



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**GLİOBLASTOMA MULTİFORME (GBM)'DE HÜCRE
ÖLDÜRÜCÜ İMMÜNGLOBÜLİN BENZERİ RESEPTÖR
(KIR) GEN POLİMORFİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. M. Emre SARAÇ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Alp İskender GÖÇER

ADANA-2014

TEŞEKKÜR

Kendisini tanıdığımndan beri desteğini esirgemeyen biricik eşim Yard. Doç. Dr. Ezgi ÖZYILMAZ SARAÇ ve varlığıyla mutluluk kaynağımız olan canım kızım Mira SARAÇ'a, tez danışmanlarım kliniğimiz öğretim üyesi Prof. Dr. Alp İskender GÖÇER ve Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Özlem GÖRÜROĞLU ÖZTÜRK'e, aileme ve eşimin ailesine, asistanlığım süresince eğitimim ve öğrenimim için bilgi ve deneyimleri ile yaptıkları katkılarından dolayı bölümümüzün hocalarına, gösterdikleri dostluk ve samimi destekleri için tüm çalışma arkadaşlarıma, asistanlığım süresince en yakın arkadaşım ve eş kıdemlim Dr. Kadir OKTAY'a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. M. Emre SARAÇ
ADANA, 2014

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ÖZET ve ANAHTAR KELİMELER	IX
ABSTRACT and KEY WORDS	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Beyin Tümörleri	4
2.1.1. Malign Beyin Tümörleri	4
2.1.1.1. Glial Tümörler	4
2.1.1.2. Metastatik Beyin Tümörleri.....	4
2.1.2. Benign Beyin Tümörleri	5
2.1.3. Beyin Tümörleri Epidemiyoloji	5
2.1.4. Beyin Tümörü Oluşumunu Etkileyen Faktörler.....	7
2.1.5. Olguların Yaş ve Cinsiyeti	8
2.1.6. Beyin Tümörlerinin Evrelendirilmesi	9
2.1.7. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Derecelendirmesi	9
2.1.8. Glioblastoma Multiforme.....	10
2.1.8.1. Glioblastoma Multiformenin Genetik Özellikleri	11
2.1.8.2. Glioblastoma Multiforme Epidemiyoloji	15
2.1.8.3. Glioblastoma Multiforme Yerleşim Bölgeleri.....	16
2.1.8.4. Glioblastoma Multiforme Tedavisi	16
2.2. Bağışıklık Sistemi	17
2.2.1. Bağışıklık Sisteminin Genel Özellikleri	17
2.2.1.1. Doğal İmmünite	17
2.2.1.1.1. Doğal İmmün Sistem Elemanlarının Aktivasyonu.....	17
2.2.1.2. Kazanılmış İmmünite.....	21
2.2.1.3. Hümorale İmmünite.....	22

2.2.1.4. Hücresel İmmünite.....	23
2.2.1.5. Büyük Doku Uyuşum Kompleksi.....	24
2.2.1.5.1. MHC Sınıf I Molekülleri	26
2.2.1.6. Doğal Öldürücü (Natural Killer, NK) Hücreler.....	27
2.2.1.6.1. NK Hücrelerinin Yüzey Reseptörleri	30
2.2.1.6.2. NK Hücrelerinin Uyarılması	33
2.2.2. KIR'ların Yapısı.....	34
2.2.3. KIR'ların Adlandırılması	35
2.2.4. KIR Ligandları	36
2.2.5. KIR Genleri.....	37
2.2.6. KIR Genlerinin Allelik Polimorfizmi	39
2.2.7. KIR Genlerinin Dizilimi ve Haplotipik Değişkenlik	40
2.2.7.1. Bağlantı Dengesizliği	43
2.2.8. KIR Gen Dizileri.....	44
2.2.9. KIR Genlerinin Ekzon ve İntron Yapıları.....	44
2.2.10. KIR Ekspresyonu ve KIR Repertuarının Devamlılığı	45
2.2.11. KIR'ların Transplantasyondaki Önemi.....	46
2.2.11.1. KIR ve Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu	46
2.2.11.2. KIR ve Solid Organ Transplantasyonu.....	47
2.2.11.3. KIR'ların Hastalıklardaki Rollerini	47
3. GEREÇ ve YÖNTEM	49
4. BULGULAR.....	51
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	64

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1. GLOBOCAN 2008 Kayıtlarına Göre Dünya Çapında Görülen Kansere Çeşitlerinin Sıklık ve Ölüm Oranları (100.000 bireyde).....	5
Tablo 2. WHO Merkezi Sinir Sistemi Tümörlerinin Sınıflandırması, 2007	7
Tablo 3. Beyin Tümörü Gelişiminde Rol Oynadığı Düşünülen Olası Faktörler	8
Tablo 4. Patojen ile İlişkili Moleküler Yapıların Toll-Like Reseptörler ile Tanınması ve Transkripsiyon Faktörlerinin İndüklenmesiyle Fagositozun Başlatılması.	19
Tablo 5. KIR'ın Ligandları	37
Tablo 6. EMBL KIR Bilgi Bankasına 15.05.2008 Tarihine Kadar Girilmiş Olan Allel Tipleri ve Sayıları.....	39
Tablo 7. GBM Tanılı Hastalarda Cinsiyete Göre Sayısal Değerler	51
Tablo 8. Kontrol Grubunda Cinsiyete Göre Sayısal Değerler	51
Tablo 9. Çalışma Gruplarının Yaş Ortalaması	51
Tablo 10. İnhibitör ve Aktivatör Genlerin Frekansları: 2DL3 Geninin Hastalığa Yatkınlıkla İlişkisi İstatistiksel Olarak Anlamlı. P<0,05.	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. Primer ve Sekonder GBM'deki önde gelen genetik değişimler	13
Şekil 2. Glioblastoma Multiforme, düşük grade astrositom ve anaplastik astrositomda saptanan majör genetik değişiklikler	14
Şekil 3. Fagositik hücrelerin Toll-like reseptörler aracılığı ile aktivasyonu	20
Şekil 4. Farklı immünglobulinlerin sabit ve değişken yapılarının şematik görünümü.	22
Şekil 5. HLA gen bölgesinin 6. kromozom üzerindeki yerlesimi ve Sınıf I, II, III Bölgeleri	25
Şekil 6. Sınıf I HLA molekülünün şematik görünümü	27
Şekil 7. CD56bright ve CD56dim doğal öldürücü hücrelerin periferik kan örneğinde akımsitometri ile analizi.....	29
Şekil 8. Viruslerle enfekte hücrelerin, NK hücreleri ile ekstrasellüler olarak öldürülmesi.....	30
Şekil 9. Aktive edici NK hücre reseptörleri	32
Şekil 10. İnhibe edici NK hücre reseptörleri	33
Şekil 11. NK hücre aktivasyonu.....	34
Şekil 12. KIR'ların yapısı	35
Şekil 13. KIR allel adlandırılması	36
Şekil 14. Lökosit reseptör kompleksi (19q13.4) ve bir KIR haplotipi	38
Şekil 15. KIR Haplotiplerinin gen dizisi	41
Şekil 16. Populasyonlarda bulunan farklı KIR haplotiplerinin şematik görünümü	42
Şekil 17. KIR genlerinin farklı hastalıklarla ilişkisini gösteren şematik resim	48
Şekil 18. Hastaların genotip dağılımları	52
Şekil 19. Hasta ve kontrol grubunda inhibitör ve aktivatör genlerin frekansları	53

KISALTMALAR LİSTESİ

A

- ASH** : Antijen sunan hücreler
ADCC : Antikor bağımlı hücresel sitotoksisite

C

CBTRUS: Amerika Beyin Tümörü Kayıt Merkezi (Central Brain Tumor Registry of The United States)

- cM** : Santimorgan
CDK : Siklin bağımlı kinaz

CDKN2A: Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2

D

- DSÖ** : Dünya Sağlık Örgütü

E

- EBI** : Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü (European Bioinformatics Institute)
EMBL : Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı (European Molecular Biology Laboratory)
EMBL-Bank: EMBL ve Nükleotid Dizi Veritabanı (EMBL Nucleotide Sequence Database)
EGFR : Epidermal büyüme faktörü reseptörü

G

- GvHH** : Graft versus host hastalığı

H

- HLA** : İnsan lökosit antijenleri (human leukocyte antigens)
HUGO : İnsan Genom Organizasyonu'nun (Human Genome Organization)

HKHN : Hematopoietik kök hücre nakli

HDM 2 : İnsan double minute 2

I

ITIM : Immunoreseptör tirozine dayalı inhibitör motifler

ITAM : Immunoreseptör tirozine dayalı aktivatör motifler

IL : İnterlökin

IFN : İnterferon

ILT : Immunglobulin benzeri transkriptler

K

KIR : Killer cell immunoglobulin-like receptors (katil immünoglobulin-benzeri reseptörler)

KAR : Katil aktivatör reseptörler

L

LRC : Lökosit reseptör kompleksi

LILR : Lökosit Ig-benzeri reseptör ailesi

LAIR : Lökosit-iliskili inhibitör reseptör

LOH : Heterozigotisme kaybı

M

MHC : Büyük doku uyum kompleksi (majör histokompatibilite kompleks)

MIC A : Major histokompatibilite I zincir ilişkili antijen A

MIC B : Major histokompatibilite I zincir ilişkili antijenB

MDM 2 : Mouse double minute 2

MAPK : Mitojen aktive edici protein kinaz

N

NF-KB : Nükleer faktör-KB

NK : Doğal öldürücü (Natural Killer)

NKR : Doğal öldürücü reseptörler
NCR1 : Doğal sitotoksik tetikleyici reseptör 1

P

PDGFRA: Platelet kökenli büyüme faktörü reseptörü A
pRB 1 : Retinoblastom yatkınlık lokusu protein 1
PTEN : Fosfat ve tensin homoloğu
P53 : Tümör baskılayıcı protein 53
PDGFR : Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü
PI3K : Fosfatidilinositol 3 kinaz
PKB : Protein kinaz B

S

SSOP : Sequence specific oligonucleotid probes
SIGLEC : KIR reseptör ailesinin yanı sıra sentromerden telomere doğru siyalik asit bağlayan immunoglobulin-benzeri lektinler

T

TLR : Toll-like reseptör
TNF : Tümör nekrozis faktör
Th : Yardımcı T lenfositler
Tc : Sitotoksik T lenfositler

W

WHO : World Health Organization

ÖZET

Glioblastoma Multiforme (GBM)'de Hücre Öldürücü İmmünglobülin Benzeri Reseptör (KIR) Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi

Amaç: Bu çalışmanın amacı Glioblastoma Multiforme (GBM) tanılı olgularda KIR polimorfizminin dağılımını inceleyerek, klinik gidişin öngörülebilmesini, hastalarda genetik mekanizmanın ortaya konulmasını ve gelecekteki muhtemel tedavi yöntemleri için yönlendirici olmaktır.

