



**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TURGUT ÖZAL TIP MERKEZİ
DOKU TİPLEME LABORATUVARI'NA BAŞVURAN
BİREYLERİN, İNSAN LÖKOSİT ANTİJEN
ALLELLERİNİN VE HAPLOTİPLERİNİN FREKANSLARI**

Fatma TEMEL

İMMÜNOHEMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Mehmet Ali ERKURT**

Yüksek Lisans Tezi- 2022

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

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TURGUT ÖZAL TIP MERKEZİ DOKU TİPLEME
LABORATUVARI'NA BAŞVURAN BİREYLERİN, İNSAN LÖKOSİT
ANTİJEN ALLELLERİNİN VE HAPLOTİPLERİNİN FREKANSLARI**

Fatma TEMEL

**İmmünohematoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Mehmet Ali ERKURT**

**MALATYA
2022**

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak “Prof. Dr. Mehmet Ali ERKURT” danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Doku Tipleme Laboratuvarı'na Başvuran Bireylerin, İnsan Lökosit Antijen Allellerinin Ve Haplotiplerinin Frekansları” başlıklı Yüksek Lisans/Doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

...../...../20...

Fatma TEMEL
İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnsan Lökosit Antijeni (Human Leucocyte Antigen-HLA).....	3
2.2. HLA'nin Antijen Sınıflandırması.....	3
2.2.1. Sınıf I Antijenleri	3
2.2.2. Sınıf II Antijenleri.....	4
2.2.3. Sınıf III Antijenleri	6
2.2.4. Sınıf IV Antijenleri	7
2.3. HLA Antijenlerinin Özellikleri.....	7
2.3.1. HLA Toplum ve Özel Antijenler	7
2.3.2. Dengesiz Bağlantı (Linkage Disequilibrium).....	8
2.3.3. İmmun Cevap Genleri.....	8
2.4. HLA Antijenlerinin Kalıtımı	8
2.5. HLA Antijenlerinin Diğer Kullanım Alanları	10
2.6. HLA ve Hastalık İlişkisi	10
2.7. HLA'nın Temel Klinik Uygulamaları	11
2.8. Majör Histokompatibilite Kompleksi	12
2.9. HLA Tiplendirimi	13
2.9.1. Yeni Nesil Dizilimi HLA Tiplemeesi.....	14
2.10. HLA Haplotipleri	16
3. MATERYAL VE METOD.....	19
3.1. Araştırmanın Modeli.....	19
3.2. Çalışma Gurubu	19
3.3. Verilerin Toplanması	19
3.4. Verilerin Analizi	19
4. BULGULAR.....	20
5. TARTIŞMA	29

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	32
6.1. Sonuç	32
6.2. Öneriler	32
KAYNAKLAR	33
EKLER.....	41
EK 1. Özgeçmiş	41
EK 2. Çalışma İzin Belgesi.....	42
EK 3. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Karar Formu.....	43



TEŐEKKÜR

Bu çalıőmamın gerçekleőmesine katkılarından dolayı Hematoloji Bۆlümü Ana Bilim Dalı Baőkanı aynı zamanda Doku Tipleme laboratuvarı sorumlusu ve tez hocam; Prof. Dr. Mehmet Ali ERKURT'a teőekkür ederim.



ÖZET

İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Doku Tipleme Laboratuvarı'na Başvuran Bireylerin, İnsan Lökosit Antijen Allellerinin ve Haplotiplerinin Frekansları

Amaç: Bu çalışmanın amacı, Malatya İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Doku Tipleme Laboratuvarında 2020 yılında doku tipleme çalışılan hasta ve donörlerin Yeni Nesil Sekanslama (Next Generation Sequencing-NGS) yöntemi ile HLA allel ve haplotip frekanslarının belirlenmesidir.

Materyal ve Metod: Malatya İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Doku Tipleme Laboratuvarında 2020 yılında doku tipleme çalışılan 1081 kişiden oluşan hasta ve donörlerin Yeni Nesil Sekanslama (Next Generation Sequencing-NGS) yöntemi ile HLA allel ve haplotip frekanslarının belirlenmesi amacıyla çalışma grubuna dahil edilmiştir. Yeni Nesil Sekanslama (Next Generation Sequencing) yöntemi ile bireylerin Human Leucocyte Antigeni allel ve haplotip frekansları belirlenmiştir.

Bulgular: Çalışmada HLA*A, HLA*B, HLA*C', HLA*DP, HLA*DQ, HLA*DRB1'de en sık görülen alleller tespit edilerek HLA*A, HLA*B, HLA*C, HLA*DP, HLA*DQB1 ve HLA*DRB1 genindeki haplotip frekansları incelenmiştir.

Sonuç: Çalışma sonucunda HLA*A'da en sık görülen üç allel 2402, 0201 ve 1101, HLA*B'da en sık görülen üç allel 5101, 3501 ve 3503, HLA*C'da en sık görülen üç allel 0401, 0701 ve 1203, HLA*DP'de en sık görülen üç allel 0401, 0201 ve 0402, HLA*DQ'da en sık görülen üç allel 0301, 0501 ve 0201, HLA*DRB1'de en sık görülen üç allel 1104, 0301 ve 1101 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca HLA*A genindeki haplotip frekansı 0,403, HLA*B genindeki haplotip frekansı 0,333, HLA*C genindeki haplotip frekansı 0,409, HLA*DP genindeki haplotip frekansı 0,705, HLA*DQB1 genindeki haplotip frekansı 0,469, HLA*DRB1 genindeki haplotip frekansı 0,331 bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Allel frekansı, İnsan Lökosit Antijen, Haplotip, Popülasyon

ABSTRACT

Frequencies of Human Leukocyte Antigen Alleles and Haplotypes of Individuals Applying to İnönü University Turgut Özal Medical Center Tissue Typing Laboratory

Aim: The aim of this study is to determine the HLA allele and haplotype frequencies of patients and donors whose tissue typing was studied in Malatya İnönü University Turgut Özal Medical Center Tissue Typing Laboratory in 2020 by Next Generation Sequencing (NGS) method.

Material and Method: In order to determine the HLA allele and haplotype frequencies with the Next Generation Sequencing (NGS) method, patients and donors consisting of 1081 people whose tissue typing was studied in Malatya İnönü University Turgut Özal Medical Center Tissue Typing Laboratory in 2020 were included in the study group. Human Leucocyte Antigen allele and haplotype frequencies of individuals were determined by Next Generation Sequencing method.

Results: In the study, the most common alleles in HLA*A, HLA*B, HLA*C', HLA*DP, HLA*,DQ, HLA*DRB1 were determined and HLA*A, HLA*B, HLA*C, HLA*DP The haplotype frequencies in the DQB1 and HLA*DRB1 genes were examined.

Conclusion: As a result of the study, the three most common alleles in HLA*A are 2402, 0201 and 1101, the three most common alleles in HLA*B are 5101, 3501 and 3503, the three most common alleles in HLA*C are 0401, 0701 and 1203. The three most common alleles in HLA*DP were 0401, 0201 and 0402, the three most common alleles in HLA*DQ were 0301, 0501 and 0201, and the three most common alleles in HLA*DRB1 were 1104, 0301 and 1101. In addition, the haplotype frequency in the HLA*A gene was 0.403, the haplotype frequency in the HLA*B gene was 0.333, the haplotype frequency in the HLA*C gene was 0.409, the haplotype frequency in the HLA*DP gene was 0.705, the haplotype frequency in the HLA*DQB1 gene was 0.469, and the haplotype frequency in the HLA*DRB1 gene was 0.331.

Keywords: Allele frequency, Human Leukocyte Antigen, Haplotype, Population

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ADR	: Olumsuz İlaç Reaksiyonları
APC	: Antijen Sunan Hücreler (Antigen Presenting Cells)
FNHTR	: Ateşli Hemolitik Olmayan Transfüzyon Reaksiyonları
GvHD	: Graft Versus Host Hastalığı
HLA	: İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigens)
LD	: Bağlantı Dengesizliği
MHC	: Majör Histokompatibilite Kompleksi Major Histocompatibility Complex Gen Region
NGS	: Yeni Nesil Sekanslama (Next Generation Sequencing)
PCR-SSO	: PCR Tabanlı Sekans Spesifik Oligonükleotid Problar
PCR-SSP	: PCR Tabanlı Sekans Spesifik Primer Analiz Tekniği
TED	: Tüm Ekzom Dizileme
TRALI	: Transfüzyonla İlişkili Akut Akciğer Hasarı
YND	: Yeni Nesil Dizileme

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Sınıf I ile Sınıf II HLA moleküllerin şematik yapısı.....	6
Şekil 2.2. MHC sınıf I, II, III ve IV bölgelerin yerleşimi.....	7
Şekil 2.3. HLA antijenlerinin Kalıtımı	9



TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. HLA allellerini tanımlarken kullanılan terminoloji	14
Tablo 4.1. HLA*A genine ait frekanslar.....	20
Tablo 4.2. HLA*B genine ait frekanslar	21
Tablo 4.3. HLA*C genine ait frekanslar	23
Tablo 4.4. HLA*DP genine ait frekanslar	24
Tablo 4.5. HLA*DQB1 genine ait frekanslar	25
Tablo 4.6. HLA*DRB1 genine ait frekanslar	26
Tablo 4.7. HLA*A genine ait en sık görülen 2402/0201/1101 haplotip frekansı.....	27
Tablo 4.8. HLA*B genine ait en sık görülen 5101/3501/3503 haplotip frekansı	27
Tablo 4.9. HLA*C genine ait en sık görülen 0401/0701/1203 haplotip frekansı	27
Tablo 4.10. HLA*DP genine ait en sık görülen 0401/0201/0402 haplotip frekansı.....	28
Tablo 4.11. HLA*DQB1 genine ait en sık görülen 0301/0501/0201 haplotip frekansı.....	28
Tablo 4.12. HLA*DRB1 genine ait en sık görülen 1104/0301/1101 haplotip frekansı.....	28

1. GİRİŞ

Çalışmamızda Malatya İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Doku Tipleme Laboratuvarına başvuran bireylerin HLA allel ve haplotip frekansları belirlenecektir. Ulusal ve Uluslararası çalışmalarda bu konuda çeşitli araştırmalar bulunmaktadır (1)

İlk kez lökositlerde gösterilmiş olmalarından dolayı "İnsan Lökosit Antijenleri-Human Leukocyte Antigens (HLA)" olarak adlandırılan, HLA antijenlerinin oluşması, organizmada "Majör Histokompatibilite kompleksi-Major Histocompatibility Complex Gen Region (MHC)" adı verilen bir gen bölgesinin kontrolü altındadır. Üç ana gruba ayrılan bu bölgede MHC Sınıf-I (HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G), MHC Sınıf-II (HLA-DR, -DP, -DQ, -DO, -DN) ve MHC Sınıf-III (C2, C4A, C4B, PF, TNF- α , β) antijenleri yer almaktadır. MHC gen bölgesinin her lokusunda her biri farklı HLA antijenlerinden sorumlu allel genler bulunur. HLA allelleri ve ürünleri HLA antijeni olarak ifade edilirler. HLA antijenleri mobildirler. HLA antijenini kaybetmiş lenfositler 6 saat içerisinde bunu yeniden sentezleyebilirler. HLA antijenlerinin tayini, antropolojik araştırmalarda kullanılmıştır. En önemli kullanım yeri doku ve organ transplantasyonlarında, doku uygunluğunun araştırılmasıdır. Babalık tayininde, kan grubu antijenleri ile birlikte kullanılabilir. Son zamanlarda üzerinde en çok çalışılan konu HLA antijenlerinin hastalıklarla olan bağlantısıdır. Belirli HLA tipleri bazı hastalıklarda yüksek sıklıkta görülmektedir. Yapılan çalışmalar, insanlarda enfeksiyonlara yatkınlıktan, konağın genetik faktörlerinin sorumlu olduğunu, patojen antijenlere karşı hücrel ve humoral immün cevapta yüksek kalıtım söz konusu olduğunu göstermiştir. (2)

Bir popülasyonun HLA allel sıklığının tespit edilmesi, Ulusal Donör Bankalarının nakil aşamasında olan hastalara uygun donörlerin bulunması açısından programlı bir şekilde çalışmasını sağlar. Dahası bu uygun donörleri hızlı bir şekilde bulmaya yardımcı olur, bu sayede nakiller için bekleme listelerini kısaltır ve böylece alıcılar arasında hayatta kalma oranlarını artırır. (3)

HLA, transplantasyon ve hastalıklara yatkınlık veya dirençteki rolüne ek olarak allellerin sıklığı etnik gruplar arasında değiştiğinden, antropolojik çalışmalar içinde önemlidir. Örneğin, HLA-B*35 en çok Kafkasyalılarda bulunurken, HLA-B*15 Afrikalılarda yaygındır. (4)

