonu ile bağlantılı bulunmuştur(84). Çin'de yapılan çalışmada HLA B13 ile vitiligonun tüm türleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır(85).

Akut pankreatit hastalarında yapılan çalışmada, aseptik pankeas nekrozu gösterenlerin %30'unda HLA B13 alleli bulunmuştur(86).

Goldsmith ve ark. (87) yaptığı çalışmada HLA A11,HLA B13, HLA B22 allellerinin nazofarengeal karsinomaya karşı koruyucu özellikte olduğu saptanmıştır. Buna karşın Mokni-Baizig ve ark. (88) ile Dardari ve ark. (89) yaptığı 2 ayrı çalışmada HLA B13 allelinin nazofarengeal karsinomuna yatkınlık sağladığını bulmuşlardır.

Literatürde meme kanseri ve HLA antijenleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda HLA DR18 antijeni ile meme kanseri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. HLA DR18 ile ilişkili hastalık:

Erkan ve ark. (90) yaptıkları çalışmada HLA A25, HLA B8, HLA DR18 ve HLA DQ2 antijenlerinin çölyak hastalarında, normal popülasyona göre daha sık görüldüğü saptanmıştır.

Literatürlerdeki diğer çalışmalar ile elde edilen sonuçlar herhangi bir ortak antijen üzerinde buluşmamaktadır. Ancak sebebi hasta sayısının düşüklüğü ve çalışmaların azlığı gibi gözükmektedir. Sonuçlar değerlendirildiğinde HLA B22 ve HLA DR18 pozitif olan ve beraberinde başka risk faktörü olan kişiler meme tümörü açısından risk grubundadır ve bunlar göz önüne alınarak takip ve tetkikleri planlanmaktadır.

SONUÇ

Meme kanserinin erken tanı ve tedavisi ilerleyen teknoloji ile genetik bilimindeki ilerlemelere paralel hızla gelişmektedir. Buna rağmen gelişmiş ülkelerde kadınlarda kanserden ölümlerin halen en sık sebebi meme kanseridir. Çalışmada meme kanserinde erken tanı ve immunoterapi için incelenen çeşitli belirteçlerden biri olan HLA antijeni PCR-SSP yöntemi ile incelendi ve şunlar tespit edildi:

- HLA B22 ve HLA DR18 antijenleri meme kanserli hastalarda yüksek bulundu.
- HLA B13 antijeni ise kontrol grubunda yüksek bulundu.

Bu doğrultuda meme kanseri gelişiminde risk faktörleri olarak belirtilen önemli allelleri değerlendirmek için meme kanseri riski taşıyan farklı populasyonlarda HLA allel frekanslarının araştırılması, HLA'nın çeşitli alt gruplarının karşılaştırmalı olarak incelenmesi gerektiği ortaya çıkmıştır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. World Health Report 2001. Mental Health: New Understanding. New Hope. Geneva: WHO 2001.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108.
3. Chen PC, Tsai EM, Er TK, Chang SJ, Chen BH. HLA-DQA1 and -DQB1 allele typing in southern Taiwanese women with breast cancer. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 611-614.
4. Emekçioğlu S, Altun M, Sönmez G, Hamizade N.M, Çarin N. Meme Kanserlerinde HLA Antijenlerinin Dağılımı. *Türk Onkoloji Dergisi* 1989; 4: 774-777.
5. Hawkins OE, Vangundy RS, Eckerd AM, Bardet W, Buchli R, Weidanz JA, Hildebrand WH. Identification of breast cancer peptide epitopes presented by HLA-A*0201. *J Proteome Res* 2008; 7: 1445-1457.
6. Greun JR, Weissman SM. Evolving views of the major histocompatibility complex. *Blood* 1997; 90: 4252-4265.
7. Humar A, Dunn D. Transplantation. Ed: F.C Brunicardi. *Schwartz's Principles of Surgery*, 8th edition. The McGraw-Hill Companies, Inc; New York USA 2008; 295-333.
8. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992; 39: 225-235.
9. Çarin M. Transplantasyon İmmunolojisi (HLA sistemi). *Klinik Gelişim Dergisi* 1997; 10: 7-11.
10. Gürtekin M, Aydın F, Oğuz FS. Kemik iliği nakli yapılacak hastaya verici seçilmesinde karışık lenfosit kültür testi ve genotiplemenin uyumu. *Klinik Gelişim Dergisi* 1997; 10: 12- 16.