Materyal ve Metod: Bu çalışmaya Ekim 2013- Ocak 2014 tarihleri arasında Nöroşirurji Anabilim dalımıza başvuran erişkin yaşta (18 yaş üzeri), histopatolojik olarak GBM tanısı almış 31 hasta ve 50 sağlıklı kontrol olgusu dahil edilmiştir. Hasta ve kontrollerden bilgilendirilmiş onayları alındıktan sonra demografik, klinik özellikleri ve kan örnekleri alınmıştır. DNA izolasyonu yapıldıktan sonra KIR genotiplendirmesi Sekans Oligonükleotid Prob Metodu (SSOP) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Sonuçlar: 20 erkek, 11 kadın toplam 31 GBM hastası ve 32 erkek 18 kadın toplam 50 sağlıklı kontrol olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. Hasta ve kontrollerin yaş (Hasta: 53,5 yıl vs. Kontrol: 53.8 yıl), ve cinsiyet dağılımları (Hasta grupta erkek/kadın: % 64.5/35.5; Kontrol grubunda erkek/kadın: % 64/36) her iki grupta benzer bulundu ($p>0.05$). Hasta ve kontroller, inhibitor, activator ve psödogenler olmak üzere 16 farklı KIR gen bölgesi açısından değerlendirildi ve KIR2DL4, 3DL2, 3DL3 ve 3DP1'ü içeren çerçeve genleri tüm hasta ve kontrollerde pozitif bulundu. Ayrıca, inhibitor KIR genlerinden 2DL3 geninin, hastalarda, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek olduğu gösterildi ($p<0.05$).

Tartışma: Bu çalışmada inhibitör KIR geni 2DL3, GBM için yatkınlık oluşturan bir genetik faktör olarak bulunmuştur. GBM hücrelerinin immun sistem genetiği ile ilişkisinin anlaşılması ailevi yatkınlıkların önceden tahmini ve erken teşhis açısından önem taşımaktadır. Bundan da öte bu bilgi hastalara cerrahi sonrası uygulanabilecek bireysel immunoterapotik tedavi modaliteleri geliştirmek için anahtar olarak kullanılabilir.

AnahtarSözcükler: KIR geni, NK hücreleri, Glioblastoma Multiforme, SSOP.

ABSTRACT

The Evaluation of Killer Cell Immunoglobulin-like Receptor (Kir) Gene Polymorphism in Glioblastoma Multiforme

Purpose: Our aim was to evaluate the distribution of Kir gene polymorphism in order to predict the clinical course, enlight the genetic mechanisms and be guidance for the potential therapeutic methods.

Material and Methods: Thirty-one adult patients who were admitted to our Department of Neurochirurgie and diagnosed as GBM between October 2013 and January 2014, and 50 control subjects were included for the study. After obtaining informed consents, demographical, clinical information and blood samples were collected from each participant. After isolating DNA, Kir genotyping was performed with the sequence specific oligonucleotid probes (SSOP) method.

Results: Twenty male, 11 female a total of 31 GBM patients and 32 male and 18 female, a total of 50 control subjects were included for the study. The mean age (53,5 years vs. 53.8 years, respectively) and gender distribution (male/female: % 64.5/35.5 vs. % 64/36, respectively) were comparable among patients and the controls ($p>0.05$). Sixteen different Kir gene including inhibitor, activator and pseudogenes were investigated for each sample and the framer genes including KIR2DL4, 3DL2, 3DL3 and 3DP1 was present in all of the patient and controls. In addition, the inhibitor KIR genes, 2DL3 gene was significantly more common in patients than controls ($p<0.05$).

Conclusion: This study showed the inhibitor Kir gene 2DL3 as a predisposition for GBM. The identification of the potential link between GBM cells and immune system genetics is critical for predicting familiar predisposition and early diagnosis. In addition, this clue may be a key factor for developing post-surgery individual immunotherapeutic therapy models in future.

Keywords: Kir gene, NK cells, Glioblastome multiforme, SSOP.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Beyin tümörleri, tüm hastalıklar içinde en dramatik prognozu olanlardan birini oluşturmaktadır. Sağlık Bakanlığı Kanseri Savaş Dairesi 2006-2008 verilerinde beyin tümörlerinin erkeklerde 8. , kadınlarda görülen kanserler arasında ise 9. sırada yer aldığı bildirilmektedir.⁽¹⁾

Glioblastoma multiforme (GBM) en sık görülen ve en malin primer beyin tümörüdür. Ortalama görülme yaşı 56 yaşıdır (50- 60). Erkeklerde görülme sıklığı kadınlara göre biraz daha fazladır (Kadın/ Erkek= 2/3). Gliomların yaklaşık % 45-50'sini oluşturan GBM'in semptom süresi ortalama 5,4 aydır. GBM serebral hemisferlerde en sık olarak frontal lobda (% 40), en az sıklıkla ise oksipital lobda görülür. Korpus kallosum aracılığıyla kısa sürede karşı hemisfere geçer. KİBAS semptomları olarak baş ağrısı, bulantı, kusma gözlenebilir. Mental durum değişiklikleri ve motor defisitler oldukça yaygın olarak izlenir. Hasta nöbetlerle de başvurabilir. Radyodiagnostik tetkiklerde; santral nekroz içeren ve çevresinde yoğun halka tarzında kontrastlanma ve belirgin vazojenik tipte tümöral ödem gösteren kitlesel lezyon şeklinde görülür. Korona radiata, komissürler, kortikospinal traktus ve özellikle korpus kallosum gibi beyaz cevher oluşumları ile invazyon gösterir. Subaraknoid, subpial ve subependimal yollarla yayılır. Histopatolojisinde endotel proliferasyonu ile birlikte yeni damar oluşumu, nekroz alanları ve bu nekroz alanlarından uzanan infiltrasyon odakları gözlenir.

GBM primer ve sekonder olarak sınıflandırılır. GBM'lerin %90'ı primer GBM, % 10'u ise sekonder GBM olarak tanımlanır. Primer GBM'ler glial öncü hücrelerden direkt gelişen ve ilk histopatolojik incelemede glioblastoma tanısı konulan tümörlerdir. Hızlı geliştikleri için ilk 3 ay içinde klinik belirti verirler. Sekonder GBM'ler ise düşük dereceli gliomlardan sekonder olarak nispete daha yavaş gelişen tümörlerdir. Primer GBM'ler (60 yaş) sekondere göre (30-40 yaş) yaşlı insanlarda daha fazla görülmektedir ⁽²⁾.

Doğal öldürücü hücreler (Natural Killer, NK) kemik iliğinden kaynaklanan büyük granüllü lenfositler olup doğal immünitenin en önemli hücreleridirler. Yabancı antijenlere karşı ilk basamak savunmada görev alırlar. NK hücreleri, viral enfekte olmuş ya da malign transformasyona uğramış hücreleri, hücre aracılı sitotoksiste ve antikor aracılı hücresel sitotoksiste ile lizise uğratabilirler. NK hücrelerinin verecekleri

sitotoksik yanıt, yüzeylerinde bulunan aktivatör veya inhibitör reseptörlerden kaynaklanan sinyaller arasındaki denge ile kontrol edilir. Bu reseptör gruplarından biri de doğal öldürücü hücre immünglobulin benzeri reseptörlerdir (killer cell immunoglobulin-like receptors, KIR). KIR reseptörleri bulunduğu organizmadaki hücreleri insan lökosit antijenleri (human leukocyte antigens, HLA) sınıf I molekülleri ile tanıırken yabancı hücreleri bu moleküllerin olmaması ile ayırt eder.

KIR molekülleri 19. kromozomda 19q13.4'de bulunan Lökosit reseptör kompleksi (LRC) bölgesinden kodlanan glikoproteinlerdir. KIR'lar yapılarına göre iki alt aile olarak sınıflanmaktadır. Sınıflama bu moleküllerin sahip olduğu immünoglobulin alt ünitelerinin sayısına göre yapılmaktadır. KIR2D iki, KIR3D ise üç adet immünoglobulin alt ünitesine sahiptir.⁽³⁾ Üç alt üniteli KIR'ların insan lökosit antijenlerinden spesifik olarak HLA A ve HLA B antijenlerini tanıdığı, iki alt üniteli KIR'ların ise HLA C antijenlerini tanıdığı gösterilmiştir.