Ayrıca olumsuz ilaç reaksiyonları (ADR'ler) sağlık hizmetlerinde yaygın ve dezavantajlı bir durum teşkil etmektedir. Günümüzde yapılan bir dizi çalışma, ADR'lerin güçlü genetik yatkınlığa sahip olduğunu göstermiştir. Birkaç ilaç tarafından indüklenen ADR'lerin, insan lökosit antijen (HLA) genlerinin spesifik allelleri ile önemli ilişkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Örneğin, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan bir ilaç olan abakavire karşı aşırı duyarlılığın, HLA-B geninin 57:01 alleli ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. (5)

Yeni Nesil Dizileme Metodunun bulunması ile nakil yapılacak olan hastayla akraba olmayan ve HLA'ları uygun olan donörler belirlenir, böylece başarılı bir nakil gerçekleşir olur. (6)

Graft-versus-host hastalığı (GVHD), başarılı allojenik kök hücre transplantasyonunun önünde büyük bir engeldir. Bu nedenle, daha düşük bir GVHD riskine sahip alternatif bir donörün belirlenmesi, HLA-özdeş kardeş donörü olmayan hastalar için önemlidir. HLA-DPB1 uyumsuzluğu hayatta kalmayı etkilemez; ancak, lösemilerin nüksetme olasılığını azaltır. Yeni nesil dizilemenin (NGS) geliştirilmesi, tam uzunlukta HLA allel tiplemesini mümkün kılmıştır. Tüm HLA-DPB1'in evrimsel analizi, ekson 3 ile 3'UTR'den oldukça korunmuş bir bölgenin, ekson 2 polimorfizmlerini yansıtan bir T hücresi epitop uyumsuzluğu algoritmasından farklı olan akut GVHD'yi tetiklediğini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, yakın zamanda yapılan bir çalışma, UR-HSCT sonuçları üzerinde tam uzunlukta NGS HLA tiplemesinin önemini göstermiştir. NGS'nin kullanımı, allojenik kök hücre naklinde HLA genlerinin etkileri hakkında önemli bilgiler sağlayabilir. (6)

Bu çalışmanın amacı, Malatya İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Doku Tipleme Laboratuvarında 2020 yılında doku tiplemesi çalışılan hasta ve donörlerin Yeni Nesil Sekanslama (Next Generation Sequencing-NGS) yöntemi ile HLA allel ve haplotip frekanslarının belirlenmesidir. Aynı zamanda, HLA allel sıklığı tespit edilen hasta ve sağlıklı bireylerin HLA-hastalık ilişkisi bakımından bölgesel verilerin analizleri açısından da faydalı olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnsan Lökosit Antijeni (Human Leucocyte Antigen-HLA)

İnsan lökosit antijeni, immünolojinin uzmanlaşmış dalı olan Ana (HLA) sistemi, peptitlerin bağışıklık sistemine sunulmasında ve hücrel ve humoral bağışıklığın koordine edilmesinde rol oynar (7). HLA sisteminin hem hematopoietik kök hücre hem de böbrek nakli dahil katı organ nakillerinde nakillerde büyük rolü vardır (8). Ayrıca trombosit refrakterliği, ateşli hemolitik olmayan transfüzyon reaksiyonları (FNHTR'ler), transfüzyonla ilişkili akut akciğer hasarı (TRALI) ve transplant ve transfüzyonlarla ilişkili graft versus host hastalığı (GvHD) gibi transfüzyonla ilişkili problemlerde de önemlidir. İnsan kromozomu 6 üzerindeki genetik sistemi ve beyaz hücre yüzey zarlarında bulunan protein ürünlerini içerir. HLA lokusları, majör histo-uyumluluk kompleksi (MHC) olarak bilinen genetik bölgenin bir parçasıdır. MHC, bağışıklık tepkisinin normal işlevinin ayrılmaz bir parçası olan genlere (HLA dahil) sahiptir (9).

HLA antijenleri, yalnızca kırmızı hücrelerden ziyade vücudun dokularının çoğunda bulunur; HLA tiplmesi aynı zamanda "Doku tiplmesi" olarak da tanımlanır. Erik Thorsby tarafından belirtildiği gibi, doku uyumluluğu HLA antijenlerinin tek işlevi değildir, bu kompleks daha iyi majör immün yanıt kompleksi olarak adlandırılabilir (9).

2.2. HLA'nin Antijen Sınıflandırması

HLA antijenleri yapılarına ve işlevlerine göre 3 sınıfa ayrılır.

2.2.1. Sınıf I Antijenleri

Bağışıklık fonksiyonundaki temel elementler olan majör HLA sınıf I antijenleri (A, B ve C), varsa viral peptitler de dahil olmak üzere hücrenin içinden peptitler sunar. İnsan popülasyonundaki HLA antijenlerinin çeşitliliği, hastalık savunmasının bir yönüdür ve sonuç olarak, ilişkisiz iki bireyin tüm lokuslarda aynı HLA moleküllerine sahip olma şansı çok düşüktür (10, 11). HLA, alfa 1-antitripsin fenotip eksikliği ve FSP oluşumu arasında bir ilişki olabileceği öne sürülmüştür (12, 13). Ailesel PSP vakalarının genetik arka planı hakkında çeşitli raporlar olmasına rağmen, tıbbi literatür incelemeleri, aile öyküsü olmayan PSP'li hastalarda HLA sınıf I antijenlerini araştıran bir rapor göstermemektedir.

HLA Sınıf I antijen sistemi insandaki en polimorfik genetik sistemdir (14). Alleller ve haplotipler arasındaki bağlantı dengesizliği her etnik popülasyonda farklılık gösterebilir, bu nedenle her etnik grubun farklı gen frekansları ve karakteristik haplotip düzenlemeleri vardır (15).

Belirli HLA sınıf I allelleri ile bazı hastalıklar arasında birkaç ilişki rapor edilmiştir. Örneğin, Keleş ve arkadaşları (16) nazal polipozisli hastalarda HLA A24 ve HLA Cw12 allellerinin sıklıklarının anlamlı derecede arttığını bildirmişlerdir. HLA B27'nin ankilozan spondilit gelişme riskini arttırdığı bilinmektedir (17). HLA A3, miyastenia gravis için ikincil bir risk faktörüdür (18). 1980 ve 1998 yılları arasında 1095 canlı organ donörüyle ilgili geniş bir çalışmada Türk popülasyonundaki HLA allel ve haplotip frekansları araştırılmış ve bu çalışmaya göre Türk toplumunda HLA A01, A02, A03, A09, B05, B12, B35 ve Cw4 allelleri ile HLA A02-B05, A01-B35 ve B35-Cw4 haplotiplerinin daha yaygın olduğu tespit edilmiştir (19). 228 Türk insanının araştırıldığı başka bir çalışmada ise HLA A02, A03, A24, A26, B35, B44 ve B51 allellerinin sıklığı daha yüksek çıkmıştır (20).

Sınıf I moleküllerinin hücre yüzeyine yerleşebilmeleri için $\beta 2$ mikroglobuline gereksinimleri vardır. $\beta 2$ mikroglobulin molekülün üç boyutlu yapısının korunmasında rol almaktadır (21). α zinciri 3 bölgeye ayrılır. Bu bölgeler; Ekstraselüler hidrofilik bölge, Transmembran hidrofobik bölge ve İntraselüler hidrofilik bölgelerdir. Ekstraselüler bölge, hidrofilik olup N terminali ile sonlanır. Ekstraselüler bölge $\alpha 1$, $\alpha 2$ ve $\alpha 3$ zincirleri olarak bilinen 3 bölümden meydana gelmiştir. Molekülün N ucundaki $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ birimlerinin amino asit sıralamalarındaki farklılıklar molekülün polimorfizmini oluşturur. Burası peptid bağlama bölgesi olup, işlevsel olarak molekülün en önemli yeridir. T lenfosit tanıma olaylarında T hücrelerinin CD8 molekülünün bağlandığı $\alpha 3$ birimi ile transmembran ve intraselüler bölgeler polimorfik olmayıp bütün HLA Sınıf I tiplerinde benzerdir (22,23).

2.2.2. Sınıf II Antijenleri

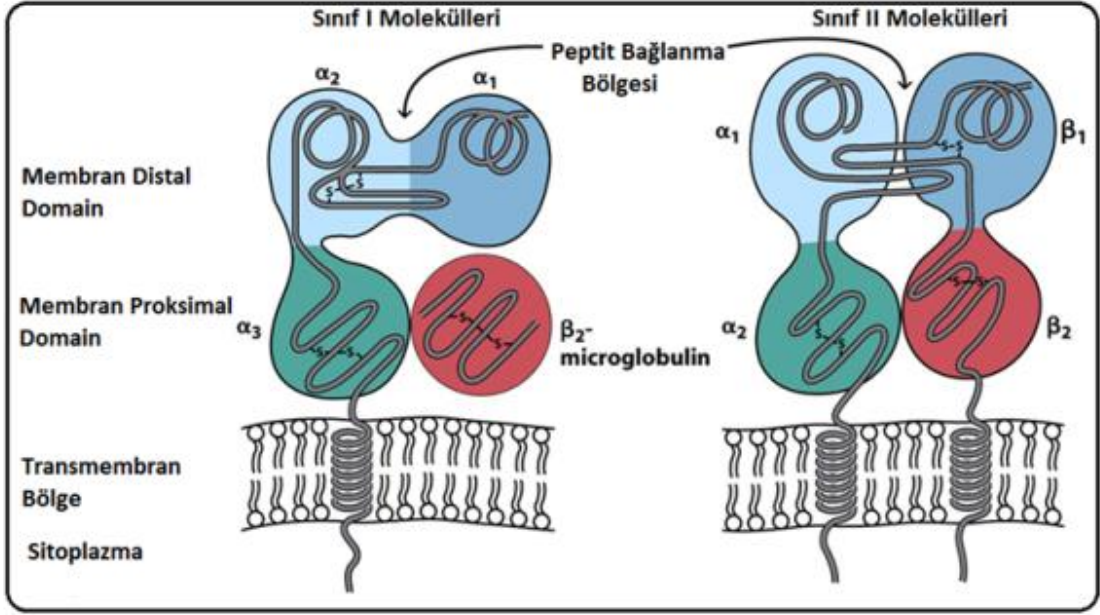
Antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunan Sınıf II antijenleri olgunlaşmış T ve B lenfositleri, monositler, Langerhans ve bağışıklık sisteminin ilk basamağında görevli olan dendritik hücrelerin yüzeyinde yer almaktadırlar. Sınıf II antijenleri Makrofajların faaliyetlerinde ve lenfositlerin antijen sunumunda görev yaparlar (24).

Hücre yüzeyi glikopeptid antijenleri yaklaşık 63.000 dalton moleküler ağırlığa sahiptirler ve her ikisi de transmembran olan yapısal olarak benzer iki α - ve β -

glikoprotein zincirinden oluşurlar. Her zincir, en dıştaki alanı Sınıf II allellerin değişken bölgesini içeren iki amino asit alanına sahiptir. Sınıf II antijenin doku dağılımı, B-lenfositler, makrofajlar, endotelial hücreler ve aktive edilmiş T-lenfositler gibi immünokompetan hücrelerle sınırlıdır. Sınıf II antijenler, genel bir bağışıklık tepkisi başlattığından, tüm dokularda değil, immünolojik olarak aktif hücrelerde bulunurlar. Sınıf I ve Sınıf II moleküllerdeki peptid bağlama oluşu, HLA moleküllerinin fonksiyonel yönleri için kritik öneme sahiptir (24).

Sınıf II antijenleri, non-kovalent bağlar ile birbirine bağlanan transmembran glikoprotein zincirden meydana gelen alfa ve beta heterodimer zincirleridir. Alfa zinciri $\alpha 1$, $\alpha 2$, Beta zinciri $\beta 1$, $\beta 2$ olmak üzere 2 şekilde hücre zarı üzerinde bulunur. Hücre membranı üzerinde bulunan $\alpha 1$ ve $\beta 1$ zincirleri antijenlere ait peptidlerin yerleşebileceği oyuk bir yapı meydana getirirler (25).

Bu alana yerleşen peptidler hücre dışı (eksojen) makro peptidlerdir. $\alpha 2$ ve $\beta 2$ bölgeleri, Ig benzeri ve Sınıf I molekülleri gibidirle (26). Sınıf II antijenleri CD4+ T lenfositleri immünojen peptidi ile birlikte hücreler arası tanıma reaksiyonlarını gerçekleştirirler. Sınıf II molekülünün peptid bağlama alanındaki yabancı peptide, CD4+ T lenfositleri reseptörü bağlanır. Sınıf II molekülünün polimorfizm göstermeyen alanına da CD4+ molekülü bağlanır. Böylece tanıma ve bağlanma olayları sonucunda yabancı peptide karşı immün cevap gerçekleşmektedir. Molekülün üçüncü bölgesi hücre membranına tutunmayı sağlayan hidrofobik yapıdır. Molekülün dördüncü bölgesi de hidrofilik yapıda olan sitoplazmik alandır (25). Bu dördüncü bölge, sınıf II moleküllerin hücre içerisindeki alanlarını ve diğer moleküllerle olan işlevlerini belirler. (27). Sınıf-I ile Sınıf-II HLA molekülünün şematik yapısı Şekil 2.1.'de gösterilmiştir (26).