11. Sebik F. HLA sistemi. *Aktüel Tıp Dergisi* 1998; 3: 86-89.
12. Snell GD. Studies in histocompatibility. *Science* 1981; 213: 172-178.
13. Kim YK, Oh SY, Oh HB, Lee BJ, Son JW, Cho SH, Kim YY, Min KU. Positive association between HLA-DRB1*07 and specific IgE responses to purified major allergens of *D. pteronyssinus* (Der p 1 and Der p 2). *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 88: 170-4.
14. Abbas AK, Lichtman JS. Ed: A.K Abbas. *Cellular and molecular immunology*. W.B.Saunders, Philadelphia USA. 2nd. Ed. 1994; 102-114.
15. Stites DP, Terr AI. Ed: D.P Stites. *Basic and clinical immunology*, 7th edition. Appleton and Lange, Stanford California USA 1991; 102-103.
16. Lobo PI, Spencer CE, Isaacs RB, McCullough C. Hyperacute renal allograft rejection from anti-HLA class 1 antibody to B cells--antibody detection by two color FCXM was possible only after using pronase-digested donor lymphocytes. *Transpl Int* 1997; 10:69-73.
17. Ikuta Y, Katayama N, Wang L, Okugawa T, Takahashi Y, Schmitt M, Gu X, Watanabe M, Akiyoshi K, Nakamura H, Kuribayashi K, Sunamoto J, Shiku H. Presentation of a major histocompatibility complex class 1-binding peptide by monocyte-derived dendritic cells incorporating hydrophobized polysaccharide-truncated HER2 protein complex: implications for a polyvalent immuno-cell therapy. *Blood* 2002; 99: 3717-3724.
18. Bainbridge DR, Ellis SA, Sargent IL. HLA-G suppresses proliferation of CD4(+) T-lymphocytes. *J Reprod Immunol* 2000; 48:17-26.
19. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Antigen processing and presentation to T lymphocytes. Ed: A.K Abbas. *Cellular and Molecular Immunology*, WB Saunders Comp. Philadelphia USA, Second ed. 1994; 115-135.
20. Bartlett PF, Kilpatrick TJ. *Neuroimmunology of demyelinating disease. Current opinion in neurology and neurosurgery* 1991; 4:181-185.
21. Altıntaş A, Kantarcı O, Siva A. Otoimmun nörolojik hastalıklarda tedavi stratejileri. *Türk Nörol. Derg.* 1996; 2: 70-78.
22. Roitt I, Brostoff J, Male D. Regulation of the immune response. Ed: I.M Roitt. *Immunology*. Mosby-Year Book Europa Ltd. London, 1993; 1-13.

23. Edidin M. Function by association? MHC antigens and membrane receptor complexes. *Immunology Today* 1988; 9: 218-219.
24. Temiz N. Akdeniz Bölgesinde HLA (Human Leucocyte Antigen) Tipleri ve Sıklığının Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, K.S.Ü Kahramanmaraş, 2008.
25. Yiğitbaş E, Bek D, Kansu E. Transplantasyon İmmunobiyolojisi. Ed: İ Sayek. *Temel Cerrahi*, 3.Baskı. Güneş Tıp Kitapevi Ltd. Şti. Ankara, 2004; 747-751.
26. Emekçioğlu S, Altun M, Sönmez G, Hamizade N.M, Çarin N. Meme Kanserlerinde HLA Antijenlerinin Dağılımı. *Türk Onkoloji Dergisi* 1989; 4: 774-777.
27. Baykal A, Şahin AA. Meme Hastalıklarının Patolojisi ve Moleküler Biyolojisi . Ed: İ Sayek. *Temel Cerrahi*, 3.Baskı. Güneş Tıp Kitapevi Ltd.Şti. Ankara, 2004; 929- 942.
28. Bland KI, Beenken SW, Copeland III EM. *The Breast*. Ed: F.C Brunicaudi. *Schwartz's Principles of Surgery*, 8th edition. The McGraw-Hill Companies, Inc; USA 2008; 453-501.
29. Allred DC, Clarck GM, Elledge R. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 176-177.
30. Wilson GA, Duff WG. Genetics traits in common disease. *BMJ* 1995; 310: 1482-1483.
31. Stokes PL, Asquith P, Holmes GKT, Mackintosh P, Cooke WT. Histocompatibility Antijens associated with adult coeliac disease. *Lancet* 1972; 2: 162-164.
32. Lee FI, Bellory SV, Francis C. Increased occurrence of psoriasis in patients with Crohn's disease and their relatives. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 962-963.
33. Yates VM, Watkinson G, Kelman A. Further evidence for an association between psoriasis, Crohn's disease and ulcerative colitis. *Br J Dermatol* 1982; 106: 323-330.