KIR genlerinin karakterizasyonlarının ve haplotiplerinin tanımlanması çok yeni olduğu için bu genlerinin spesifik hastalıklarla ilişkisini gösteren kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. KIR reseptörlerinin hastalık bağlantısını gösteren genetik çalışmalarda, özellikle viral enfeksiyonlar (HIV, Hepatit C, CMV) başı çekmektedir. Bunların dışında otoimmün hastalıklar (romatoid artrit, Psöriasis, Diabet), hematolojik hastalıklar, solid tümörler gibi pek çok hastalıkla ilişkisi bildirilmiştir. Bu sonuçlar KIR'ların bu hastalıkların bireysel tedavilerinde potansiyel terapötik ajanlar olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

KIR genlerinin göstermiş olduğu yüksek polimorfizmden dolayı, rastgele seçilmiş iki kişide aynı KIR genotipine rastlama olasılığı çok düşüktür. Bu özelliklerinden dolayı hastalık çalışmalarının yanısıra KIR genleri populasyon genetiği belirteci olarak kullanılabilmektedir. Günümüzde KIR genlerinin özellikle transplantasyon reddi ve hastalıklarla ilişkisini gösteren çalışmaların sayısının artmasıyla birlikte tüm toplumlarda KIR genleri, genotipleri ve allellerinin belirlenmesine yönelik populasyon taramaları yapılmaya başlanmış ve bu çalışmalar, 2003 yılında HLA için hazırlanmış olan bilgi bankasına eklenilerek bir araya getirilmiştir. Bilgi bankasında 108 farklı populasyondan 12.741 bireyin KIR allel ve genotip sonuçları bulunmaktadır. Bilgi bankasında kayıtlı şu ana kadar 396 farklı KIR genotipi tanımlanmıştır. Genetik çalışmalardan alınan olumlu sonuçlar, yüksek

mortalite ve morbidite ile seyreden ve kesin tedavisi olmayan bu hastalık için olası gen tedavilerini gündeme getirmektedir.

Bugünkü bilgilerimize göre GBM’de KIR genleri polimorfizmi daha önce çalışılmamıştır. Biz de bu çalışma ile GBM’li olgularda KIR gen polimorfizminin sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmasını, bu şekilde hastalığın olası genetik yatkınlığının ortaya konulmasını ve klinik gidişinin öngörülebilmesini amaçladık. Elde edilen sonuçların ilerleyen aşamalarda bu hastalara yönelik bireysel gen tedavilerinde de kullanılabilmesi olasılık dahilindedir. Ek olarak, KIR genleri populasyon genetiği belirteci olduğu için sağlıklı kontrol grubunun verileri bilgi bankasına eklenerek bu bölgenin profilinin çıkarılmasına katkı sağlanmış olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beyin Tümörleri

Beyin tümörleri beynin herhangi bir yerinden kaynaklanan tümörlerdir. Nöroşirurjinin önemli bir hastalık grubunu oluşturur. Beyin tümörlerinin sınıflandırması ilk defa 19. Yüzyılın sonlarında Virchow tarafından gösterilmiş ve bugün de kullandığımız (glioma, nörinoma) gibi isimler türetilmiştir. Bu çalışmadan sonra başka araştırmacılar da kendi adlarıyla çeşitli sınıflandırmalar yapmış olup hala sınıflandırma tartışmaları devam etmektedir.⁽⁴⁾

Genel olarak beyin tümörleri malign(kötü huylu) ve benign(iyi huylu) olarak iki ana grupta incelenebilir.

2.1.1. Malign Beyin Tümörleri

Malign beyin tümörleri de glial ve metastatik beyin tümörleri olarak iki grupta incelenebilir.

2.1.1.1. Glial Tümörler

Beynin en sık görülen tümörleridir. Kontrolsüz çoğalma özelliği olan beyin hücreleri içerir. Hızla büyüüp çevredeki sağlıklı dokunun içine uzanarak klinik bulgulara neden olur. Çok nadir olarak omuriliğe ve hatta vücudun diğer organlarına yayılabilirler. Dört grupta evrelendirilir. Grade 1 ve Grade 2 tümörler düşük dereceli, Grade 3 (anaplastik astrositom) ve Grade 4 (glioblastoma multiforme) yüksek dereceli olarak kabul edilir. Bu gruptaki diğer bazı tümörler; ependimom, medulloblastom ve oligodendrogliomdur. Düşük dereceli tümörler da sonradan yüksek dereceli tümörlere dönüşebilirler.

2.1.1.2. Metastatik Beyin Tümörleri

Vücudun başka yerindeki bir tümörün beyne yayılması sonucunda ortaya çıkarlar. En fazla akciğer, meme, kalınbağırsak, mide, cilt ve prostattan kaynaklanmaktadır. Tüm beyin tümörlerinin % 10'unu oluşturur.

2.1.2. Benign Beyin Tümörleri

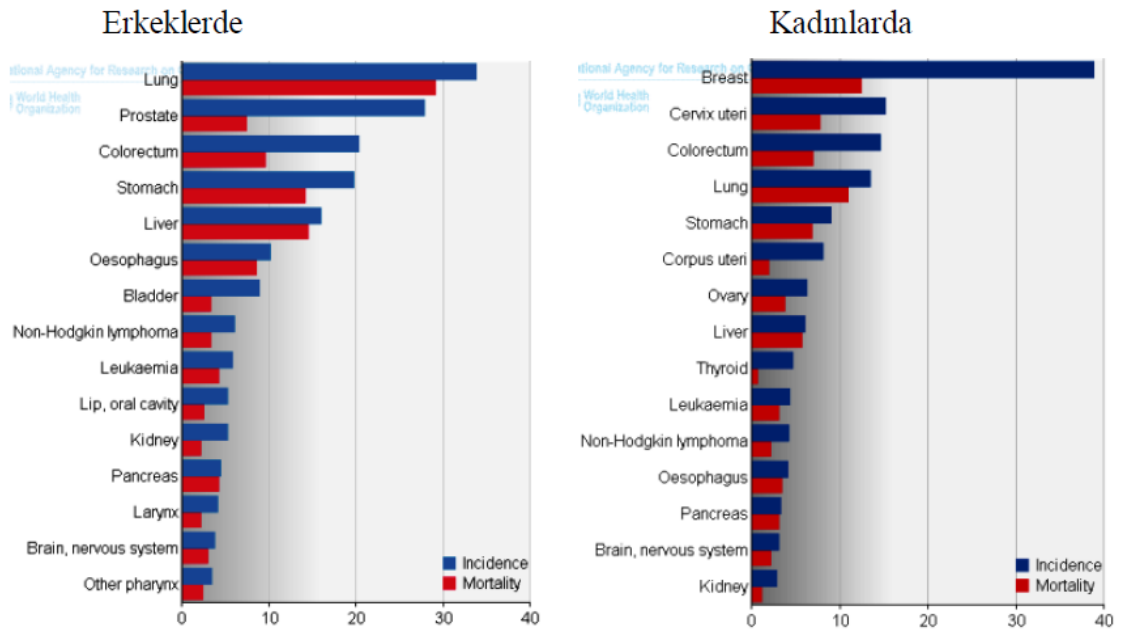
Kafatası içinde ancak beyin dokusu dışında gelişen tümörlerdir. Menengiomas, hipofiz adenomları, kraniofaringiomas, dermoid ve epidermoid tümörler, hemanjioblastom, kolloid kist, nörinomlar bu grubun en sık karşılaşılan lezyonlarıdır. Menengiomas iyi huylu beyin tümörlerinin önemli bir kısmını oluşturur. Diğer organlardaki iyi huylu tümörlerin aksine, iyi huylu beyin tümörleri sebep oldukları kitle etkisi nedeniyle hayatı tehdit edici durumlara neden olabilir.

2.1.3. Beyin Tümörleri Epidemiyoloji

Beyin tümörleri diğer kanserlerle karşılaştırıldığında nadir görülmesine rağmen en agresif hastalıklardan biridir.

Amerika’da kanser türleri içerisinde beyin tümörü insidansı % 1,4’tür.⁽⁵⁾ Amerika Beyin Tümörü Kayıt Merkezi (Central Brain Tumor Registry Of The United States, CBTRUS)’nin yayınladığı raporda ise primer beyin tümörü (benign ve malign olanlar) insidansı yüzbinde 11,4 ve 23,5 arasında değişir. GLOBOCAN 2008 verilerine göre Tablo 1’de kanser çeşitlerinin sıklık ve ölüm oranları verilmiştir.(Tablo 1)⁽⁵⁾

Tablo 1. GLOBOCAN 2008 Kayıtlarına Göre Dünya Çapında Görülen Kanser Çeşitlerinin Sıklık ve Ölüm Oranları (100.000 bireyde)⁽⁵⁾



Sağlık Bakanlığı kanser kayıt verilerine göre tüm çocukluk çağı kanserlerinin yaklaşık % 14'ü SSS tümörleridir. 0 – 14 yaş grubunda yer yıl yaklaşık 3000 yeni kanser vakası teşhis edildiğine göre yıllık yeni SSS tümörlü olgu sayısı yaklaşık 420 olacaktır. 2004 yılında 266 erkek ve 205 kadın olgu, 2005 yılında 323 erkek ve 242 kadın olgu, 2006 yılında ise 312 erkek ve 267 kadın olguda beyin ve sinir sistemi tümörü rapor edilmiştir. Türk Tabipler Birliği 2006 verilerine göre ise Türkiye’de beyin tümörleri tüm kanser olguları içerisinde kadınlarda % 3,99, erkeklerde ise % 3,77 oranında görülmektedir⁽⁶⁾.1993’te WHO (World Health Organization) tümörleri benignden maligne doğru evre I’den IV’e doğru sınıflandırmıştır. Bu sınıflama hem histopatolojik özellikler hem de yaşam süresi verilerine de dayanmaktadır. Günümüzde en çok kullanılan sistem ise 1979, 1993, 2000 ve son olarak 2007 yılında yeniden gözden geçirilerek düzenlemeler yapılan güncel WHO sınıflandırmasıdır. (Tablo 2) (7,8,9)