Şekil 2.1. Sınıf I ile Sınıf II HLA moleküllerinin şematik yapısı (28)

HLA Sınıf II molekülleri kovalent olmayan bağlarla bir arada tutulan alfa ve beta olmak üzere iki adet transmembran glikoprotein zincirinden oluşan heterodimerlerdir. Her iki zincirin de hücre zarı dışında sırasıyla α_1 , α_2 ve β_1 , β_2 olmak üzere 2 domainleri bulunur (28) (Şekil 2.1).

2.2.3. Sınıf III Antijenleri

Sınıf I ve Sınıf II antijenleri arasındaki bölgede MHC Sınıf III antijenleri yer alır. BÖ bölge klasik kompleman yolunun enzimleri C2, C4a ve C4b'si ile 21-hidroksilaz gibi enzimler ve TNF gibi hücre sinyal proteinlerinin sentezlendiği alandır. Yani bağışıklıkta yer alan kompleman sistemin protein sentezini sağlar. Sınıf III molekülleri T hücrelerine antijen sunmazlar ve transplantasyon antijeni görevine sahip değildir. (29) (Şekil 2).

spesifitede bulunan antijenlerin "splitleri" (dalları) olarak isimlendirilmiştir. Mesela, HLA-A10'un splitleri, HLA-A25 (10) ve HLA-A26 (10)'dur (32).

2.3.2. Bağlantı Dengesizliği (Linkage Disequilibrium)

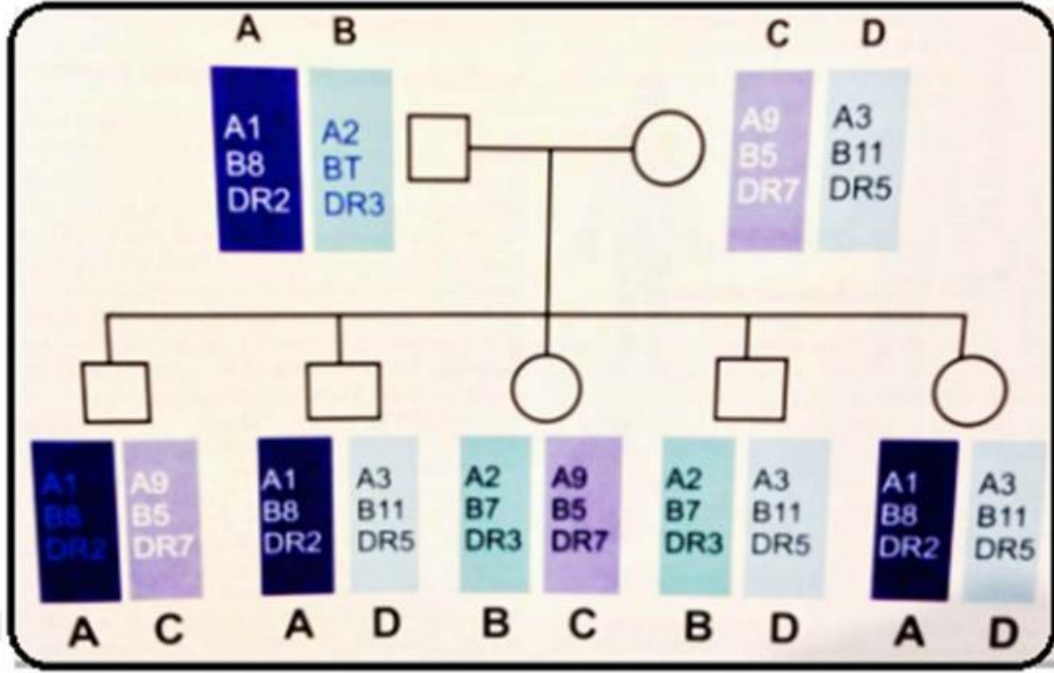
HLA lokusu üzerinde ki bir allelin başka bir allelle bir araya gelme sıklığı tamamen rastlantısalıdır. Bazı allellerin toplumdaki yoğunluklarına bağlı olarak belli haplotiplerin bir araya gelmesinden meydana gelen kombinasyonların daha sık veya nadir görülmesine "Bağlantı Dengesizliği" denir. (33).

2.3.3. İmmun Cevap Genleri

Vücuda giren ve hastalıklara sebep olan yabancı maddelere karşı gösterilen savunma sistemi insanların immün yanıt genleri tarafından gerçekleştirilir. Bu savunma sistemide insanların genetik yapısıyla ilgilidir. İmmün yanıt genlerinin de HLA antijenleri gibi 6. kromozomun kısa kolu üzerinde bulunduğu ileri sürülmüştür (34).

2.4. HLA Antijenlerinin Kalıtımı

Kromozomlar üzerinde bulunan MHC molekülleri sistemine uygun allel kombinasyonlarını belirtmek için haplotip ifadesi kullanılır. Haplotipler Sınıf I, II, III, IV allellerinden meydana gelir. HLA genotipini bireyin sahip olduğu 2 adet haplotip belirler. Mendel kurallarına uygun bir şekilde haplotipler meydana gelir. Anne ve babada bulunan HLA genleri kodominanttır. Dolayısıyla anne ve babada bulunan iki haplotipten her hangi biri çocuğa geçer. Her bir çocukta iki farklı haplotipin görülme oranı %25'dir. Fakat bazen istisna olarak %2'lik oranda genetik rekombinasyonlara da rastlanılmaktadır (35) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. HLA antijenlerinin Kalıtımı (A1, B8, DR2 bir haploittir) (36).

Genetik çeşitlenme veya rekombinasyon, genetik materyallerin eş kromozomları arasında segment değişimidir. Lokusların birbiriyle olan uzaklığı da iki gen lokusu arasındaki rekombinasyon sayesinde belirlenir. Mesela, HLA-A ile HLA-DP arasındaki mesafe aralığı çok olduğu bu lokuslar arasındaki mesafe de fazla aralıktadır. Aynı zamanda HLA-DR ve HLA-DQ genleri birbirlerine çok yakın olduğu için bu lokuslar arasında rekombinasyon daha az görülür. Bazı allellerin rastgele olmayan birlikteliği “Linkage Disequilibrium” (Bağlantı Dengesizliği) ile açıklanır ve bu olay bazı haplotiplerin korunma çabasına işaret eder (37-39).

Aynı kromozom üzerinde veya farklı kromozomlar üzerinde bulunan iki veya daha fazla lokusun allellerinin beklenen orandan daha çok veya daha az birlikte olmaları Bağlantı Dengesizliği olarak ifade edilir. Mesela A01 allelinin görülme sıklığı 0.17’dir. B08 allelinin görülme sıklığı ise 0.11’dir. Normal şartlarda bu 2 allelin bir araya gelme sıklığı yani A01B08 genotipinin görülme sıklığı $0.17 \times 0.11 = \%1,9$ ’dur. Buna rağmen bazı farklı popülasyonlarda bu oranın %13 ve %40 arasında değişmesi bu iki allelin birbirleri ile bağlantılı olmasındandır. HLA genlerinin polimorfik olması da haplotip olasılığını yükseltmiş demektir. (40) (Şekil 2.3).

2.5. HLA Antijenlerinin Diğer Kullanım Alanları

1. Kan grubu antijenleri ile birlikte organ ve doku nakillerinde HLA antijenlerinin tespit edilmesi çok önemlidir. Organ nakillerinde HLA-A, HLA-B, HLA-DQ ve HLA/DR antijenleri tiplendirilmesi ve haploid benzerliklerinin incelenmesi gerekir.
2. Bir takım hastalıkların teşhis edilmesinde belirli HLA allelleri daha sık görüldüğü için bu alanda HLA tiplendirilmesi çok faydalı olmaktadır. Mesela HLA-B27 tipi ankilozan spondilit olgularında %90 oranında görülmektedir.
3. Kan grubu antijenleri testi babalık testinde de yapılmaktadır. Bu aşamadan sonra HLA tiplendirilmesi yapılır. Çünkü kan grubu antijenleri testi ile bebekte olan ve babada bulunmayan antijen tespit edilir. Aynı zamanda HLA tiplendirmesi ile de çocukta görülmeyen HLA tipinin babada var olması babalık reddi vakalarında önem taşımaktadır.
4. HLA tiplendirilmesi antropolojik araştırmalarda da çok önemlidir. Populasyonların göçleri ve ataları konusunda araştırmalarda yardımcı olmaktadır. Mesela, Amerika Birleşik Devletlerinde zencilerde HLA-B27 alleli %2 oranında görülürken, beyazlarda HLA-B27 tipi % 8 oranında görülmektedir. Buna karşı Afrika zencilerinde ise HLA-B27 alleline rastlanmamaktadır. Bu sonuçlar Amerikalı zenciler ile beyazların karışmış olduğunu kanıtlamaktadır. (25, 32)

2.6. HLA ve Hastalık İlişkisi

Geçmişten günümüze HLA allelleri konusunda yapılan araştırmalar sonucunda, HLA allelleri ile hastalıklar arasındaki bağlantı ortaya çıkmıştır. Örneğin otoimmün, nörolojik, endokrin, alerjik vs hastalıkların HLA allelleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Butür hastalıkları HLA dışında ayrıca birçok çevresel etkiler ve genlerde etkilemektedir. Bundan dolayı yalnızca HLA ve hastalık ilişkisini saptamak zor olur. Fakat buna rağmen birçok çalışma HLA allelleri ile hastalıklar ilişkisi konusunda güçlü bağlantı olduğunu göstermiştir. Mesela, HLA-B27 ankilozan spondilit veya HLA-B51 Behçet hastalığı ilişkisinde olduğu gibi (41,42).

HLA ve hastalık ilişkileri ile ilgili çok fazla teori ileri sürülmüş ama sadece bunlardan 3 tanesi kabul görmüştür (43).

İmmün yanıt genleri: Vücuda giren ve hastalıklara sebep olan yabancı maddelere karşı gösterilen savunma sistemi insanların immün yanıt genleri tarafından gerçekleştirilir. Bu savunma sistemide insanların genetik yapısıyla ilgilidir. İmmün yanıt genlerinin de HLA antijenleri gibi 6. kromozomun kısa kolu üzerinde bulunduğu ileri sürülmüştür.

Antijenik benzerlik teorisi: Bazı hastalık etmenleri ve HLA antijenleri arasındaki benzerlik nedeniyle immün yanıtın tam olarak gerçekleşmemesi ve bu durumun kronik hastalığa neden olduğunu ileri süren teoridir.

Membran reseptörleri teorisi: Hücrelerin yüzeylerindeki reseptörler hücrenin çevresiyle olan ilişkisini belirler. Hücre yüzeyinde bulunan HLA antijenleri de reseptör olarak kabul edilir ve hücrelerin aynı etkenlere karşı farklı vevap vermeleri mümkün olabilir (43).

2.7. HLA'nın Temel Klinik Uygulamaları

HLA tiplendirmesinin temel olarak en sık kullanıldığı alan, kan grubu tayin edildikten sonra organ ve doku trasplantasyonudur. Mesela, karaciğer ve böbrek nakillerinde HLA-A ve HLA-B uyumuna nazaran HLA-DR uyumunun graft sağkalımında daha belirleyici rol oynadığı görülmektedir. Karaciğer nakillerinde ise HLA uyumunun önemi konusunda farklı görüşler mevcuttur. HLA-A ve HLA-B uyumunun graft sağ kalımı etkilediği fakat HLA-DR uyumunun çok fazla etkili olmadığı konusunda yayınlar olduğu görülmüştür. Kalp nakillerinde HLA uyumunun olmayışının graft sağ kalım sürecinin uzamasına sebep olduğuna dair birçok çalışma yapılmıştır. Kornea nakillerinde HLA-DR uyumu konusunda farklı görüşler olmasına rağmen HLA-A ve HLA-B uyumunun önemli olduğu tespit edilmiştir. Günümüzde Hematopoetik kök hücre nakillerinde haplotiplerden bir tanesinin uyum sağlaması ile nakil yapılsa bile olabildiğince alıcı ile verici arasında HLA uyumunun tam olduğu bireyler tercih edilir (26).

Babalığın kanıtlanması testinde kan grupları tayininden sonra daha çok HLA-DQ bölgesine bakılır. Babalık tayininde çocuk ile babanın haplotiplerinden en az birinin uyumlu olması şarttır. (44).