34. Hafez MM, El-Wehedy GF, El-Kholy NM, El-Shawaf IM, Mahmoud MEA, Gamil TM. The value of HLA phenotypes in the prognosis of Hodgkin's lymphoma. *Int J Cancer* 1985; 26: 19- 22.
35. Bilir M, Apaydın BB, Yılmaz E, Zengin AK, Köksal S, Taşkın M, Kayabaşı B, Erdoğan E. Kan Grupları, HLA B5 ve HLA B12 Antijenleri ile Duodenal Ülser Arasındaki İlişki. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 472-476.
36. Yılmaz E, Apaydın H, Özekmekçi S, Ertan S, Erkol G. Relationship Between Parkinson's Disease and HLA Antigens in Turkish Patients. *Tissue Antigens* 2002; 60: 554-554.
37. Golimbu M, Sperber A. Renal cell carcinoma: Survival and prognostic factors. *Urology* 1986; 27: 291.
38. Salerno C, Crepaldi T, Savio P, Richard P. Expression of HLA Class 2 antigens in human tumors and their involvement in tumor growth. *Ric Klin Lab.* 1990; 20: 85-93.
39. Primme SS, Pitigala-Arachi A, Crane IJ. The ekspression of the cell surface MHC Class I heavy and light chain molecules in premalignant and malignant lesions of the oral mukoza. *Histopathology* 1987; 11: 81-91.
40. Bontkes HJ, Walboomers JMM, Meijer CJLM. Specific HLA class I down-regulation is an early event in cervical dysplasia associated with clinical progression. *Lancet* 1998; 351:187-188.
41. Levin I, Klein T, Goldstein J. Expression of class I histocompatibility antigens transitional cell cacinoma of the urine bladder in relation to survival. *Cancer* 1991; 68: 2591- 2594.
42. Shinozaki T, Shimizu T, Watanabe H, Yanagawa T, Talagiski K. HLA phenotypes in siblings with osteosarcoma. (Abstract) *Arch Ortop Trauma Surg* 2000; 120: 343-345.
43. Tabacchi P, Chiricolo M, Cenci M, Barboni F, Mafrini M, Bacci G, Picci P. Frequency and prognostic value of HLA antigens in osteosarcoma patients. *Tissue Antigens* 1982; 20: 251-253.

44. Feenstra M, Bakema J, Twed J, Verdaasdonk M, Rozenmüller J. Detection of a putative HLA-A31012 processed pseudogene in a laryngeal squamous cell carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2000; 27: 26-34.
45. İpek T, Kayabaşı B, Yılmaz E, Köksal H, Kubat A, Apaydın B. Sindirim Sistemi Karsinomlarında HLA Antijenleri. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 1996; 12: 119-122.
46. de Jong MM, Niens M, Nolte IM, te Meerman GJ, van der Graaf WT, Mulder MJ, van der Steege G, Bruinenberg M, Schaapveld M, Sijmons RH, Hofstra RM, de Vries EG, Kleibeuker JH. The human leukocyte antigen region and colorectal cancer risk. *Dis Colon Rectum* 2005; 48:303-306.
47. Rolland P, Deen S, Scott I, Durrant L, Spendlove I. Human leukocyte antigen class I antigen expression is an independent prognostic factor in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 15: 3591-3596.
48. Weiss GB, Nawrocki LD, Daniels JC. HLA type and survival in lung cancer. *Cancer* 1980; 46: 28-40.
49. Casoli C, Zanelli P, Adorni A, Starcich BR, Neri T. Serological and molecular study on the HLA phenotype of female breast cancer patients. *Eur J Cancer* 1994;30: 1207-1208.
50. Lavado R, Benavides M, Villar E, Ales I, Alonso A, Caballero A. The HLA-B7 allele confers susceptibility to breast cancer in Spanish women. *Immunol Lett* 2005; 101: 223-225.
51. Chaudhuri S, Cariappa A, Tang M, Bell D, Haber DA, Isselbacher KJ. Genetic susceptibility to breast cancer: HLA DQB1 *03032 and HLA DRB1*11 may represent protective alleles. *PNAS* 2000; 97: 11451-11454.
52. Ghaderi A, Talei A, Gharesi-Fard B, Farjadian SH, Amirzargar A, Vasei M. HLA-DBR 1 alleles and the susceptibility of Iranian patients with breast cancer. *Pathol Oncol Res* 2001;7: 39-41.
53. Harrath AC, Loueslati BY, Troudi W, Hmida S, Sedkaoui S, Ayed FB, Rhomdhane KB, Elgaaiied ABA. HLA class II polymorphism: Protective or risk factors to breast cancer in Tunisia. *Pathology Oncology Research* 2006; 12: 79-81.