Tablo 2. WHO Merkezi Sinir Sistemi Tümörlerinin Sınıflandırması, 2007⁽⁷⁾

1. Nöroepitelial doku tümörleri	Ganglioglioma
Astrositik Tümörler	Anaplastik gangliogliom
Pilositik astrositom	Santral nörositom
Pilomiksoid astrositom	Ekstraventrüküler nörositom
Subependimal dev hücreli astrosito	Serebellar liponörositom
Pleomorfik ksantoastrositom	Papiller glionöronal tümör
Diffüz astrositom	Paragangliom
Fibriler astrositom	4. ventrikülün glionöral tümörü
Gemistositik astrositom	Pineal bölge tümörleri
Protoplasmik astrositom	Pineositoma
Anaplastik astrositom	Pineoblastoma
Glioblastoma	İntermediyer farklılık gösteren pineal tm
Dev hücreli glioblastom	Pineal bölge papiller tümörü
Gliosarkom	Embriyonal tümörler
Gliomatosis serebri	Medulloblastom
Oligodendrogliyal tümörler	Primitif nöroektodermal tümör
Oligodendroglioma	Atipik teratoid/rabdoid tümör
Anaplastik oligodendrogliom	2.Kranial ve paraspinal sinir tümörleri
Oligoastrositik tümörler	Scwannom
Oligoastrositom	Nörofibrom
Anaplastik oligoastrositom	Perinörom
Ependimal tümörler	Malign periferik sinir kılıfı tümörleri
Subependimoma	3.Meninkslerin tümörleri
Miksoapiller ependimom	Meningoepitelial hücre tümörleri
Ependimoma	Mezenkimal tümörler
Sellüler	Primer melanositik lezyonlar
Papiller	Histogenezi bilinmeyen tümörler
Clear cell	4.Lenfoma ve hematopoetik tümörler
Tanositik	5.Germ hücreli tümörler
Anaplastik ependimom	Germinom
Koroid pleksus tümörleri	Embriyonal karsinom
Koroid pleksus papillomu	Yolk sak tümörü
Atipik koroid pleksus papillomu	Koryokarsinom
Koroid pleksus karsinomu	Teratom
Diğer nöroepitelial tümörler	Mikst germ hücre tümörleri
Astroblastom	6.Sellar bölge tümörleri
3.ventrikülün kordoid glioması	Kraniofarengiom
Angiosentrik glioma	Granüler hücreli tümör
Nörönal ve miks nörönal-gliyal tümörler	Pituisitoma
Serebellum displastik gangliositoması	Adenohipofiz onkositoması
Desmoplastik infantil astrositom	7.Metastatik tümörler
Gangliositom	

2.1.4. Beyin Tümörü Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Beyin tümürlü olguların sadece az bir kısmında immün baskılayıcılar, radyasyon ve bazı kalıtsal sendromlar rol oynamaktadır.⁽¹⁰⁾ Bu tümörlerle ilişkili kalıtsal hastalıklar tüm beyin tümörlerinin % 1-2'sini oluşturmaktadır. Terapotik dozda verilen iyonize

radasyon ve organ transplantasyonu sonrası immün baskılayıcı ajanların kullanımı beyinde tümör oluşma riskini artırır.⁽¹¹⁾ Beyin tümörü gelişiminde rolü tam olarak belli olmayan ancak bu konuda bilimsel çalışmaların devam etmekte olduğu olası nedenler Tablo 3’te sunulmuştur.⁽¹⁰⁾

Tablo 3. Beyin Tümörü Gelişiminde Rol Oynadığı Düşünülen Olası Faktörler⁽¹⁰⁾

Faktör	Etkinlik ve Örnekler
Mobil telefonlar	Radyofrekans dalgalarına maruz kalma
Düşük frekanslı elektromanyetik alan	Evde ve işyerinde maruz kalma
Spesifik enfeksiyonlar	Virüsler, toxoplazma gondii, intrauterin influenza, varicella
Alerji	Atopi
Diyet	Nitrosamine / nitrosamide / nitrit / nitrat /Aspartat
Sigara, pipo kullanımı, alkol kullanımı	Günlük / aylık kullanım miktarları
Kimyasal ajanlar	Saç boyaları, solventler, pestisit, hava kirliliği
Meslekler	Yapıştırıcı fabrikalarında ve petrol rafinelerinde çalışanlar

2.1.5. Olguların Yaş ve Cinsiyeti

Beyin tümörlerin görülme yaşı ve sıklığı birbirlerinden farklıdır. Son 15-20 yılda primer beyin tümörlerinin görülme oranının arttığı belirtilmiştir⁽¹²⁾. Yetişkinlerde saptanan en yaygın beyin tümörü Glioblastoma Multiforme (GBM) olup tüm beyin tümörlerinin % 20-25’ini oluşturur.

Cinsiyet durumuna bakıldığında primer beyin tümörleri erkeklerde bayanlara göre daha yüksek oranda gözlenir. Ancak meningiomlar bayanları % 80 oranında fazla etkilerken, gliomlar ise erkekleri bayanlara göre % 40 oranında fazla etkilemektedir. Beyin tümörlerinin tümü için ortalama olgu yaşı 54 iken histolojik gruplara göre bu yaş aralıkları değişmektedir. Glioblastom ve meningiomda bu yaş ortalaması 62’dir. Astrositom ve glioblastomalarda insidans 65-74 yaşlar arasında, oligodendrogliomlarda ise insidans 35-44 yaşlar arasında sıkça görülmektedir^(13,14).

2.1.6. Beyin Tümörlerinin Evrelendirilmesi

Tümörler tıp bilim insanlarının kolay iletişimi ve tedavinin doğru planlanabilmesi için evrelendirilir. Tümör evresini mikroskopik olarak belirleyen kriterler:

- Normal hücreler ile benzerlik (atipi)
- Büyüme hızı (mitotik indeks)
- Kontrolsüz büyümeyi gösteren bulgular
- Tümörün santral kesimindeki ölü tümör hücreleri (nekroz)
- İnvazyon ve/veya yayılım potansiyeli
- Vaskülarite⁽¹⁵⁾

2.1.7. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Derecelendirmesi

Histolojik derecelendirme tümörün biyolojik davranışının önceden anlaşılabilmesini sağlar. Tümör derecesi klinik uygulamalarda özellikle adjuvan radyoterapi, özel kemoterapotiklerin seçilmesinde ve tedavi modelinin belirlenmesinde önemlidir.

WHO'nun sınıflandırmasında ise derecelendirme, çeşitli histolojik özelliği olan tümörlerin malignitelerinin ölçütüdür.

Grade 1

- ✓ Yavaş büyüyen hücreler
- ✓ Normale yakın mikroskopik görünüm
- ✓ Düşük malignite
- ✓ Survey genellikle uzun
- ✓ Yavaş çoğalma
- ✓ Cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra kür şansı bulunan tümörler

Grade 2

- ✓ Görece yavaş büyüyen hücreler
- ✓ Anormal mikroskopik bulgular
- ✓ Komşu normal dokuyu invaze edebilir
- ✓ Daha yüksek evreli olarak nüks edebilir

✓ Düşük çoğalma potansiyeline rağmen sıklıkla tekrarlayan tümörler
Örneğin düşük dereceli astrositom, anaplastik astrositoma ve glioblastoma dönüşebilmektedir.

Grade 3

✓ Genellikle histolojik olarak malignansi bulgusu gösterme
✓ Aktif anormal hücre yapımı
✓ Belirgin anormal mikroskopik bulgular
✓ Komşu normal dokuya sızma
✓ Genellikle daha yüksek evreli olarak nüks etme eğilimi
Üçüncü derece tümörlü hastalar çoğunlukla adjuvan radyoterapi veya kemoterapi görmektedir.

Grade 4

✓ Sitolojik olarak malign, nekroz eğilimli neoplaziler
✓ Hızlı anormal hücre yapımı
✓ İleri derecede anormal mikroskopik bulgular
✓ Hızlı büyümeyi sürdürebilmek için neovaskülarizasyon
✓ Santral kesimde nekroz
Ölümcul bir seyir gösterirler.^(9,15)

2.1.8. Glioblastoma Multiforme

Yetişkinlerde saptanan en yaygın beyin tümörü Glioblastoma Multiforme (GBM)'dir. GBM, tüm beyin tümörlerinin % 20-25'ini oluşturur. WHO, GBM'i nekroz ve vasküler proliferasyon özelliklerine göre grade IV olarak sınıflandırmaktadır. GBM, kendi kendine çoğalma, kontrolsüz gelişme, dokuya invazyon yapabilme, apoptotik uyarıya direnç gösterme ve yeni kan damarı oluşturabilme gibi malign fenotipik özelliklere sahiptir⁽¹⁶⁾. Glioblastomlar moleküler temelde sekonder ve primer olarak iki alt gruba ayrılmaktadır. GBM'lerin % 90'ı primer GBM, % 10'u ise sekonder GBM olarak tanımlanır. Primer GBM'ler glial öncü hücrelerden direkt gelişen ve ilk histopatolojik incelemede glioblastoma tanısı konulan tümörlerdir. Hızlı geliştikleri için ilk 3 ay içinde klinik belirti verirler. Sekonder GBM'ler ise düşük dereceli gliomlardan

sekonder olarak gelişir. Düşük dereceli astrositomların glioblastoma dönüşmesi için geçmesi gereken süre ortalama 4-5 yıldır ⁽¹⁷⁾. Primer ve sekonder GBM, morfolojik olarak ayırt edilemez, her ikisi de hasta yaşından bağımsız olarak kötü prognoza sahiptir ⁽¹⁸⁾. GBM, başlıca serebral hemisferde yerleşim gösteren infiltran tümörlerdir ^(19, 20). En sık frontal, en az oksipital lobu tutar. Glioblastomalar makroskopik incelemede çevre normal dokudan iyi sınırlarla ayrılmasına rağmen mikroskopik olarak incelendiğinde kitleden uzakta normal doku içine infiltrasyon göstermektedir ⁽²¹⁾. Yüksek derecede inzaziv tümör olduklarından tümörün çevresindeki normal beyin dokusunda ödeme ve ekspansiyona neden olurlar ⁽²²⁾.

Glioblastoma multiforme'nin neden olduğu semptom ve belirtilerin çoğu hızlı büyümekte olan tümöre, çevresinde yaptığı ödeme, obstrüksiyona ve artmış kafa içi basınca bağlıdır. En yaygın belirtileri baş ağrısı, bulantı, kusma, epileptik nöbetler, nöromotor fonksiyon kaybı ve mental değişikliklerdir. Tutulan tümör lokalizasyonuna bağlı olarak fokal bulgular da oluşabilir ⁽¹⁷⁾. GBM, tedavisi güç kanserlerden biridir, yüksek morbidite ve mortalite özelliklerine sahiptir.