Antropolojik çalışmalarda da HLA tipleri büyük önem taşımaktadır. Popülasyonların kökeni ve geçmişte yaşadıkları coğrafya hakkında ve bugüne kadar ki göçleri konusunda bilgi sahibi olunur. HLA hastalık ilişkisinin belirlenmesinde ve hastalığa yatkınlık konusunda tanı amacıyla kullanılır. Mesela HLA-B27 allelinin ankilozan spondilit hastalarında %90 oranında pozitif olduğuna dair tanı koyulan bir

laboratuvar tesdidir. Kan transfüzyonu yapılacak olan hastalarda özellikle birden fazla trombosit transfüzyonu yapılacak olan hastalarda her hangi bir olumsuz reaksiyonun önüne geçilmesi için önceden HLA uyumuna bakılması önem taşımaktadır (45).

2.8. Majör Histokompatibilite Kompleksi

Edinsel veya kazanılmış bağışıklık sisteminin çok önemli hücrelerinden olan T hücresinin protein yapıdaki antijene karşı vereceği cevabın meydana gelmesi için antijen sunan hücreler (antigen presenting cells, APC) tarafından bu antijen alınıp, işlenmesi ve yüzeylerinde bulunan moleküllere bağlanarak T hücrelerine sunulması gerekir. Bu olaylarda başrolde olan yüzey molekülleri majör doku uygunluk kompleksi (Major Histocompatibility Complex; MHC) molekülleridir. HLA antijenlerinin kodlanmasını sağlayan genlerin bulunduğu bölgeye majör doku uygunluk kompleksi olarak adlandırılır (46).

1940'lı yıllarda Dr. George Snell ve arkadaşları genetik anlamda birbirlerinden ayrı fareler arasında deri nakli yapmışlardır. Fakat bu deri nakli rejeksiyonla sonuçlanmıştır. Daha sonra genetik olarak aynı olan fareler arasında deri nakli yapılmış, nakil başarılı bir şekilde gerçekleşmiştir. Farelerin genomlarını incelemek üzere araştırma yapılmış, yapılan araştırmalar sonucunda deri dokusunun kabul veya rejeksiyonundan sorumlu dev bir gen kompleksini tespit etmişlerdir. Bu gen kompleksine doku uygunluğu belirlemediğini düşündükleri için bunları doku uygunluk genleri (histocompatibility genes) olarak adlandırmışlardır (47).

Bu araştırmalardan sonra var olan bu gen kompleksinin aslında sadece transplantasyona özel bir sistem olmadığını düşünmüşler fakat gerçek işlevlerini detam olarak açıklayamamışlardır. İlerleyen zamanlarda Dr. Snell ve arkadaşları farelerde ortaya çıkardıkları bu gen kompleksinin insanlarda da var olduğunu ispat etmiş ve buna da majör doku uygunluk kompleksi (major histocompatibility complex: MHC) olarak isimlendirmişlerdir. Bu bölgede bulunan genler tarafından kodlanan moleküllere de insan lökosit antijenleri (human leukocyte antigen; HLA) adını vermişlerdir (47).

1970'li yıllarda Dr. Mc Dewitt ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda da bu büyük gen kompleksini tespit etmişler ve immün yanıtta sorumlu olduğunu düşündükleri için bu genlere immün yanıt genleri (immune response genes; IR) ismini vermişlerdir (48).

Bu alanda çalışmaların ilk başladığı yıllardan yaklaşık 35-40 yıl sonra Dr. Snell ve arkadaşları MHC ve MHC moleküllerinin gerçek işlevlerini tamamen tespit etmişler

ve bu buluşlarından dolayı 1980 yılı Nobel Tıp ödülünü almaya hak kazanmışlardır (49).

MHC antijenlerini kodlayan gen bölgesi insanda 6. kromozomun kısa kolunda yerleşen hemen hemen 4000 kilobaz büyüklüğünde kocaman bir gen kompleksidir. Bu devasa gen kompleksi bütün insan genomunun %0.1'lik kısmını ve işlevi henüz aydınlatılmamış olan genlerin de %0.6'sını meydana getirirler. Görevleri MHC moleküllerini veya HLA antijenlerini kodlamaktır (50).

MHC antijenleri hücre üzerine yerleştikleri bölgeye ve işlevlerine göre üç ana lokustan meydana oluşur. MHC Class I ve MHC Class II antijenleri hücre membranı üzerindedir. MHC Class III lokusunda HLA gen bölgesinde yer almaktadır. MHC Class I lokusu üzerinde HLA A, HLA B ve HLA C başta olmak üzere HLA E, F, G, H ve X molekülleri kodlanır. HLA A, B, C molekülleri antijen sunumunda görevlidirler. MHC Class I'in diğer antijenlerinin işlevleri net olarak bilinmemekle beraber doğal öldürücü hücrelerin fonksiyonlarında görev alırlar. MHC Class II'de HLA DP, DM, DQ, DR ve TAP moleküllerini kodlayan genler mevcuttur. HLA DP, DQ ve DR antijen sunumunda görev alan molekülleri kodlar. MHC Class III bölgesinde ise her hangi bir molekül kodlanmaz (51).

2.9. HLA Tiplendirimi

HLA allellerinin tespit edilmesi için farklı metodlar uygulanmaktadır. Bu metodlar;

- a. Serumda antikor veya antijen aranmasını sağlayan Serolojik testler
- b. Hücresel testler
- c. Genomdaki biyolojik belirteçleri ifade eden Moleküler yöntemler

Serolojik metodlar HLA allellerindeki polimorfizmi tespit edemediğinden dolayı günümüzde daha çok moleküler metodlar kullanılmaktadır (52).

Böbrek transplantasyonu gibi alıcıların mümkün olduğunca hızlı tespit edilmesi gibi olgularda PCR tabanlı sekans spesifik primer analiz metodu (PCR-SSP) uygulanır. Fakat kemik iliği nakli gibi olgularda daha çok örneğin HLA tiplendirilmesi gerekiyorsa PCR tabanlı sekans spesifik oligonükleotid probalar (PCR-SSO) kullanılarak tiplendirilme yapılması tercih edilebilir (32,53).

HLA tiplendirilmesi son yıllarda çok hassas metodlarla yapılmaktadır. Terminolojide kullanılan metodlarla HLA tiplendirimini ifade ederken kullanılan yöntem birbiriyle ilişkilidir. Terimler ifade edilirken ilişki kurmak zordur. Mesela

DRB1*1501 şeklinde tanımlanmış bir genin DR02'nin alleli olduğunu düşünmek zordur. Fakat diğer yöntemlerin yerine artık yaygın olarak moleküler yöntemler çalışıldığı için güncel olarak allelleri ifade eden terminolojidir. Bu nedenden dolayı kurulan bir komisyon (W.H.O Nomenclature Committee), devamlı yeni bilgileri günceller ve yayınlar. Tablo 2.1.'te bu adlandırma sisteminin geneli bir örnek üzerinde gösterilmiştir (34).

Tablo 2.1. HLA allellerini tanımlarken kullanılan terminoloji (34)

Terminoloji	Rakam Sıra No	İfade Ettiği Bilgi
HLA		HLA bölgesini ifade eder ve bir HLA genide ön ek olarak kullanılır
HLA-DRB1		Belli bir HLA lokusu Ör: DRB1
HLA-DRB1*13	1-2	Spesifik bir antijeni (Ör: DR13) kodlayan bir allel grubunu tanımlar
HLA-DRB1*1301	3-4	Spesifik bir HLA allellini tanımlar. (DR13'ün 01 allelli)
HLA-DRB1*1301N	5/9	Eksprese edilmeyen (Null) bir allel gösterir
HLA-DRB1*130102	5-6	Sessiz (Sinonim) mutasyonu olan bir allelli ifade eder
HLA-DRB1*13010102	7-8	Kodlama bölgesi (exon) dışında mutasyonu olan bir allelli gösterir
HLA-DRB1*13010102N	5/9	Kodlama bölgesi dışında mutasyonu olan Null bir allelli gösterir

2.9.1. Yeni Nesil Dizilimi HLA Tipleme

Yeni nesil dizileme (YND), tamamlayıcı DNA'yı aynı anda genomik dizisini oluşturup sıralama metodudur. Uygun maliyetli ve son derece yüksek çıktılı olan YND ve bilhassa Tüm Ekzom Dizileme (TED), bilinen 20.000'den daha çok geni aynı zamanda kodlayıp analiz etme imkânı sağlar (54, 55).

Tüm Ekzom Dizileme, son zamanlarda çok yaygın kullanılan bir teknolojik metoddur. İnsan genomunun yalnızca %1 – %1,5'luk kısmını analiz etmesine rağmen hastalığa sebep olan mutasyonları %85 oranında ortaya çıkarmaktadır. Ama yinede tespit edilen bu mutasyonlar hastalığın genetik kökeninin sadece %25 - %40'ına ışık tutabilmektedir (56, 57). Karyotip ve kromozal mikrodizi metodlarına göre daha yüksek oranda başarı elde edilir (58, 59).

YND, klinik amaçla çok yaygın bir şekilde çalışılan bir yöntemdir. “Tanısal belirsizliği” azaltmak için birçok laboratuvar TED ya da YND testlerini hizmet satın almak suretiyle kullanmaktadır (60).

YND'nin kanser gibi nadir görülen hastalıkların teşhisinde bazı ilaçların seçimi veya uygulanması gereken dozun ayarlanmasıyla ilgili son zamanlarda birçok yayın yapılmaktadır (61, 62).

YND klinik laboratuvarında aynı zamanda HLA allellerinin tespit edilmesinde, farmakogenetik alanında, bulaşıcı ve kronik hastalıkların tespiti için de kullanılmaktadır (63-66). Mesela nadir görülen, klinik ve genetik açıdan heterojen olup, belirsiz bir tablo sergileyen olgulara tanı koymak çokda kolay olmaz (67, 68).

Hastalara tanı koyma aşaması genellikle psikolojik olarak yıpratıcı, uzun süre gerektiren ve aynı zamanda maliyetli birçok çeşitli aşamalardan oluşmaktadır (69).

YND teknolojisi insan DNA'sında bilinen hangi hastalığın olduğunu ortaya çıkarma gücüne sahip olduğu kadar aynı zamanda henüz anlamlandırılmayan başka varyantların da ortaya çıkmasını sağlar. Laboratuvar ortamında çalışılan bu teknoloji bazen teknik sebeplerden dolayı tanı koyma sürecini uzatabilir. Testin hassasiyeti %100 olmadığından dolayı istenilen genin tamamı veya bir kısmının kapsanamaması neticesinde yanlış ya da negatif sonuçlara sebep olabilir (55).

Ayrıca dizi derinliğinin yetersiz olması ortaya çıkarılan varyantların güvenilir olmasını etkilemektedir. TED, çok iyi bir tanısal araç olmasına rağmen, klinik olguların iyi bir şekilde teşhis edilmesi, aynı anda hem klinik bulgular hemde fenotip varyantların tespit edilmesinde gerekli bağlantıların kurulmasını sağlayan çok önemli bir basamaktır (70).

YND ve Sanger dizileme gerek çalışma metodu gerek de ortaya çıkan veriler açısından birbirinden farklıdır (71). Sanger dizileme elektroforez kökenli yarı otomatik bir yöntem olup DNA dizilimini gerçekleştiren altın standart olarak kabul görmüştür. Fakat son yıllarda bu metodun artık altın standart olmayabileceği konusunda çeşitli yayınlar yapılmıştır (71). Bu düşüncenin en büyük nedenleri Sanger dizilemenin yüksek güvenilir sonuçlar vermesine rağmen uzun genom alanları çalışmak gerektiğinde maliyet çok yüksek olur, işlemler zahmetli ve zaman alıcı olur. Bundan dolayı Sanger dizi analizi büyük ve çok sayıda genlerin analiz edilmesi durumlarında klinik açıdan ve maliyet açısından pek avantajlı olmaz. YND ise bir çok panelin aynı anda düşük maliyetle çalışmasına imkân sağlar. Hızlı bir şekilde bütün ekzom ve genom dizi analizini gerçekleştirme yeteneğine sahiptir (72-74).

2.10. HLA Haplotipleri

İnsan Genom Projesi ve diğer büyük ölçekli çabalar, genetik çalışmalarda kullanılacak milyonlarca genetik belirteç belirledi. Her bir belirteç diğer belirteçlerden bağımsız olarak analiz edilebilmesine rağmen, ilgilenilen bir bölgedeki belirteçleri aynı anda analiz etmek çok daha bilgilendiricidir. Tek bir kromozom üzerindeki işaretleyici allellerin kombinasyonuna haplotip (Haploid Genotip) denir (75).