54. Madjd Z, Spendlove I, Pinder SE, Ellis IO, Durrant LG. Total loss of MHC class I is an independent indicator of good prognosis in breast cancer. *Int J Cancer* 2005; 117: 248-255.
55. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure of extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 1215.
56. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992; 39: 225-235.
57. Çarın M. Transplantasyon İmmunolojisi (HLA sistemi). *Klinik Gelişim Dergisi* 1997; 10: 7-11.
58. Gürtekin M, Aydın F, Oğuz FS. Kemik iliği nakli yapılacak hastaya verici seçilmesinde karışık lenfosit kültür testi ve genotiplenimin uyumu. *Klinik Gelişim Dergisi* 1997; 10: 12-16.
59. Bateman AC, Howell WM. Human leukocyte antigens and cancer: is it in our genes?. *J Pathol* 1999; 188: 231-236.
60. Buszello H, Ackermann R. Expression of HLA class 1 antigens on renal cell carcinoma and non-transformed renal tissue. *Eur Urology* 1992; 21: 70-74.
61. Gudmundstottir I, Gunnlaugur JJ, Sigurdsson H, Olafsdottir K, Truyggvadottir L. Altered expression of HLA class 2 antigens in breast cancer: Association with prognosis. *Int J Cancer* 2000; 89: 500-505.
62. Garrido F, Cabello FR, Cabrera T, Keen MD, Botet ML. Implications for immunosurveillance of altered HLA class 1 phenotypes in human tumours. *Review Immunology Today* 1997; 18: 89-98.
63. Subirá ML, Crisci CD, Zornoza G, Sanz ML, Voltas J, Hernández JL, Oehling A. Breast cancer and histocompatibility antigens. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1979; 7: 411-416.
64. Yokoe T, Ishida T, Ogawa T, Iino Y, Izuo M. Relationship of breast cancer and HLA in Japanese females. (Abstract) *Gan No Rinsho* 1990; 36: 29-33.

65. Goepel JR, Rees RC, Rogers K, Stoddard CJ, Thomas WE, Shepherd L. Loss of monomorphic and polymorphic HLA antigens in metastatic breast and colon carcinoma. *Br J Cancer* 1991; 64: 880-883.
66. Linehan DC, Goedegebuure PS, Peoples GE, Rogers SO, Eberlein TJ. Tumor-specific and HLA-A2-restricted cytotoxicity by tumor-associated lymphocytes in human metastatic breast cancer. *J Immunol.* 1995; 155: 4486-4491.
67. Biswal BM, Kumar R, Julka PK, Sharma U, Vaidya MC. Human leucocytic antigens (HLA) in breast cancer. *Indian J Med Sci* 1998; 52: 177-183.
68. Patel R, Habal MB, Wilson RE, Birtch AG, Moore HD. Histocompatibility antigens and cancer of the breast. *Am J Surg* 1972; 124: 34-43.
69. Iaffaioli RV, Maio M, Ruggiero G, De Felice M, Ungora A, Del Vecchio L, Rosato GB, Bianco AR, Zappacosta S. HLA and prognostic factors in primary breast carcinoma. *Int J Cancer* 1985; 35: 581-585.
70. Bouillenne C, Deneufbourg JM. Positive correlation between breast cancer incidence and HLA antigens. *Oncology* 1979; 36: 156-159.
71. Chen PC, Tsai EM, Er TK, Chang SJ, Chen BH. HLA-DQA1 and -DQB1 allele typing in southern Taiwanese women with breast cancer. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 611-614.
72. Rodriguez F, Peran F, Garrido F. Up-modulation by estrogen of HLA class I expression in breast tumor cell lines. *Immunogenetics* 1994; 39: 161-167.
73. Teh M, Hui KM. Modulation of MHC gene expression in human breast carcinoma cells by hormones. *J Immunogenet* 1989; 6: 397-405.
74. Redondo M, García J, Villar E, Rodrigo I, Perea-Milla E, Serrano A, Morell M. Major histocompatibility complex status in breast carcinogenesis and relationship to apoptosis. *Hum Pathol* 2003; 34: 1283-1289.
75. Tanaka Y, Amos KD, Fleming TP, Eberlein TJ, Goedegebuure PS. Mammaglobin-A is a tumor-associated antigen in human breast carcinoma. *Surgery* 2003; 133: 74-80.
76. Korotkova Iu, Egorov DN, Solov'eva IG, Cherenkova MM, Vardosanidze KV, Abramov VV, Konenkov VI. Immunogenetic prognosis and long-term