GBM'in küratif tedavisi yoktur ⁽²²⁾. Hastaların yaşam süresi, en gelişmiş tedavi uygulamalarına rağmen ortalama 14.6 aydır ⁽¹⁷⁾. Hastaların % 10'luk bir kısmının 2 yıllık yaşam süresine ulaşabildiği bilinmektedir. Bugün uygulanan standart tedavi biçimleri cerrahi, radyoterapi ve kemoterapidir. Bu tedavi biçimleri tek başına yeterli değildir. Bu nedenle üç tedavi yaklaşımının da uygulanması tercih edilmektedir. GBM güncel tedavi modeli, mümkün olan en geniş cerrahi rezeksiyon sonrasında adjuvant radyoterapi ve uygun olan hastalarda kemoterapi uygulamasıdır ⁽²²⁾.

2.1.8.1. Glioblastoma Multiformenin Genetik Özellikleri

Canlının gelişimi, doku rejenerasyonu ve tamiri sırasında fizyolojik proliferasyondan sorumlu büyüme faktörlerini kodlayan genlere protoonkogen denir. Fizyolojik koşullarda doku büyümesi protoonkogen ve tümör baskılayıcı genlerin kontrolü altında gerçekleşir. Onkogenler; protoonkogenlerin delesyonu, amplifikasyonu, mutasyonu ve yeniden düzenlenmesi (rearrangement) sonucu oluşur. Şimdiye kadar 100'ün üzerinde onkogen saptanmıştır. Belli başlı onkogenler; büyüme faktörleri, hücre zarı reseptörleri, sinyal molekülleri, transkripsiyonel faktörler ve hücre içi iletim yolunda yer alan molekülleri kodlayan onkogenlerdir. Onkogenlerin kodladığı

proteinler ise hücreye yeni fonksiyonlar kazandırır. Tümör baskılayıcı genler fizyolojik şartlarda proliferasyonu frenleyen veya durduran proteinlerin transkripsiyonundan sorumludurlar. Ancak tümör baskılayıcı genlerin delesyonu, amplifikasyonu, mutasyonu ve yeniden düzenlenmesi sonucunda fonksiyonlarını kaybetmesi büyümeyi baskılayıcı etkilerinin ortadan kalkması ile sonuçlanır.

Bütün kanser türlerinde olduğu gibi GBM dokusuna ait tümör hücrelerinde de yaşam sinyallerinin aktivasyonunda artış, anjiyogenez, kontrolsüz çoğalma, doku invazyonu yapabilme ve apoptoza direnç gelişimi görülmektedir. GBM'in genetik yapısı heterojendir. Aynı tümör dokusunda ve farklı hastalara ait tümör örneklerinde genetik yapının değiştiği ve bu yüzden hastalığın 'multiform' olarak isimlendirildiği bilinmektedir ^(17,23).

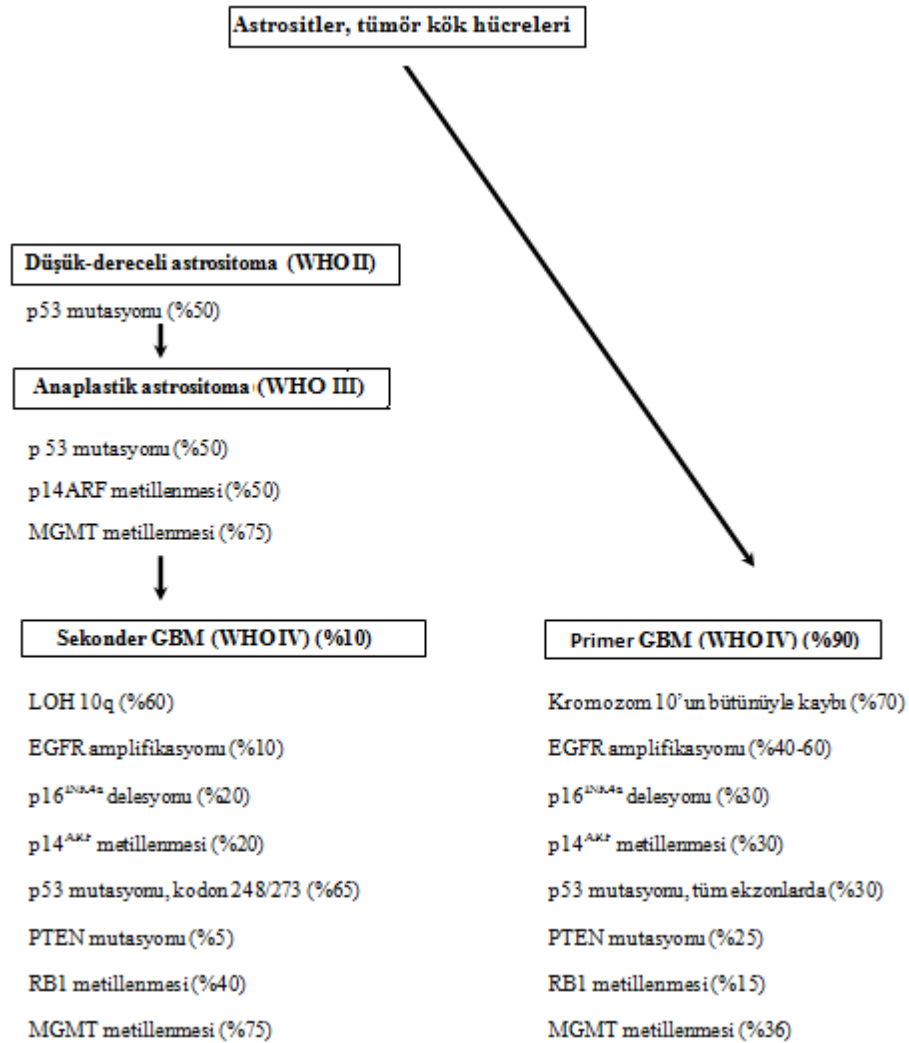
Primer ve sekonder GBM dokuları arasında klinik ve sitogenetik farklılıklar vardır ⁽²⁴⁾. Sekonder GBM'de Platelet Kökenli Büyüme Faktörü Reseptörü A (PDGFRA), PDGFRA ligandı ve tümör baskılayıcı protein 53 (p53) genlerinde çeşitli genetik değişiklikler saptanmıştır. Ayrıca, p16INK4A, retinoblastom yatkınlık lokusu protein 1 (pRB1) genlerinde mutasyonlar, siklin bağımlı kinaz 4/6 (CDK) ve insan double minute 2 (HDM2) genlerinin amplifikasyonu ve kromozom 10 delesyonları sekonder GBM'de saptanmış genetik değişikliklerdir ^(18,24). Primer GBM'de ise epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), siklin bağımlı kinaz inhibitörü2 (CDKN2A) genlerindeki mutasyonlar ve kromozom 10q23'te heterozigosite kaybı en çok görülen genetik değişikliklerdir. Kromozom 10q23'te meydana gelen heterozigosite kaybı (LOH) olguların % 60-80'inde meydana gelmektedir ve bu bölgede bir tümör baskılayıcı gen olan fosfat ve tensin homolog (PTEN) geni bulunmaktadır ⁽¹⁷⁾.

Primer GBM için EGFR amplifikasyonu, sekonder GBM için ise p53 mutasyonu karakteristik genetik değişikliklerdir ⁽²⁴⁾. Parsons ve arkadaşları (2008), GBM olgularında yaptıkları genom analizinde en sık değişen genlerin p53 (% 40),EGFR (% 37) ve PTEN (% 30) olduğunu bildirmiştir (Şekil 1). Ancak bu genetik değişikliklerin GBM tedavisinde prognostik değerinin olmadığı bilinmektedir.

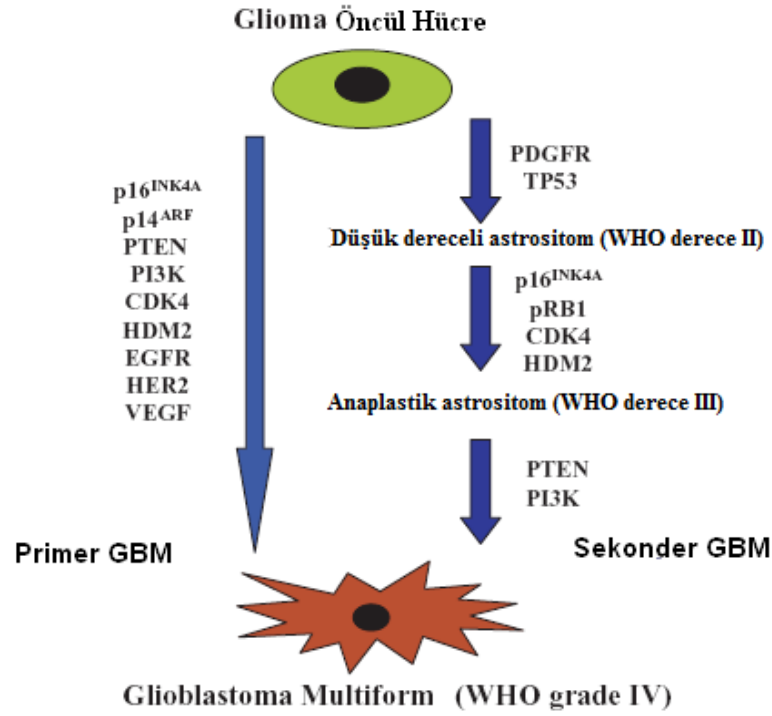
Primer ve sekonder GBM'lerde ortak genetik değişiklikler de vardır. Kromozom 10 kaybı, tümör baskılayıcı PTEN (Fosfat ve Tensin homologu) gen delesyonu, p16INK4A gen mutasyonu veya delesyonu, HDM2 (human double minute 2), INK4 ve EGFR (Epidermal Growth Faktör Reseptörü) amplifikasyonu ortak genetik

değişikliklerdir. Düşük gradeli beyin tümörlerinden GBM'e kadar olan genetik değişiklikler Şekil 2'de özetlenmiştir (Şekil 2) ⁽¹⁶⁾.