Tanımlanmış genetik belirteçler kullanılarak insan genomundaki haplotip yapılarının anlaşılmasına büyük ilgi vardır, çünkü:

1) Haplotip yapıları, insanın evrimsel tarihi ve çeşitli insan özelliklerinin altında yatan genetik varyantların tanımlanması hakkında kritik bilgiler sağlayabilir.

2) Moleküler teknolojiler artık makul büyüklükteki popülasyon örneklerinde yüz binlerce genetik polimorfizmi incelemeyi mümkün kılar (75).

Birbiriyle sıkı bir şekilde bağlantılı işaretleyicileri içeren haplotipler için, örneğin aynı gen içindeki işaretçiler, bu işaretlerdeki alleller sıklıkla istatistiksel bağımlılık, bağlantı dengesizliği (LD) veya allelik ilişki olarak adlandırılan bir fenomen sergiler. Haplotip analizinin önemli bir yönü, farklı bölgelerdeki ve farklı popülasyonlardaki LD modellerini tanımlamaktır, çünkü belirteçler arasında LD'nin varlığı, popülasyon geçmişlerini çıkarmayı ve karmaşık özelliklerin altında yatan genetik varyantları lokalize etmeyi mümkün kılmaktadır. LD'nin varyantların yaşı, popülasyon geçmişi, rekombinasyon oranları, gen dönüşümü, doğal seçilim ve diğer faktörler dahil olmak üzere birçok faktörden etkilendiği iyi bilinmektedir. LD, teorik popülasyon genetiği modelleri aracılığıyla çalışılabilir de, yakın tarihli birçok deneysel çalışma, mevcut teorik modellerin insan genomundaki karmaşık haplotip yapılarını açıklayamadığını göstermiştir (76).

Dünya çapında 42 popülasyonda CD4 lokusunda kısa bir tandem tekrar polimorfizmi (STRP) ve bir Alu delesyon polimorfizminden oluşan bir haplotip çalışması, ilk olarak, popülasyon geçmişi çıkarımı için farklı popülasyonların LD modellerini karşılaştırmanın yararlılığını göstermiştir (75). Bu iki polimorfizm arasındaki LD paternleri, tüm Afrikalı olmayan popülasyonlar için ortak ve yakın bir Afrika kökenli olduğuna dair kanıt sağlamıştır. Bu, mitokondriyal DNA ve Y kromozomlarını kullanan çalışmaların aksine, Afrika dışı hipotezi hakkında kanıt sağlamak için otozomal bölgeleri kullanan ilk çalışmaydı. Uzun menzilli haplotip yapısı

ayrıca insan genomundaki son seçimi saptamak için daha güçlü bir araç sağlayabilir (76).

Popülasyon geçmişinin çıkarılmasında kullanımına ek olarak, LD'nin kapsamı, hastalıkla ilişkili genetik varyantları belirlemede ve hastalık geni ilişkilerini saptamak için verimli çalışmalar tasarlamada kritik bir faktördür. İki polimorfizm arasındaki ilişkinin derecesini ölçmek için birçok ölçü vardır (77).

En yaygın kullanılanları D' ve r^2 'dir. Her ikisi $|D'|$ ve r^2 0 ile 1 arasında değişir. Basit popülasyon genetiği modellerine dayanan simülasyon çalışmaları, faydalı LD'nin yaygın tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) etrafında sadece birkaç kilobaz (kb) yaydığını ileri sürmüştür (78).

Bununla birlikte ampirik veriler, LD'nin daha da genişleyebileceğini ima etmektedir. Örneğin, 19 kromozomal bölgenin sistematik bir çalışması $|D'|$ 0,5'in altına, Utah popülasyonunda ortalama ~ 60 kb'de ve Yoruban örneklerinde ortalama ~ 5 kb'de düşer (79). LD modellerini karakterize etmek için uygun LD ölçülerini seçmek de önemlidir. Örneğin, $|D'|$ bir ölçü olarak, örneklem büyüklüğü ile ters orantılı olduğu için eleştirilmiştir (80). Bu nedenle, farklı popülasyonlardan farklı örnek boyutları, LD karşılaştırmalarını karıştırabilir.

Avrupa örnekleri kullanılarak kromozom 22 üzerindeki belirteçlerin sistematik bir çalışması benzer paternler göstermiştir (81).

Modele dayalı simülasyon sonuçları ile ampirik gözlemler arasındaki tutarsızlık, orijinal simülasyon çalışmasındaki aşırı basitleştirici varsayımların, LD'yi belirleyen önemli faktörleri yeterince hesaba katmadığını göstermektedir. Popülasyon darboğazlarını ve tek tip olmayan rekombinasyon oranlarını içeren daha gerçekçi popülasyon genetiği modellerine dayanan alternatif simülasyonlar, popülasyon darboğazlarının gözlemlenen LD modellerini açıklamada yeterli olmadığını göstermiştir, çünkü çoğunlukla bu modeller, gözlemlenen LD kapsamını ve genetik düzeyini aynı anda barındıramaz (82).

Son zamanlarda yapılan bazı araştırmalar, kromozomların, her kromozomun içinde sınırlı haplotip çeşitliliği bulunan birçok bloğa bölünebilecek şekilde yapılandırıldığını bulmuştur. Bu çalışmalarda blok yapıları bulunmasına rağmen, haplotip blokların evrensel olarak kabul edilmiş bir tanımı yoktur. Aslında, her çalışmanın kendi tanımı vardır.

Haplotip blok tanımlarına ilişkin bazı örnekler şunlardır (75,79):

- Ortalama D' 'nin önceden belirlenmiş bazı eşiklerden daha büyük olduğu bitişik bir işaretler seti
- Az sayıda ortak haplotipin kromozomların çoğunluğunu oluşturduğu bir bölge
- Azaltılmış haplotip çeşitliliği seviyelerine sahip bir kromozomal segment
- Birkaç belirteç dışında hem sınırlı haplotip çeşitliliğine hem de güçlü LD'ye sahip bölgeler
- Herhangi bir SNP çifti arasında tarihsel rekombinasyon için kesinlikle hiçbir kanıt olmayan bölgeler

Moleküler yöntemlerle her bir bireyden iki haplotip çıkarmak mümkün olsa da, bu tür yöntemler şu anda büyük ölçekli popülasyon çalışmalarında pratik olamayacak kadar pahalı ve zahmetlidir. Akrabalardan alınan bilgiler haplotip belirsizliğinin çözülmesine yardımcı olabilir, ancak bu tür bir belirsizlik, özellikle belirteç sayısı arttıkça birçok akrabadan alınan verilerde bile mevcut olabilir. Bu nedenle, haplotipleri çıkarmak ve haplotip frekanslarını tahmin etmek için varsayıma dayalı birkaç sayısal yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin altında yatan merkezi Hardy-Weinberg varsayımı, bir birey tarafından taşınan her haplotipin, haplotip popülasyonundan bağımsız bir örneği temsil etmesidir (83).

İlişkilendirme çalışmalarında dikkate alınan haplotiplerin sayısını azaltmak için iki sınıf yöntem geliştirilmiştir. Birinci sınıf yöntemler, analiz için tüm kromozomal bölgeyi daha küçük bölgelere ayırırken, ikinci sınıf, birleşme analizinden önce haplotipleri daha küçük bir sayıya gruplandırır. Birinci sınıf yöntemler genellikle aday bölge üzerinde kayan bir pencereye sahiptir ve her pencerede ilişki için kanıtları değerlendirir (80, 83, 84). Sürgülü pencere iki amaca hizmet eder. İlk olarak, her penceredeki haplotip paternlerinin sayısı tüm bölgedekinden önemli ölçüde daha az olabilir, bu nedenle regresyon analizi daha az parametre içerir ve hastalık ile haplotipler arasında bir ilişki varsa muhtemelen daha iyi güce sahiptir. İkincisi, gerçek hastalık varyantlarına yakın kanıtların diğer bölgelerdekilerden daha güçlü olduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle, bu yöntemler hassas hastalık haritalama yöntemlerine benzemektedir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Araştırmanın Modeli

Hasta ve donörlerin periferik kanları EZ1 DNA Blood 200 µI kit (Qiagen-Hollanda) ile DNA larının izolasyonu sağlanmıştır. Yeni Nesil Dizileme yöntemi için MIA FORA MFIex6 kit kullanılmış ve prosedür üretici firmanın talimatlarına göre oluşturulmuştur.

3.2. Çalışma Gurubu

Malatya İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Doku Tipleme Laboratuvarında 2020 yılında doku tipleme çalışılan 1081 kişiden oluşan hasta ve donörlerin Yeni Nesil Sekanslama (Next Generation Sequencing-NGS) yöntemi ile HLA allel ve haplotip frekanslarının belirlenmesi amacıyla çalışma gurubuna dahil edilmiştir.

3.3. Verilerin Toplanması

Bu çalışmaya; Malatya İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Doku Tipleme Laboratuvarında 2020 yılında doku tipleme çalışılan tüm hasta ve donörler dahil edilmiş olup; Yeni Nesil Sekanslama (Next Generation Sequencing) yöntemi ile bireylerin Human Leucocyte Antigeni allel ve haplotip frekansları belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan ve donörlerden hiçbir amaçla kan istenmemiştir. Çalışmamız, bölgemizdeki Human Leucocyte Antigen çeşitliliğinin belirlenmesine katkı sağlayacak, Human Leucocyte Antigeni - hastalık ilişkileri ile ilgili çalışmalarda kullanılacak ve elde ettiğimiz veriler diğer ulusal sonuçlar ile birlikte kemik iliği bağışçılarının seçimine yardımcı olacaktır.

3.4. Verilerin Analizi

Haplotiplerin sıklığı frekans analizi ile araştırılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş, normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin analizinde bağımsız gruplarda t testi kullanılmıştır. Verilerin analizinde ise SPSS ver 15.0 istatistik programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Tablo 4.1. HLA*A genine ait frekanslar

	Tekrar Sayısı	Frekans	Kümülatif frekans
	2402	161	0.149
	0201	150	0.139
	1101	125	0.116
	0101	115	0.106
	0301	65	0.060
	0302	58	0.054
	2601	57	0.053
	3201	52	0.048
	6801	44	0.041
	2301	35	0.032
	0205	27	0.025
	3301	23	0.021
	2902	19	0.018
	3101	18	0.017
	3001	16	0.015
	2403	15	0.014
	3002	14	0.013
	2901	11	0.010
Geçerli ölçüm	3004	10	0.009
	3303	10	0.009
	6802	9	0.008
	6901	9	0.008
	0206	8	0.007
	2501	8	0.007
	0217	6	0.006
	0202	2	0.002
	0303	2	0.002
	2432	2	0.002
	6601	2	0.002
	0102	1	0.001
	0207	1	0.001
	0211	1	0.001
	0230	1	0.001
	1402	1	0.001
	2217	1	0.001
	2324	1	0.001
	3202	1	0.001
	Total	1081	100.0

Tablo 4.1’de HLA*A genine ait frekanslar gösterilmektedir. Buna göre en sık görülen üç allel 2402, 0201 ve 1101’dir.

Tablo 4.2. HLA*B genine ait frekanslar

	Tekrar Sayısı	Frekans	Kümülatif frekans	
	5101	155	0.143	0.143
	3501	113	0.105	0.248
	3503	92	0.085	0.333
	4901	76	0.070	0.403
	4402	62	0.057	0.461
	5201	61	0.056	0.517
	0801	53	0.049	0.566
	3801	44	0.041	0.607
	1801	40	0.037	0.644
	5001	29	0.027	0.671
	1402	27	0.025	0.696
	5501	26	0.024	0.720
	0705	25	0.023	0.743
	1302	23	0.021	0.764
	4403	20	0.019	0.783
	0702	19	0.018	0.800
	3502	18	0.017	0.817
	4101	16	0.015	0.832
	5801	16	0.015	0.846
	1517	14	0.013	0.859
	3508	14	0.013	0.872
	5701	13	0.012	0.884
	5301	11	0.010	0.895
	1501	10	0.009	0.904
	4006	10	0.009	0.913
Geçerli ölçüm	2705	9	0.008	0.921
	4001	9	0.008	0.930
	5108	9	0.008	0.938
	3701	7	0.006	0.944
	2702	5	0.005	0.949
	2703	4	0.004	0.953
	3901	4	0.004	0.957
	1510	3	0.003	0.959
	4501	3	0.003	0.962
	4701	3	0.003	0.965
	5105	3	0.003	0.968
	5107	3	0.003	0.970
	1401	2	0.002	0.972
	1507	2	0.002	0.974
	1508	2	0.002	0.976
	1518	2	0.002	0.978
	3538	2	0.002	0.980
	4405	2	0.002	0.981
	5601	2	0.002	0.983
	0180	1	0.001	0.984
	0401	1	0.001	0.985
	0402	1	0.001	0.986
	0841	1	0.001	0.987
	1509	1	0.001	0.988
	1701	1	0.001	0.989
	2201	1	0.001	0.990

2801	1	0.001	0.991
3906	1	0.001	0.992
3910	1	0.001	0.993
4002	1	0.001	0.994
4010	1	0.001	0.994
4102	1	0.001	0.995
4202	1	0.001	0.996
4601	1	0.001	0.997
4801	1	0.001	0.998
5202	1	0.001	0.999
8101	1	0.001	1.000
Total	1081	100.0	

Tablo 4.2’de HLA*B genine ait frekanslar gösterilmektedir. Buna göre en sık görülen üç allel 5101, 3501 ve 3503’tür.