- results of surgery for gastric cancer. (Abstract) *Vopr Onkol* 2005; 51:672-679.
77. Ng MH, Lau KM, Hawkins BR, Chik KW, Chan NP, Wong WS, Tsang KS, Shing MM, Li CK. HLA-B67 may be a male-specific HLA marker of susceptibility to relapsed childhood ALL in Hong Kong Chinese and HLA-A33 or HLA-B17 signifies a higher presentation leukocytosis: A retrospective analysis on 53 transplant candidates(1989-2003). *Ann Hematol* 2006; 85: 535-541.
 78. Gergert VIa, Valiev RSh, Chukanova VP, Pospelov LE, Malenko AF, Valiev NR. Distribution of HLA antigens in patients with tuberculosis and healthy individuals in the Tatar population. (Abstract) *Probl Tuberk Bolezn Legk* 2004; 8: 45-46.
 79. Dorak MT, Tang J, Tang S, Penman-Aguilar A, Coutinho RA, Goedert JJ, Detels R, Kaslow RA. Influence of human leukocyte antigen-B22 alleles on the course of human immunodeficiency virus type 1 infection in 3 cohorts of white men. *J Infect Dis* 2003; 188: 856-863.
 80. Lowes MA, Dunckley H, Watson N, Crotty K, Cooke B, Barnetson RS, Halliday GM. Regression of melanoma, but not keratoacanthoma, is associated with increased HLA-B22 and decreased HLA B27 and HLA-DR1. (Abstract) *Melanoma Res* 1999; 9: 539-544.
 81. Gladman DD, Farewell VT, Kopciuk KA, Cook RJ. HLA markers and progression in psoriatic arthritis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:846-850.
 82. Donia AF, Ismail AM, Moustafa Fel-H. HLA class I typing in Egyptian childhood minimal change nephrotic syndrome. *J Nephrol* 2008; 21: 734-737.
 83. Honeyborne I, Prendergast A, Pereyra F, Leslie A, Crawford H, Payne R, Reddy S, Bishop K, Moodley E, Nair K, van der Stok M, McCarthy N, Rousseau CM, Addo M, Mullins JI, Brander C, Kiepiela P, Walker BD, Goulder PJ. Control of human immunodeficiency virus type 1 is associated

with HLA-B*13 and targeting of multiple gag-specific CD8+ T-cell epitopes. *J Virol* 2007; 81: 3667-3672.

84. Harrer EG, Bergmann S, Eismann K, Rittmaier M, Goldwisch A, Müller SM, Spriewald BM, Harrer T. A conserved HLA B13-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope in Nef is a dominant epitope in HLA B13-positive HIV-1-infected patients. *AIDS* 2005; 19:734-735.
85. Xia Q, Zhou WM, Liang YH, Ge HS, Liu HS, Wang JY, Gao M, Yang S, Zhang XJ. MHC haplotypic association in Chinese Han patients with vitiligo. (Abstract) *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006; 20: 941-946.
86. Krivoruchko IA, Boiko VV, Pesotskii ON, Shevchenko RS, Klimova EM, Drozdova LA. The role of immune disorders in formation of local and systemic complications of severe acute pancreatitis. *Klin Khir* 2003; 2:20-24.
87. Goldsmith DB, West TM, Morton R. HLA associations with nasopharyngeal carcinoma in Southern Chinese: a meta-analysis. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 2002; 27: 61-67.
88. Mokni-Baizig N, Ayed K, Ayed FB, Ayed S, Sassi F, Ladgham A, Bel Hadj O, El May A. Association between HLA-A/-B antigens and -DRB1 alleles and nasopharyngeal carcinoma in Tunisia. *Oncology* 2001; 61:55-58.
89. Dardari R, Khyatti M, Jouhadi H, Benider A, Ettayebi H, Kahlain A, Mansouri A, El Gueddari B, Benslimane A. Study of human leukocyte antigen class I phenotypes in Moroccan patients with nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer* 2001; 92: 294-297.
90. Erkan T, Kutlu T, Yilmaz E, Cullu F, Tümay GT. Human leukocyte antigens in Turkish pediatric celiac patients. *Turk J Pediatr* 1999; 4: 181-188.