GBM'de morbidite ve mortalite oranı yüksektir. Tedavisinde cerrahi işlemi takiben radyoterapi (RT) ve kemoterapi uygulanmaktadır. Ortalama yaşam süresi, tedavi biçimine ve yaşa bağlı olarak 4 ay ile 18 ay arasında değişkenlik gösterir ⁽²⁵⁾. Populasyon çalışmalarında GBM hastalarının çok az bir kısmının 36 ay yaşadığı bildirilmiştir ⁽²⁶⁾.



Şekil 1. Primer ve Sekonder GBM'deki önde gelen genetik değişimler ⁽²⁷⁾



Şekil 2. Glioblastoma Multiforme, düşük grade astrositom ve anaplastik astrositomda saptanan majör genetik değişiklikler ⁽¹⁶⁾

P53 mutasyonu ve Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü Reseptörleri (PDGFR)'nin aşırı ekspresyonunun astrositom gelişiminde ilk genetik değişiklikler olduğu bilinmektedir. Bu değişikliklere retinoblastom geninde mutasyonun veya delesyonun, bax genini içeren 19q'da olan kayıpların ve özellikle 10. kromozomun q kolunda olan delesyonların eklenmesi ile anaplastik astrositom ve sekonder glioblastom gelişmektedir. Yedinci kromozomda yerleşmiş Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörleri (EGFR)'nin aktivasyonu, 9. kromozomun kısa kolunda yerleşmiş olan p16'nın homozigot delesyonları, hücre döngüsünde mouse double minute (MDM2) proteinlerinin p53 bağımlı frenleyici etkiyi azaltması, kromozom 10'un hem p hem de q kolunda olan kayıpları yanında PTEN mutasyonu gibi genetik değişiklikler astrositik öncü hücrelerden de novo olarak direkt primer glioblastom gelişmesine neden olmaktadır.

GBM hücrelerinde saptanan ve canlılığı tetikleyen en önemli yolak fosfatidilinositol 3 kinaz (PI3K) yolağıdır. Çeşitli tirozin kinaz reseptörlerinin (EGFR, PDGFR vb.) büyüme faktörleri ile aktive edilmesi sonucu PI3K/Protein Kinaz B (PKB, AKT) yolağı aktifleşir ve nükleer faktör κ B (NF κ B) aracılığı ile yaşamı ve

prolifersayonu düzenleyen genlerin aktive edilmesi sağlanır. PTEN mutasyonunun bu yolağı inaktive etmediğı belirtilmektedir.

Tirozin kinazların aktivasyonu sonucu tetiklenen diğeri bir yol ise Ras onkogeni aracılığı ile mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) yolağıdır. Bu yolağın aktivasyonu da, glia hücresinde yaşam ve büyümeyi kontrol eden genlerin ekspresyonunu sağlayan transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu tetikler. GBM’de bu sinyallerin aktivasyonuna neden olan tirozin kinaz reseptörlerinde mutasyon meydana gelmesi sinyal yolaklarının kontrolsüz aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu yolağın başında yer alan kinazları inhibe etmek için inhibitörlerin ve monoklonal antikorların kullanılması GBM’de alternatif bir tedavi yöntemi olmuştur. Bu yüzden, EGFR inhibitörleri (erlotinib, gefitinib) ve Akt inhibitörleri (perifosine) ile ilgili çalışmalar ile yaşam sinyallerinin diğeri üyeleri için inhibitör kullanımını geliştirme çalışmaları devam etmektedir ⁽¹⁷⁾.

2.1.8.2. Glioblastoma Multiforme Epidemiyoloji

Glioblastoma multiforme (GBM) erişkin yaş grubundaki en sık primer beyin tümörüdür. Primer beyin tümörlerinin dağılımı büyük oranda yaşla ilintilidir. Glioblastomanın insidansı 14 yaş altında 100.000’de 0,2 - 0,5 iken, 45 yaş üzerinde ise 100.000’de 4 – 5’e çıkmaktadır. GBM’in tüm primer beyin tümörleri içindeki oranı değişik yayınlarda % 20’den % 50’e kadar değişmektedir. Erişkin yaş grubu ele alındığında primer beyin tümörlerinin yarısından fazlasını GBM oluşturur. ABD’de GBM için ortalama yaş 60 dolayındadır.

GBM primer olarak gelişebilmekle birlikte daha düşük grade glial tümörlerden de progresyon ile gelişebilmektedir. Bu iki tip GBM, primer ve sekonder GBM olarak anılmaktadır. Primer GBM daha yaşlılarda ve daha kısa klinik tablo şikayetlerle karşımıza çıkarken, sekonder GBM, daha gençlerde ve genellikle aylar veya yıllar süren klinik şikayetler ile ortaya çıkmaktadır.

Yıllar içinde de GBM sıklığı artmıştır. Özellikle gelişmiş ülkelerde yapılan çalışmalarda ABD ve Kanada’da yetmişli yıllardan seksenli yılları ortalarına kadar tespit edilen glioblastom olguları yaklaşık 2 kat kadar artış göstermiştir. Bunun nedeninin ise teknolojik gelişmeler ile tespit edilme oranının artması olarak ortaya konmuştur. Yüksek evre glial tümörlerde buna benzer bir artış, son 7 yıl içinde % 5’lik

bir artış ile Fransa'da tespit edilmiştir. GBM erkeklerde kadınlara göre, beyaz ırkda da siyah ırka göre bir miktar daha sıktır.

GBM genellikle herhangi bir ailevi yatkınlık ya da tanımlanabilir bir çevresel etken olmaksızın sporadik olarak ortaya çıkar. Son zamanda yapılan çalışmalarda ortaya atılan hipotezlere göre düşük derece astrositomlardan basamak basamak GBM'e ilerleyiş kromozom 10 ve 17'de yerleşim gösteren supresör genlerin kademeli kayıplarından ileri gelmektedir. Bu kayıplar tümör büyümesini ve heterojenitesini artıran dominant onkojenlerin aktivasyonuna yol açmaktadır. Gliomalı hastalarda kromozom 10 ve 17'de kayıplar sıklıkla saptanmaktadır. Yine son zamanlarda primer ve sekonder GBM'lerde genetik profiller de farklılık göstermektedir. Primer GBM'lerde PTEN mutasyon veya delesyonları saptanırken sekonder GBM'lerde ise sıklıkla p53 mutasyonları gözlenmektedir. Tüm bu bulgular glial tümörlerde bir genetik köken olduğunu göstermektedir ⁽²⁸⁾.

2.1.8.3. Glioblastoma Multiforme Yerleşim Bölgeleri

GBM'ler genellikle serebral hemisferlerin derin beyaz maddesinde yerleşir. Bu tümörlerin büyük çoğunluğu hemisferlerde geniş dağılım göstermekle birlikte en sık olarak frontal lob ve oksipital lob parietal lob sınırlarında gözlenirler. Genellikle dağınık yerleşim gösterme özellikleri ve derin yerleşimleri nedenleri ile birden fazla fonksiyonel beyin bölgesini işgal ederler ki bu da cerrahi eksizyonlarını zorlaştıran ana etkenlerdendir. Serebral hemisferler dışında da yerleşim gösterebilirler. Ayrıca GBM'lerin yaklaşık % 10'u derin yerleşimli olmayıp, beyaz-gri cevher sınırında yerleşerek serebral metastazları taklit edebilirler ^(29,30).

2.1.8.4. Glioblastoma Multiforme Tedavisi

GBM güncel tedavi modeli, mümkün olan en geniş cerrahi rezeksiyon sonrasında adjuvant radyoterapi ve uygun olan hastalarda kemoterapi uygulamasıdır ⁽²²⁾. Son yıllarda gen tedavisi, antiangiogenetik tedavi, lokal polimer ilaç uygulaması gibi başka bazı deneysel ve klinik çalışmalar yürütülmüş, çok ümit verici olmasa da az sayıdaki bazı serilerde tüm hastaların bir yıllık, % 30 kadarının da 2 yıllık yaşam süresine ulaşabildiği bildirilmiştir ⁽²⁸⁾.

2.2. Bağışıklık Sistemi

2.2.1. Bağışıklık Sisteminin Genel Özellikleri

İmmün sistem, vücutta savunma, hemostaz ve canlılığın devamını sağlayan milyonlarca hücre ve sinyal moleküllerinden oluşan bir sistemdir. Zararlı bir etkenin saldırısına karşı organizmada oluşan direnç ve bağışıklık immün sistem tarafından sağlanmaktadır. Bu sistem fiziksel bariyerler, doğal immünite ve kazanılmış immünite tarafından oluşturulan savunma mekanizmalarını içermektedir. Vücutta, immün sistemin ana fizyolojik işlevi yabancı patojenler ile karşılaşıldığında karşılıklı ve düzenli etkileşimler ile bir yanıt ortaya çıkarmaktır. Ortaya çıkan bu yanıtı “immün yanıt” adı verilir. İmmün sistem, farklı işlevlere sahip iki ayrı kısımda incelenir.^(31,32,33)

1. Doğal Bağışıklık (Doğal İmmünite),
2. Kazanılmış Bağışıklık (Kazanılmış İmmünite).

2.2.1.1. Doğal İmmünite

Yabancı etmenlerle karşılaşmadan önce organizmada bulunan koruyucu mekanizmalar doğal bağışıklığı oluşturmaktadır. Mikroorganizmalara karşı ilk basamak savunma, doğal bağışıklık aracılığıyla gerçekleştirilirken, bazı durumlarda mikroorganizmanın ortadan kaldırılmasında tek başlarına yeterli olabilmektedir.