Tablo 4.3. HLA*C genine ait frekanslar

	Tekrar Sayısı	Frekans	Kümülatif frekans	
	0401	216	0.200	0.200
	0701	120	0.111	0.311
	1203	106	0.098	0.409
	0602	83	0.077	0.486
	1202	63	0.058	0.544
	1502	62	0.057	0.601
	1402	61	0.056	0.658
	0702	57	0.053	0.710
	1604	37	0.034	0.745
	1602	34	0.031	0.776
	0202	28	0.026	0.802
	0802	28	0.026	0.828
	0102	25	0.023	0.851
	0303	25	0.023	0.874
	1505	23	0.021	0.895
	1701	17	0.016	0.911
	0704	15	0.014	0.925
	0304	13	0.012	0.937
Geçerli ölçüm	0501	13	0.012	0.949
	0302	12	0.011	0.960
	0718	11	0.010	0.970
	1403	11	0.010	0.981
	0402	3	0.003	0.983
	0316	2	0.002	0.985
	0604	2	0.002	0.987
	1504	2	0.002	0.989
	1513	2	0.002	0.991
	0002	1	0.001	0.992
	0160	1	0.001	0.993
	0319	1	0.001	0.994
	0601	1	0.001	0.994
	0801	1	0.001	0.995
	1601	1	0.001	0.996
	1703	1	0.001	0.997
	1801	1	0.001	0.998
	2701	1	0.001	0.999
	5801	1	0.001	1.000
	Total	1081	100.0	

Tablo 4.3'de HLA*C genine ait frekanslar gösterilmektedir. Buna göre en sık görülen üç allel 0401, 0701 ve 1203'tür.

Tablo 4.4. HLA*DP genine ait frekanslar

	Tekrar Sayısı	Frekans	Kümülatif frekans
0401	412	0.381	0.381
0201	175	0.162	0.543
0402	175	0.162	0.705
1401	39	0.036	0.741
0301	31	0.029	0.770
1301	24	0.022	0.792
10401	24	0.022	0.814
0101	22	0.020	0.834
1101	17	0.016	0.850
1104	16	0.015	0.865
1501	16	0.015	0.880
1701	14	0.013	0.893
0701	13	0.012	0.905
1001	12	0.011	0.916
1502	10	0.009	0.925
0501	9	0.008	0.933
0901	7	0.006	0.940
1454	7	0.006	0.946
1302	6	0.006	0.952
0102	5	0.005	0.957
13101	5	0.005	0.961
1601	4	0.004	0.965
2301	4	0.004	0.969
0403	3	0.003	0.971
0405	3	0.003	0.974
0601	3	0.003	0.977
1103	3	0.003	0.980
10501	3	0.003	0.982
0202	2	0.002	0.984
1142	2	0.002	0.986
1201	2	0.002	0.988
1602	2	0.002	0.990
12601	2	0.002	0.992
0404	1	0.001	0.993
0503	1	0.001	0.994
0604	1	0.001	0.994
0702	1	0.001	0.995
1402	1	0.001	0.996
3701	1	0.001	0.997
4501	1	0.001	0.998
12401	1	0.001	0.999
58501	1	0.001	1.000
Total	1081	100.0	

Tablo 4.4’de HLA*DP genine ait frekanslar gösterilmektedir. Buna göre en sık görülen üç allel 0401, 0201 ve 0402’dir.

Tablo 4.5. HLA*DQB1 genine ait frekanslar

	Tekrar Sayısı	Frekans	Kümülatif frekans	
	0301	302	0.279	0.279
	0501	105	0.097	0.377
	0201	100	0.093	0.469
	0302	92	0.085	0.554
	0503	74	0.068	0.623
	0601	73	0.068	0.690
	0603	64	0.059	0.749
	0202	60	0.056	0.805
	0502	51	0.047	0.852
	0602	49	0.045	0.897
	0604	34	0.031	0.929
	0303	24	0.022	0.951
Geçerli	0305	15	0.014	0.965
ölçüm	0402	13	0.012	0.977
	0609	8	0.007	0.984
	0304	7	0.006	0.991
	1601	2	0.002	0.993
	0319	1	0.001	0.994
	0401	1	0.001	0.994
	0688	1	0.001	0.995
	1201	1	0.001	0.996
	1302	1	0.001	0.997
	2601	1	0.001	0.998
	3301	1	0.001	0.999
	12601	1	0.001	1.000
	Total	1081	100.0	

Tablo 4.5'de HLA*DQB1 genine ait frekanslar gösterilmektedir. Buna göre en sık görülen üç allel 0301, 0501 ve 0201'dir.

Tablo 4.6. HLA*DRB1 genine ait frekanslar

	Tekrar Sayısı	Frekans	Kümülatif frekans
	1104	175	0.162
	0301	97	0.090
	1101	86	0.080
	0701	70	0.065
	1502	68	0.063
	1301	65	0.060
	0402	56	0.052
	1454	52	0.048
	1501	50	0.046
	1302	43	0.040
	0403	38	0.035
	0101	36	0.033
	0102	32	0.030
	1601	28	0.026
	0401	22	0.020
	1001	19	0.018
	0405	17	0.016
	1401	17	0.016
	0404	16	0.015
	0803	13	0.012
	1303	12	0.011
	0201	7	0.006
	0804	7	0.006
	1103	7	0.006
	1201	6	0.006
	1305	5	0.005
	1602	5	0.005
	0111	3	0.003
	10401	3	0.003
	0501	2	0.002
	0609	2	0.002
	0801	2	0.002
	0901	2	0.002
	1118	2	0.002
	1503	2	0.002
	1701	2	0.002
	0010	1	0.001
	0040	1	0.001
	0104	1	0.001
	0161	1	0.001
	0302	1	0.001
	0303	1	0.001
	0410	1	0.001
	1102	1	0.001
	1115	1	0.001
	1402	1	0.001
	1504	1	0.001
	1506	1	0.001
	Total	1081	100.0

Geçerli ölçüm

Tablo 4.6’da HLA*DRB1 genine ait frekanslar gösterilmektedir. Buna göre en sık görülen üç allel 1104, 0301 ve 1101’dir.

Tablo 4.7. HLA*A genine ait en sık görülen 2402/0201/1101 haplotip frekansı

		Tekrar sayısı	Frekans	Kümülatif frekans
Geçerli	2402/0201/1101	436	0.403	100.0
Diğer haplotipler		645	0.597	
Total		1081	100.0	

Tablo 4.7’de HLA*A genine ait en sık görülen 2402/0201/1101 haplotip frekansı gösterilmektedir. Buna göre, HLA*A genindeki 2402/0201/1101 haplotip frekansı 0.403’tür.

Tablo 4.8. HLA*B genine ait en sık görülen 5101/3501/3503 haplotip frekansı

		Tekrar sayısı	Frekans	Kümülatif frekans
Geçerli	5101/3501/3503	360	0.333	100.0
Diğer haplotipler		721	0.667	
Total		1081	100.0	

Tablo 4.8’de HLA*B genine ait en sık görülen **5101/3501/3503** haplotip frekansı gösterilmektedir. Buna göre, HLA*B genindeki **5101/3501/3503** haplotip frekansı 0.333’tür.

Tablo 4.9. HLA*C genine ait en sık görülen 0401/0701/1203 haplotip frekansı

		Tekrar sayısı	Frekans	Kümülatif frekans
Geçerli	0401/0701/1203	442	0.409	100.0
Diğer haplotipler		639	0.591	
Total		1081	100.0	

Tablo 4.9’da HLA*C genine ait en sık görülen **0401/0701/1203** haplotip frekansı gösterilmektedir. Buna göre, HLA*c genindeki **0401/0701/1203** haplotip frekansı 0.409’tür.

Tablo 4.10. HLA*DP genine ait en sık görülen 0401/0201/0402 haplotip frekansı

		Tekrar sayısı	Frekans	Kümülatif frekans
Geçerli	0401/0201/0402	762	0.705	100.0
Diğer haplotipler		319	0.295	
Total		1081	100.0	

Tablo 4.10’da HLA*DP genine ait en sık görülen **0401/0201/0402** haplotip frekansı gösterilmektedir. Buna göre, HLA*DP genindeki **0401/0201/0402** haplotip frekansı 0.705’tür.

Tablo 4.11. HLA*DQB1 genine ait en sık görülen 0301/0501/0201 haplotip frekansı

		Tekrar sayısı	Frekans	Kümülatif frekans
Geçerli	0301/0501/0201	507	0.469	100.0
Diğer haplotipler		574	0.531	
Total		1081	100.0	

Tablo 11’de HLA*DQB1 genine ait en sık görülen **0301/0501/0201** haplotip frekansı gösterilmektedir. Buna göre, HLA*DQB1 genindeki **0301/0501/0201** haplotip frekansı 0.469’dur.

Tablo 4.12. HLA*DRB1 genine ait en sık görülen 1104/0301/1101 haplotip frekansı

		Tekrar sayısı	Frekans	Kümülatif frekans
Geçerli	1104/0301/1101	358	0.331	100.0
Diğer haplotipler		723	0.669	
Total		1081	100.0	

Tablo 12’de HLA*DRB1 genine ait en sık görülen **1104/0301/1101** haplotip frekansı gösterilmektedir. Buna göre, HLA*DRB1 genindeki **1104/0301/1101** haplotip frekansı 0.331’dır.

5. TARTIŞMA

HLA allellerinin tespit edilmesi için geçmişte çalışılan serolojik metodlar yerine artık PCR tabanlı moleküler metodlar çalışılmaktadır. HLA antijenleri çok fazla poliformik olduğundan dolayı serolojik yöntemler bütün allelleri tiplendirememektedir. Bunun yerine PCR tabanlı HLA tipleme metodları düşük veya yüksek çözünürlüklü, daha hızlı, daha güvenilir aynı anda çok fazla örnek çalışabilen metodlardır (85). Bütün bu olumlu sebeplerden ötürü bizde çalışmamızda moleküler bir yöntem olan Yeni Nesil Dizileme (Next Generation Sequencing, NGS) yöntemini uyguladık.

Çeşitli metodlarla çalışılmış literatür verilerini incelediğimizde değişik popülasyonlarda HLA allellerinin sıklığı ve frekansları ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır.

Çalışmamızda HLA*A, HLA*B, HLA*C, HLA*DP, HLA*DQB1, HLA*DRB1 genlerine ait frekanslar gösterilmektedir. Buna göre HLA*A'da en sık görülen üç allel 2402, 0201 ve 1101, HLA*B'da en sık görülen üç allel 5101, 3501 ve 3503, HLA*C'da en sık görülen üç allel 0401, 0701 ve 1203, HLA*DP'de en sık görülen üç allel 0401, 0201 ve 0402, HLA*DQB1'de en sık görülen üç allel 0301, 0501 ve 0201, HLA*DRB1'de en sık görülen üç allel 1104, 0301 ve 1101'dir. Chen ve ark. (2006), Tibetli Çinlilerde birbiriyle akraba olmayan 158 bireyin HLA-A, -B ve -Cw allellerinin dağılımını PCR-SBT (Sequence Based Typing) metodu ile tiplendirmişlerdir. Analiz sonucunda 25 HLA-A, 45 HLA-B ve 20 HLA-Cw alleli belirlemişlerdir. Bu allellerin en sık rastlanılanları A*24G1 (%27.2), B*51G1 (%16.8), Cw*04G1 (%13.3) ve Cw*070201G1 (%13.3) diye göstermişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda Güneybatı Çin'de yaşamakta olan Tibet toplumunun Güney Han Çinlileri ile benzer olduğunu tespit etmişlerdir (86).

Atasoy ve ark. 1997 yılında, Ülkemizin farklı bölgelerinde yaşayan, birbirleriyle her hangi bir akrabalık bağı olmayan 973 bireyin HLA-A ve HLA-B allellerini serolojik yöntemle tespit etmişlerdir. Bu çalışma ile de HLA antijen dağılımının bölgesel farklılık gösterdiği anlaşılmıştır (87)

Choukri ve ark. 2002 yılında, Fas ın Casablanca bölgesinde yaşayan Barbar ve Arapça konuşan aralarında her hangi bir akrabalık olmayan 100 bireyin HLA-A ve HLA-B allellerinin tiplendirilmesini SSP metodu ile çalışmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda 17 HLA-A ve 23 HLA-B alleli saptamışlardır. Tespit edilen bu allellerin sıklığı ise

HLA-A02 (%21), -A01 (% 11), -A03 (% 10), -B44 (% 11.4), -B50 (%9.9), -B05(%8.5) ve -B35 (%6.5)'dir. (88).