Doğal immün sistemin hücresel bileşenleri, dendritik hücreler, monositler, makrofajlar, granülositler ve doğal öldürücü hücreler ile deri, akciğer ve bağırsak epitel hücreleri gibi mikroorganizmalara karşı yüzey alanı oluşturan hücreleri içerir. Doğal bağışıklığın hücre-dışı bileşenleri ise basit bariyer işlevleri, kompleman şalesi (kaskadı) gibi karmaşık yollar, epitelyum yüzeylerdeki antimikrobiyal maddeler (ör, defensinler, kriptosidinler) gibi yapıları içerir.^(33,34)

2.2.1.1.1. Doğal İmmün Sistem Elemanlarının Aktivasyonu

Doğal immün sistem elemanları benzer mikroorganizmaların iyi korunmuş ortak bazı yapıları ile aktifleşirler. Bu yapılar “patojen ile ilişkili moleküler yapılar” (pathogen associated molecular patterns, PAMP) olarak adlandırılmaktadır. PAMP’lar birbirinden çok farklı olmakla birlikte lipopolisakkaritleri, aldehid-kaynaklı proteinleri, mannanları, teikoik asitleri, denatüre DNA’yı ve bakteriyel DNA’yı içerir.^(31,33,34) Bu moleküler biçimleri tanıyan doğal bağışıklık elemanlarına da "yapıları tanıyan

reseptörler” (pattern recognition receptors) denir. Bu reseptörlerin hangi yapıları tanıyabileceği genetik olarak önceden belirlenmiştir. Bu reseptörler salgılananlar, endositik olanlar ve sinyal verenler olmak üzere üç grupta incelenirler. Bunların çoğu makrofajlar, dendritik hücreler ve B lenfositler gibi antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunurlar⁽³³⁾. Yapıları tanıyan reseptörlerden bir tanesi Toll-like reseptörlerdir (TLR).

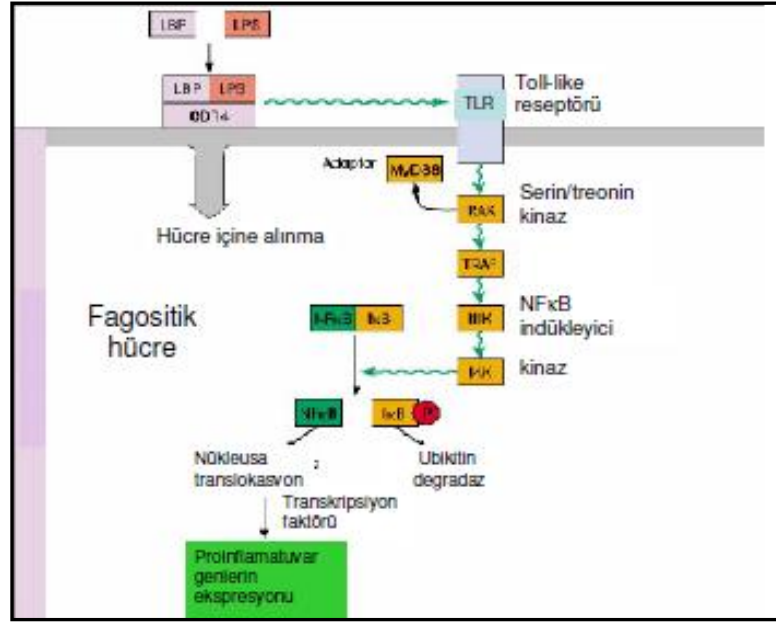
Bu reseptörler, hem doğal bağışıklık hücrelerinde, hem de endotel, epitel hücrelerinde ve fibroblastlarda eksprese olmaktadır. Patojen reseptörlerin önemli bir grubunu oluştururlar. İnsanlarda 10 farklı TLR ailesi tanımlanmıştır. TLR’nin mikrobial kaynaklı ligandlarına bağlanması ile birlikte, fagositler aktifleşmekte ve patojenlerin direk olarak öldürülmesi sağlanmaktadır (Tablo 4, Şekil 3). Bunlara ek olarak, bu reseptörler tanıdıkları yapılarla karşılaştıklarında antijen sunucu hücrelerin yüzeyinde CD80 ve CD86 gibi kostimülatör molekül ekspresyonunu ve başlıca interlökin (IL-1, IL-6 ve IL-12) ve bazı inflamatuvar sitokinleri kodlayan genler olmak üzere bir takım immün yanıt genlerinin ekspresyonunu uyarırlar (Tablo 4). Bu inflamatuvar moleküller, dendritik hücreleri aktiveştirerek, kazanılmış immün yanıtın başlamasına yol açar. Ligandların TLR ye bağlanması ile birlikte nükleer faktör-kB (NF-kB) sinyal yolağı aktifleşir. Bu sinyal yolağı inflamasyonu tetikler^(33,34,35).

Tablo 4. Patojen ile İlişkili Moleküler Yapıların Toll-Like Reseptörler ile Tanınması ve Transkripsiyon Faktörlerinin İndüklenmesiyle Fagositozun Başlatılması.⁽³³⁾

TLR → Tanır → PAMP → Ortak → Transkripsiyon → İndükler → Etkiör Faktörleri Moleküller			
Hücre Yüzeyi			
TLR1	Gram + peptidoglikan		
TLR1/TLR2	Lipoproteinler	IRF5	İnflamatuvar sitokinler
TLR2/TLR6	Mycobakterial lipoarabinomannan Maya zimosan	NFκB	
TLR4	Gram (-) LPS	IRF3 NFκB	IFN β İnflamatuvar sitokinler
TLR5	Flajellin	IRF5 NFκB	İnflamatuvar sitokinler
TLR10	Bilinmeyen	IRF5 NFκB	İnflamatuvar sitokinler
endozomal			
TLR3	Viral RNA	IRF3 NFκB	IFN β
TLR7/TLR8	Viral RNA Antiviral ilaçlar	IRF7	IFN α
TLR9	Bakteriyel ve viral CpG DNA Malarial hemozin	NFκB IRF5	İnflamatuvar sitokinler

TLR'ye ek olarak diğer bazı inflamasyonla ilişkili doku faktörleri de fagosit ve dendritik hücre aktivasyonunu sağlayan sinyallere yol açabilirler.⁽³⁴⁾ Bu faktörler ısı şok proteinleri, lektinler, sitokinler, kemokinler, ekstrasellüler matriks komponentleri ve diğer bazı hücre yüzey molekülleridir. Bu sinyaller fagosit aktivasyonuna yol açarak endositoza uğramış patojenlerin yıkımını sağlar.

Dendritik hücrelerin aktivasyonu kazanılmış immün yanıtın başlamasını sağlar. Anti-mikrobiyal proteinler ve peptidler de doğal immün sistemin bir bileşenidir. Bu moleküller lizozim ve katepsin G gibi büyük proteinler, defensin ve katelisin gibi daha küçük anti-mikrobiyal peptidlerle dermisidin ve psoriasin gibi cilt anti-mikrobiyallerini içerir^(31,33,34).



Şekil 3. Fagositik hücrelerin Toll-like reseptörler aracılığı ile aktivasyonu.⁽³¹⁾

Farklı mikroorganizmalarda hedef moleküller farklı yapılar taşımakta ve doğal bağışıklık sadece farklı sınıf mikroorganizmaları ayırabilmektedir. Bunun sonucu olarak doğal bağışıklığın çeşitliliği sınırlıdır, hafızası yoktur. Buna karşılık “yapıları tanıyan reseptörleri” taşıyan hücrelerin efektör işlevlerini göstermek için çoğalmaları gerekmediğinden etkinliklerini çok çabuk gösterirler. Doğal immün sistemin, kazanılmış immün sistem ile reseptör sayı ve çeşitliliği açısından karşılaştırıldığında çok daha sınırlı olduğu görülmektedir. Doğal immün sistem sınırlı sayıdaki reseptörleriyle mikroorganizmalara ait belirli yapıları tanıyıp kostimulatörler, sitokinler ve kemokinlerin yapımını indüklerler.

Bu şekilde antijene özgül lenfositlerin uyarılmasını ve özgün immün yanıtın başlamasını sağlarlar. Böylece doğal immün sistem, bir şekilde kendinden olan ile olmayanı tanıyarak kendi organizmasına zarar vermediği gibi daha sonra gelişecek özgül immün yanıt tipinde de belirleyici olabilir^(31,32,36).

Doğal bağışıklığın reseptör veya moleküllerinde inaktivasyona yol açan mutasyonlar organizmayı immün yetmezliklere götürürler. Bu yapıların sürekli aktif olmasını sağlayan mutasyonlar ise inflamatuvar reaksiyonları tetikleyerek allerjik ve otoimmün hastalıklara eğilim yaratabilir⁽³⁵⁾.

Doğal bağışıklığın bir diğer elemanı ise NK hücreleridir. Bu hücreler öldürücü işlevlerini göstermek için uyarılıp farklılaşma gerektirmediklerinden bu şekilde

adlandırılmaktadır. Bu hücrelerin başlıca hedefleri kendi sınıf I Büyük doku uyum kompleksi (Majör Histokompatibilite Kompleks, MHC) moleküllerini taşımayan antikorla kaplı hücreler, virüslerle ya da bazı hücreiçi bakterilerle infekte hücreler, bazı malign hücreler ve transplant hücreleridir.⁽³¹⁾ NK hücrelerin hedef hücreyi öldürme kapasitesi hedef hücrenin taşıdığı kendine ait MHC sınıf I molekül miktarı ile ters orantılıdır. NK hücreleri, sınıf I MHC moleküllerini tanıyan inhibitör reseptörler taşıdıklarından sınıf I MHC molekülleri bulunan hücreler tarafından inhibe edilirler. NK hücrelerin işlevlerinden biri de virusla infekte hücreleri ve bazı tümör hücrelerini yok etmek ve IFN salgılamaktır. Salgılanan IFN, makrofajların fagosite ettikleri mikroorganizmaları yok etmelerine yardımcı olur.⁽³³⁾

Aktif makrofajlardan salgılanan alfa ve beta interferon, tümör nekrozis faktör alfa (TNF α), IL-12 ve IL-15 gibi sitokinler de doğal bağışıklığın birer elemanı olarak işlev görürler. Doğal bağışıklığın erken ve lokal sonucu inflamatuvar yanıttır. Bu sayede lökositler infeksiyon ajanının bulunduğu yere ulaşır infeksiyonu ortadan kaldırmaya çalışır. İnflamasyonun bir diğer etkisi de bazı sistemik değişikliklere yol açarak doğal immün sistemin güçlenmesine katkıda bulunmaktır ^(31,34,36).