Droguett ve ark. 2005 yılında Şili'de yaşamakta olan yerli ve yabancı bireylerin HLA allellerinin sıklığını tespit etmek için bir çalışma yapmışlardır. Alıcı ve vericilerden oluşan 442 bireyin allellerini belirlemek için lenfositotoksiste serolojik metodu ve PCR tabanlı SSP metodu ile çalışmışlardır. Bu bireyler arasında 309 hastanın 78 (%25)'i yerli, 133 vericinin ise 18 (%13)'ünün yerli olduğu belirtilmiştir. Biz bu çalışmamızda farklı ülkelerdeş popülasyonların HLA allellerinin görülme sıklığı bakımından yerli ve yabancı hastalarda en fazla HLA-A28, HLA-B16 ve HLA-DR04 ve HLA-DR08 olduğu görülmüştür. Daha ender rastlanan HLA allelleri ise HLA-A19, -HLA-B15 ve HLA-DR01 olduğu saptanmıştır (89).

Biz bu çalışmamızda farklı ülkelerdeki popülasyonların HLA allellerinin birbirine ne kadar benzediğini veya ne kadar farklılık gösterdiğini saptamak gibi bir amaç belirlemedik. Çalışmamızda bölgemizdeki popülasyonun HLA antijen dağılımını ve en sık görülen allel tiplerini tespit etmeyi amaçladık.

Çalışmamızda HLA*A genine ait en sık görülen **2402/0201/1101** haplotip frekansı, HLA*B genine ait en sık görülen **5101/3501/3503** haplotip frekansı, HLA*C genine ait en sık görülen **0401/0701/1203** haplotip frekansı, HLA*DP genine ait en sık görülen **0401/0201/0402** haplotip frekansı, HLA*DQB1 genine ait en sık görülen **0301/0501/0201** haplotip frekansı ve HLA*DRB1 genine ait en sık görülen **1104/0301/1101** gösterilmektedir.

Buna göre, HLA*A genindeki haplotip frekansı 0.403, HLA*B genindeki haplotip frekansı 0.333, HLA*C genindeki haplotip frekansı 0.409, HLA*DP genindeki haplotip frekansı 0.705, HLA*DQB1 genindeki haplotip frekansı 0.469, HLA*DRB1 genindeki haplotip frekansı 0.331 çıkmıştır.

Kalaoğlu 2019'nun 84 kadın ve 53 erkek bireyden oluşan toplam 137 donörle yapılan bu çalışmada 12- XSTR lokusunun Doğu Akdeniz-Güneydoğu Anadolu Bölgesi popülasyonlarında allel ve haplotip frekans dağılımları çalışılmıştır. Yapılan araştırmada bu popülasyon için en düşük allel sayısına sahip lokusun 5 allelli DXS8378, en fazla allel sayısına sahip lokusun 31 allelli DXS10148 olduğu görülerek diğer popülasyon neticelerine bakıldığında da aynı sonuçlar görülmüştür. 53 haploid örnekte bağlantılı grupların oluşturduğu haplotipler araştırıldığında; a) Bağlantı grubu 1 (DXS8378, DXS10135 ve DXS10148)'de 50 farklı haplotip, b) Bağlantı grubu 2 (DXS7132, DXS10074 ve DXS10079)'de 46 farklı haplotip, c) Bağlantı grubu 3

(HPRTB, DXS10101 ve DXS10103)'te 39 farklı haplotip ve d) Bağlantı grubu 4 (DXS7423, DXS10134 ve DXS10146)'te 46 farklı haplotip tanımlanmış olup, bağlantılı gruplar için en düşük PD değeri 0.94'ün üzerinde tespit edilmiştir (90).

HLA moleküllerinin haplotip frekanslarının belirlenmesi, bazı hastalıkların önlenmesinde önem arz eder. Belirli HLA allellere sahip haplotipler endemik yerlerde daha büyük frekanslarda gerçekleşmesi beklenir (91). Birbirinden bağımsız farklı toplumlarda HLA allelllerinin haplotip kombinasyonlarının çeşitli olmasının nedeni olarak haplotipler tarafından kodlanan allelleri meydana getiren ürünlerin farklı patojenlerden dolayı peptit epitoplarına tutunma esnasında tamamlayıcı/telafi edici nitelikleri olmasından kaynaklanmaktadır (92).

Kayhan ve ark. 2013 yılında yaptıkları çalışmada 208 diyaliz hastasının haplotip frekanslarını popülasyon genetiği çalışmalarında genellikle kullanılan Arlequin bilgisayar programıyla hesaplamışlardır ve 550 farklı HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 haplotipi içinde frekansları 0,01'den yüksek olan 4 haplotip belirlemişlerdir. Bu haplotiplerden üçü sırasıyla A*02-B*51-DRB01*11, A*11-B*35-DRB01*11 ve A*24-B*35-DRB01*11 olarak tespit edilmiştir (93).

Arnaiz-Villena ve ark. 2001 yılında yapmış oldukları çalışmada HLA-A, -B ve HLA-B, -DRB1 haplotipleri ve bunların frekans ve bağlantı dengesizliği analizleri yapılmıştır. A*24- B*44, A*23-B*49, A*26-B*38 ve B*51-DRB1*11, B*50, DRB1*07, B*49- DRB1*14 en sık görülen haplotipler olduğu tespit edilmiştir (94). Uyar ve ark. 2004 yılında yaptıkları çalışmada HLA-A, -B haplotiplerini araştırdıklarında A*02-B*35, A*24-B*35, A*02-B*51'i en sık 3 haplotip olarak tespit etmişlerdir (95). Kayhan ve ark. 2013 yılı çalışmalarında A*01-B*35, A*02-B*07 ve A*02-B*08 haplotiplerini en sık HLA-A, -B haplotipleri olduğunu belirlemişlerdir (93).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuç

Çalışma sonucunda;

HLA*A'da en sık görülen üç allel 2402, 0201 ve 1101, HLA*B'da en sık görülen üç allel 5101, 3501 ve 3503, HLA*C'da en sık görülen üç allel 0401, 0701 ve 1203, HLA*DP'de en sık görülen üç allel 0401, 0201 ve 0402, HLA*DQB1'de en sık görülen üç allel 0301, 0501 ve 0201, HLA*DRB1'de en sık görülen üç allel 1104, 0301 ve 1101 olarak tespit edilmiştir.

HLA*A genine ait en sık görülen 2402/0201/1101 haplotip frekansı, HLA*B genine ait en sık görülen 5101/3501/3503 haplotip frekansı, HLA*C genine ait en sık görülen 0401/0701/1203 haplotip frekansı, HLA*DP genine ait en sık görülen 0401/0201/0402 haplotip frekansı, HLA*DQB1 genine ait en sık görülen 0301/0501/0201 haplotip frekansı ve HLA*DRB1 genine ait en sık görülen 1104/0301/1101 haplotif frekansı gösterilmektedir. Buna göre, HLA*A genindeki haplotip frekansı 0.403, HLA*B genindeki haplotip frekansı 0.333, HLA*C genindeki haplotip frekansı 0.409, HLA*DP genindeki haplotip frekansı 0.705, HLA*DQB1 genindeki haplotip frekansı 0.469, HLA*DRB1 genindeki haplotip frekansı 0.331 bulunmuştur.

6.2. Öneriler

Bir popülasyonun HLA allellerinin sıklığı ve haplotip frekanslarının belirlenmesi, nakil yapılacak olan hastaların akraba dışı donör arama sürecinde Ulusal donör bankalarının daha planlı çalışmasına katkı sağlar. Böylece hastaya en uyumlu donörün bulunması süreci hızlandırılmış olur. Ayrıca farklı popülasyonların HLA allellerinin tespit edilmesi antropolojik çalışmalarda ve HLA hastalık ilişkileri ile ilgili çalışmalarda da kullanılabilir.

Bundan sonra yapılacak çalışmalarda çeşitli etnik kökenli bireylerden ve teşhislerin net olarak konduğu olguları çalışmaya dahil ederek, bu bireylerin hem de etnik kökenlerine ait HLA allellerinin dağılımını ve HLA - hastalık ilişkisini daha net bir şekilde belirlenmesi önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. Pala FS, Tabakçioğlu K, Algüneş Ç, Ömürlü İK. Trakya'da Yaşayan Popülasyonun HLA-A, B ve DR Sıklığı Yönünden Değerlendirilmesi ve Balkan Popülasyonları ile Akrabalığının Gösterilmesi. *Trakya Univ Tıp Fak Derg* 2008, 25(3): 189-95.
2. Akçam FS, HLA Sistemi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Isparta. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005, 25(6): 829-42.
3. Salvadori LC, Santana FCS, Marcos FVC, Frequency of alleles and haplotypes of the human leukocyte antigen system in Bauru, São Paulo, Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2014, 36(2): 108-22.
4. Fan WL, Shiao MS, Hui RC, Su SC, Wang CW, Chang YC, Chung WH. HLA association with drug-induced adverse reactions. *J Immunol Res* 2017, 2017:3186328.
5. Erol A, Bilir A, Hematopoetik Kök Hücre Nakillerinde HLA Doku Tiplemesinin Önemi. *Aydın Sağlık Dergisi*, 2017, 3(1):1-8
6. Morishima S. Implications of HLA in allogeneic stem cell transplantation. *Rinsho Ketsueki* 2019, 60(9): 1324-30.
7. Brecher M. Chapter 17 The HLA system. *AABB technical Manual* 15th ed. AABB 2005: 385-405.
8. Hunger SP, Mullighan CG. Redefining ALL classification: toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine. *Blood* 2015, 125(26): 3977-96.
9. Thorsby E. A short history of HLA. *Tissue Antigens* 2009, 74: 101-16.
10. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000, a; 343: 702-15.
11. Klein J, Sato A. The HLA system. Second of two parts. *N Engl J Med* 2000, b; 343: 782-96.
12. Sharpe IK, Ahmad M, Braun W. Familial spontaneous pneumothorax and HLA antigens. *Chest* 1980, 78: 264-78.

13. Abolnik IZ, Lossos IS, Zlotogora J, Brauer R. On the inheritance of primary spontaneous pneumothorax. *Am J Med Genet* 1991, 40: 155-68.
14. Balcı AE, Etem EÖ, Çakmak M, Elyas H, Özyurtkan MO. Investigation of the HLA class I antigens in patients with primary spontaneous pneumothorax, *Turk J Med Sci* 2010, 40 (6): 865-9.
15. Bodmer W, Thomson G. Population genetics and evaluation of the HLA system. Copenhagen: *Munksgaard* 2002: 280-92.
16. Keles B, Cora T, Acar H, Arbag H, Inan Z, Ozturk K. Evaluation of HLA-A, -B, -Cw, and -DRB1 alleles frequency in Turkish patients with nasal polyposis. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2008, 139: 580-95.
17. Reveille JD. The genetic basis of ankylosing spondylitis. *Curr Opin Rheumatol* 2006, 18: 332-41.
18. Machens A, Löliger C, Pichlmeier U, Emskötter T, Busch C, Izbicki J. Correlation of thymic pathology with HLA in myasthenia gravis. *Clin Immunol* 1999, 91: 296-311.
19. Tokgöz G, Düzgün N, Turgay M, Kınıklı G, Duman M, Ölmez Ü. Türk popülasyonunda HLA-A, B ve C antijenlerinin dağılımı, *Türk J Med Res* 1993, 11: 32-46.
20. Arnaiz-Villena A, Karin M, Bendikuze N, Gomez-Casado E, Moscoso J, Silvera C et al. HLA alleles and haplotypes in the Turkish population: relatedness to Kurds, Armenians and other Mediterraneans. *Tissue Antigen* 2001, 57: 308-17.
21. Deakin J, Papenfuss A, Belov K, Cross JGR, Coghill P, Palmer S, Sims S, Speed TP, Beck S, Graves J.A.M. Evolution and comparative analysis of the MHC Class III inflammatory region. *BMC Genomics* 2006, 7: 262-81.
22. Gülmezoglu E, Ergüven S. *İmmünoloji, Doku uygunluk antijenleri*. Ankara, Hacettepe Taş Kitapçılık, 1994.
23. Oğuz FS, Çarın M. MHC genlerinin organizasyonu. *Sendrom* 1999, 11: 126-47.
24. Beksaç M. *HLA ve Doku tiplendirmesi*. THD Kan ve Kemik iliği Transplantasyonu Kurs Kitabı 2004.

25. Ekici N. Atopik Dermatitli Olgularda HLA Antijenlerinin Dağılımı. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilimdalı. Yüksek Lisans tezi, Edirne: Trakya Üniversitesi, 2000.
26. Davla K. Her Yerde Karsında; Nedir Bu HLA Tiplendirimi. XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi, IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbni Sina Hastanesi, Hematoloji Bilim Dalı Laboratuvarı. 2004.
27. Ustaçelebi Ş. *Temel Laboratuvar Bilgileri Mikrobiyolojik Analizler*, 3.Baskı. Ankara, Güneş Yayınevi, 1999: 1109-215.
28. Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF. Nomenclature for factors of the HLA system. *Tissue Antigens*. 2010, 75: 291-355.
29. Todd JA, Acha-Orbea H, Bell JI, Chao N, Fronek Z, Jacob CO. A molecular basis for MHC class II--associated autoimmunity. *Science*. 1988, 240(4855): 1003-19.
30. Gruen JR, Weissman SM. Evolving views of the major histocompatibility complex. *Blood*. 1997, 90(11): 4252-65.
31. Stites DP, Terr A. *Basic and Clinical Immunology*. USA, Appleton&Lange,1990.
32. Amber KT, Zikry J, Hertl M. A multi-hit hypothesis of bullous pemphigoid and associated neurological disease: Is HLA-DQB1*03:01, a potential link between immune privileged antigen exposure and epitope spreading? *HLA*. 2017, 89(3): 127-44.
33. Özcan R. Kroroziv Madde İçimine Bağlı Özafagus Darlığı Gelişimi ve HLA İlişkinin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı. Uzmanlık Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2007.
34. Davla K. *Nedir Bu HLA Tiplendirimi Ulusal Hematoloji Kongresi*, XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi, IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu Antalya, 2009.
35. Jeffrey GR, Weissman SM. Human MHC Class III and IV genes and disease associations. *Front Biosci*. 2001, 6(1): 960-72.
36. Lüleypap Ü. *Moleküler Genetiğin Esasları*. Nobel Kitabevi, Adana, 2008.
37. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. The MHC sequencing consortium. *Nature*. 1999, 401(6756): 921-33.

38. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts, *N Engl J Med*. 2000, 343(10): 702-19.
39. Rodney GE. *HLA Beyond Tears*. Houston, Texas, De Novo Inc, 2000.
40. Başaran N. *Tıbbi Genetik*, 6. Baskı. Bilim Teknik Kitabevi, Eskişehir: 1996.
41. Yiğitbaş E. Türk Popülasyonunda Yüksek Rezolusyon MHC Class I Related chain (MICA) Genotipleme, HLA-B-MICA Haplotiplerinin İncelenmesi ve Yeni MICA Allellerinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilimdalı. Doktora Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi, 2006.
42. Maldini C, Layalley MP, Cheminant M. Relationships of HLA-B51 or B5 genotype with Behçet's disease clinical characteristics: systematic review and meta-analyses of observational studies. *Rheumatology*. 2012, 51(5): 887-900.
43. Robinson PC, Brown MA. The genetics of ankylosing spondylitis and axial spondyloarthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2012, 38(3) :539-53.
44. Mizuki N, Ota M, Katsuyama Y, Yabuki K, Ando H, Shiina T. HLA-*51 allele analysis by the PCR-SBT method and a strong association of HLA-B*5101 with Japanese patients with Behçet's disease. *Tissue Antigens*. 2001, 58(3): 181-94.
45. Dick HM. HLA and disease. *Br Med Bull*. 1978, 34(3): 271-84.
46. Abbas KA, Andrew HL, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*, 10th ed. Amsterdam, Saunders Elsevier, 2007:97-111.
47. Snell GD. Studies in histocompatibility. *Science* 1981, 213(4504): 172-8.
48. McDewitt H. Ig genes: toward the year 2000. *Research in Immunol* 1991, 142(5-6): 509-23.
49. Snell GD. The Nobel Lectures in immunology. Lecture for the Nobel Prize for Physiology or Medicine, 1980: Studies in histocompatibility. *Scand J Immunol* 1992, 36(4): 513-26.
50. Trowsdale J. The MHC, disease and selection. *Immunol Lett* 2011, 137(1-2) :1-8.
51. Pross S. Major Histocompatibility Complex. xPharm: *Compr Pharmacol Ref*, 2007: 1-7.
52. Pirim İ. I. *Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kurs Kitabı*. 2008: 10-22.

53. Çevirgen T. Multipl Myelomlu Hastalarda HLA Sınıf I ve Sınıf II Allel Sıklığının Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi, 2005.
54. Yang Y, Muzny DM, Xia F, Niu Z, Person R, Ding Y, Ward P, Braxton A, Wang M, Buhay C. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. *JAMA* 2014, 312(18): 1870-9.
55. Harding KE, Robertson NP. Applications of next-generation whole exome sequencing. *J Neurol* 2014, 261(6): 1244-6.
56. Rosenfeld JA, Mason CE, Smith TM. Limitations of the human reference genome for personalized genomics. *PLoS One* 2012:402-14.
57. Sawyer SL, Hartley T, Dymont DA, Beaulieu CL, Schwartzentruber J, Smith A, Bedford, HM, Bernard G, Bernier FP, Brais Bi, utility of whole-exome sequencing for those near the end of the diagnostic odyssey: time to address gaps in care. *Clin Genet* 89, 2016: 275-84.
58. Kılıçturgay K. *İmmünolojiye Giriş*. 3. Baskı. Günes ve Nobel Tıp Yayınevi, İstanbul, 1994.
59. Tian W, Boggs DA, Ding WZ, Chen DF, Fraser PA. MICA genetic polymorphism and linkage disequilibrium with HLA-B in 29 African-American families, *Immunogenetics* 2001 53(9): 724–8.
60. Williams ES, Hegde M. Implementing genomic medicine in pathology. *Adv Anat Pathol* 2013, 5(20): 238-54.
61. Boycott KM, Vanstone MR, Bulman DE, MacKenzie AE. Rare disease genetics in the era of next-generation sequencing: discovery to translation. *Nat Rev Genet* 2013, 14(10): 681-91.
62. Chang F, Li MM. Clinical application of amplicon-based next generation sequencing in cancer. *Cancer Genet* 2013, 206(12): 413-29.
63. Liu C, Yang X, Duffy B, Mohanakumar T, Mitra RD, Zody MC, Pfeifer JD. ATHLATES: accurate typing of human leukocyte antigen through exome sequencing. *Nucleic Acids Res* 2013, 2(8): 41-9.

64. Mori A, Deola S, Xumerle L, Mijatovic V, Malerba G, Monsurro V. Next generation sequencing: new tools in immunology and hematology. *Blood Res* 2013, 48(4): 242-59.
65. Gillis, NK, Patel JN, Innocenti F. Clinical implementation of germ line cancer pharmacogenetic variants during the next-generation sequencing era. *Clin Pharmacol Ther* 2014, 95(3):269-80.
66. Bertelli C, Greub G. Rapid bacterial genome sequencing: methods and applications in clinical microbiology. *Clin Microbiol Infect* 2013, 19(9): 803-13.
67. Pinxten W, Howard HC. Ethical issues raised by whole genome sequencing. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2014, 28(2): 269-82.
68. Soden SE, Saunders CJ, Willig L, Farrow EG, Smith LD, Petrikin JE, LePichon JB, Miller NA, Thiffault I, Dinwiddie DL, Effectiveness of exome and genome sequencing guided by acuity of illness for diagnosis of neurodevelopmental disorders. *Sci Transl Med* 2014, 6(3): 265-78.
69. Srivastava S, Cohen JS, Vernon H, Baranano K, McClellan R, Jamal L, Naidu S, Fatemi A. Clinical whole exome sequencing in child neurology practice. *Ann Neurol* 2014, 76(4):473-83.
70. Tetreault M, Bareke E, Nadaf J, Alirezaie N, Majewski J, Wholeexome sequencing as a diagnostic tool: current challenges and future opportunities. *Expert Rev Mol Diagn* 2015, 15(6):749-60.
71. Beck TF, Mullikin JC, Program NCS, Biesecker, LG. Systematic Evaluation of Sanger Validation of Next-Generation Sequencing Variants. *Clin Chem* 2016, 62(4): 647-64.
72. Tucker T, Marra M, Friedman JM. Massively parallel sequencing: the next big thing in genetic medicine. *Am J Hum Genet* 2009, 85(2):142-54.
73. Voelkerding KV, Dames S, Durtschi JD. Next generation sequencing for clinical diagnostics-principles and application to targeted resequencing for hypertrophic cardiomyopathy: a paper from the 2009 William Beaumont Hospital Symposium on Molecular Pathology. *J Mol Diagn* 2010, 12(5): 539-51.

74. Su Z, Ning B, Fang H, Hong H, Perkins R, Tong W, Shi L. Nextgeneration sequencing and its applications in molecular diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2011, 11(3): 333-53.
75. Zhao H, Pfeiffer R, Gail MH, Haplotype analysis in population genetics and association studies, *Pharmacogenomics* 2003, 4(2): 171–88.
76. Sabeti PC, Reich DE, Higgins JM. Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature* 2002, 419(24): 832-47.
77. Devlin B, Risch N. A comparison of linkage disequilibrium measures for fine-scale mapping. *Genomics* 1995, 29(2) :311-22.
78. Kruglyak L, Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *Nat. Genet.* 1999, 22(2): 139-54.
79. Reich DE, Cargill M, Bolk S. Linkage disequilibrium in the human genome. *Nature* 2001, 411(10):199-214.
80. Weiss KM, Clark AG. Linkage disequilibrium and the mapping of complex human traits. *Trend Genet.* 2002, 18(1): 19-34.
81. Dawson E, Abecasis GR, Bumpstead S. A first-generation linkage disequilibrium map of human chromosome 22. *Nature* 2002, 418(1): 544-58.
82. Reich DE, Schaffner SF, Daly MJ, Human genome sequence variation and the influence of gene history, mutation and recombination. *Nat. Genet.* 2002, 32(1): 135-42.
83. Dempster AP, Laird NM, Rubin DB. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *J. Roy. Statist. Soc.* 1999, 39(1): 1-38.
84. Clayton D, Jones H. Transmission/ disequilibrium tests for extended marker haplotypes. *Genet.* 1999, 65(4): 1161-79.
85. Pirim İ. I. *Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kurs Kitabı.* 2008: 10-22.
86. Chen S, Hong W, Shao H, Fu Y, Liu X, Chen D, Xu A. Allelic distribution of HLA class I genes in the Tibetan ethnic population of China. *Int J Immunogenet* 2006, 33(6): 439–55.

87. Atasoy S, Abacı- Kalfoğlu E, Polymorphism of conventional genetic markers and HLA system in Turkey. *HLA research*. 1997, 55(1): 55-71.
88. Choukri F, Chakib A, Himmich H, Hue S, Caillat-Zucman. HLA class I polymorphism in a Moroccan population from Casablanca. *Eur J Immunogenet* 2002, 29(3): 205–11.
89. Droguett MA, Oyarzún MJ, Alruiz P, Jerez V, Mezzano S, and Ardiles L. Human Leukocyte Antigens in Indigenous (Mapuche) People in a Regional Renal Transplantation Program in Chile. *Transplantation Proceedings*, 2005, 37(8): 3367–81.
90. Kalaoğlu E. 12 X-STR Lokusunun Adli Etkinlik Değerlerinin Araştırılması. Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilimdalı. Tıpta Uzmanlık Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi, 2019.
91. Rao X, De Boer RJ, van Baarle D, Maiers M, Kesmir C. Complementarity of binding motifs is a general property of HLA-A and HLA-B molecules and does not seem to effect HLA haplotype composition. *Frontiers in immunology* 2013, 4(7): 4-18.
92. Sanchez MA, Fernandez-Viña M, Middleton D, Hollenbach JA. Immunogenetics as a tool in anthropological studies. *Immunology* 2011, 133(2): 143-64.
93. Kayhan B, Kurtoglu EL, Taskapan H, Piskin T, Sahin I, Otlu G, Unal B. HLA-A,-B,-DRB1 allele and haplotype frequencies and comparison with blood group antigens in dialysis patients in the East Anatolia region of Turkey. *In Transplantation proceedings* 2013, 45(6): 2123-38.
94. Arnaiz VA. HLA alleles and haplotypes in the Turkish population: relatedness to Kurds, Armenians and other Mediterraneans. *Tissue Antigens* 2001, 57(4): 308-17.
95. Uyar FA, Dorak MT, Saruhan DG. Human leukocyte antigen- A,-B and-C alleles and human leukocyte antigen haplotypes in Turkey: relationship to other populations. *Tissue antigens* 2004, 64(2): 180-97.

EKLER

EK 1. Özgeçmiş



EK 2. Çalışma İzin Belgesi



EK 3. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Karar Formu