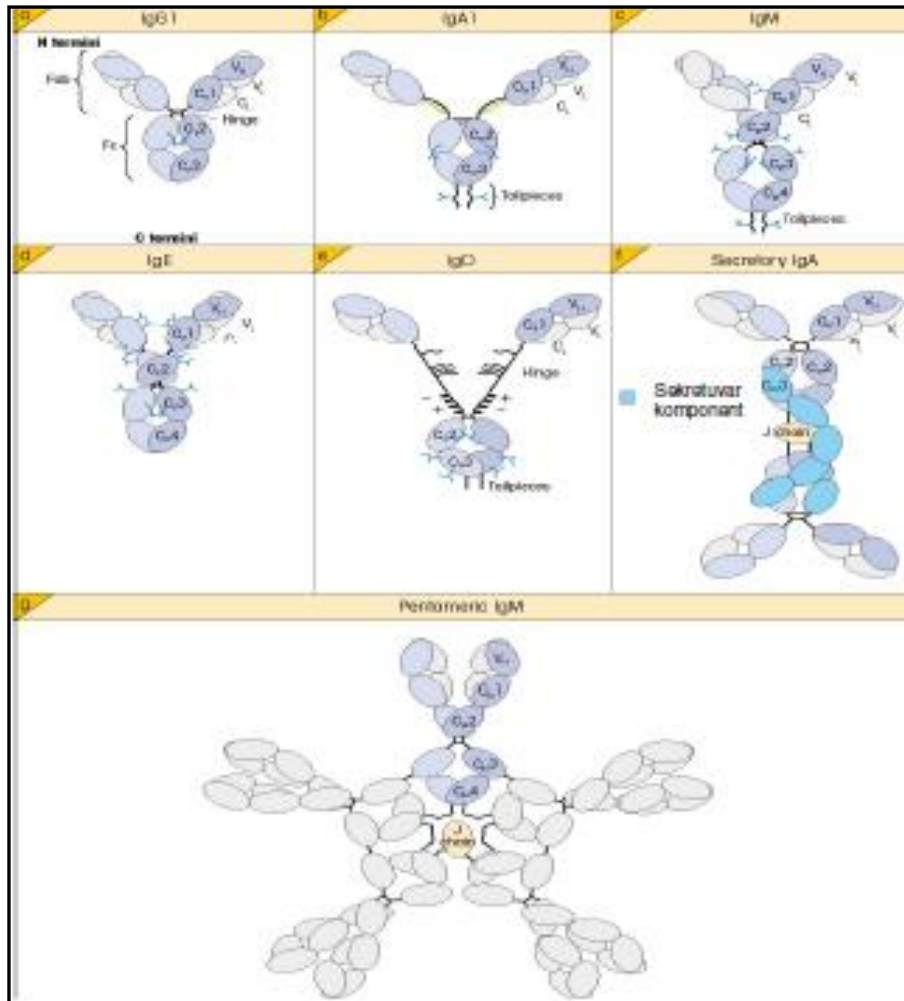
2.2.1.2. Kazanılmış İmmünite

Bir yabancı etmenle karşılaşıldığında uyarılan ve sadece o antijene özgün olarak yanıt veren ve o antijenle bir kez daha karşılaşıldığında daha güçlü olarak yanıt verilmesini sağlayan sistemdir. Kazanılmış bağışıklığın başlıca elemanları T ve B lenfositler, antijen sunucu hücreler, antikorlar ve bazı lenfokinlerdir. Kazanılmış immün yanıtlar doğal immün yanıtı takip eder.

Kazanılmış bağışıklık, doğal bağışıklığın koruyucu mekanizmalarını güçlendirmektedir⁽³⁴⁾. Özgül bağışıklık aktif ya da pasif bağışıklık olarak ikiye ayrılır. Organizmanın yabancı antijenle karşılaşır aktif bir şekilde yanıt vererek geliştirdiği bağışıklığa "aktif bağışıklık" adı verilirken, özgül olarak bağışık bir bireyden serum ya da hücrelerin bağışık olmayan bireye nakliyle geliştirilen bağışıklığa ise "pasif bağışıklık" denir. Kazanılmış immün yanıt sekonder lenfoid dokular olarak adlandırılan lenf nodları, dalak ve mukoza ile ilişkili lenfoid dokularda gelişir. Bu yanıtlar, yanıt oluşturan immün sistem elemanlarına göre humoral ve hücresel diye iki grupta incelenirler ve farklı mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasında işlev görürler.

2.2.1.3. Hümmoral İmmünite

Hümmoral bağışıklık B lenfositlerin reseptörlerine bağlanan antijenler tarafından başlatılmaktadır. Antijenin özgül olarak tanınmasını ve çeşitli yollarla ortadan kaldırılmasını sağlayan antikorlar başlıca rolü oynar. Özgül antijeni ile karşılaşan B lenfositler plazma hücrelerine farklılaşarak antikor üretirler: bunlar immünoglobülinlerdir. B lenfositlerinin yüzeylerinde IgD ve IgM antikorları bulunmakta ve bunlar yüzey reseptörleri gibi davranmaktadırlar. Antijenin bağlanmasıyla birlikte hücre aktifleşmekte ve özgül B lenfositlere farklılaşmakta ve proliferere olmaktadır. Bu sırada yüzey IgD kaybolmakta ve özgül IgA, IgE, IgG ve IgM üretimi kapasitesi kazanılmaktadır (Şekil 4). Özgül antikor üretimi klonal proliferasyon ile oluşmaktadır. Bu çoğalma sırasında her bir alt grup uzun süreli özgül Ig üretimi için bellek hücre fenotipine dönmektedir ⁽³⁷⁾.



Şekil 4. Farklı immünglobulinlerin sabit ve değişken yapılarının şematik görünümü ⁽³⁷⁾.

Bu özgül antikorlar dolaşımdaki antijenlere bağlanarak ortadan kaldırılmalarını sağlarlar. Buna karşılık bu antikorlar hücre içi yerleşim gösteren mikroorganizmalara ulaşamazlar. Böyle durumlarda hücrel bağışıklık devreye girerek mikroorganizmaların aktif makrofajlarca fagosite edilip, ortadan kaldırılmasını veya infekte hücrenin lizisini sağlar. Dolaşan antikorların her biri kendi özgül antijenine karşı düşük düzeyde bir koruma gösterir. Birey yüklü miktarda antijen ile karşılaşır o antijene karşı özgül olan antikorun serum konsantrasyonu yükselir.

Antikor yanıtının dört fazı vardır. Latent faz olarak adlandırılan ilk kısım immünojenle ilk karşılaşmadan dolaşımda antikorların saptanmasına kadar geçen süredir. Bu süre insanlarda yaklaşık bir haftadır. Bu fazda yardımcı T lenfositler ve B hücre aktivasyonu gerçekleşmektedir. Bu fazı ekspanansiyel faz takip eder. Ekspanansiyel fazda dolaşan antikor miktarı hızla artar. Daha sonra antikor düzeyinin sabit kaldığı plato fazı gözlenir. Plato fazında antikor düzeyi sabit kalmasının sebebi antikor yapım hızı ile parçalanma hızının nispeten eşit düzeylerde olmasıdır. Plato fazından sonra düşme fazı gelir. Bu fazda dolaşan antikor düzeyi giderek azalır. Bu da artık yeni plazma hücrelerinin oluşmadığının ve varolan plazma hücrelerinin de ölmekte ya da antikor yapımını kesmekte olduğunun bir göstergesidir. Bu olay immünojenin ortadan kaldırıldığına işaret eder. İmmün yanıt antijenik uyarının süresi ve immün yanıt katılan plazma hücrelerinin nisbeten kısa olan yaşam süreleri ile sınırlıdır. Aynı immünojenle daha sonraki karşılaşmalarda sekonder immün yanıt ortaya çıkar. Sekonder immün yanıtta latent period kısalmış, antikor düzeyi çok daha çabuk çok daha yüksek düzeylere ulaşır ve serumda çok daha uzun süre saptanabilir düzeyde bulunur (34,37,38).

2.2.1.4. Hücrel İmmünite

Hümmoral immün sistemin tersine hücrel bağışıklık yalnızca hücreler aracılığı ile aktarılabilir. İmmün yanıt iki evreden oluşur; tanıma evresinde antijen sunan hücreler (ASH) ve T lenfositleri, efektör evrede ise antikorlar ve efektör T lenfositleri antijenin yok edilmesinde etkilidir.

Hücrel bağışıklıkta antijeni özgül olarak tanıyan T lenfositleri başlıca rolü oynamaktadırlar. Antijenin T lenfositleri tarafından tanınması, antijen sunucu hücreler ya da hedef hücre üzerindeki MHC (Büyük Doku Uyum Kompleksi) molekülleri

aracılığıyla gerçekleşir. Yüzeylerinde CD4 molekülü taşıyan yardımcı T lenfositler (Th) sınıf II MHC tarafından sunulan antijenleri tanıyabildikleri için bu olay sınıf II MHC'ye bağımlıdır. Yüzeylerinde CD8 molekülü taşıyan sitotoksik T lenfositler (Tc) ise MHC sınıf I'e bağımlıdır.

Somatik hücrelerin hemen hepsinde sınıf I MHC molekülleri bulunurken sınıf II MHC molekülleri başlıca profesyonel antijen sunan hücreler (dendritik hücreler) bulunur. Dendritik hücreler deride ve mukozal yüzeyin altında bulunduklarında langerhans hücreleri olarak adlandırılırlar. Karaciğerdeki Kupffer hücreleri, santral sinir sistemindeki mikrogial hücreler ve kemikteki osteoklastlar belli özellikleri olan doku makrofajlardır.^(35,38)

2.2.1.5. Büyük Doku Uyuşum Kompleksi

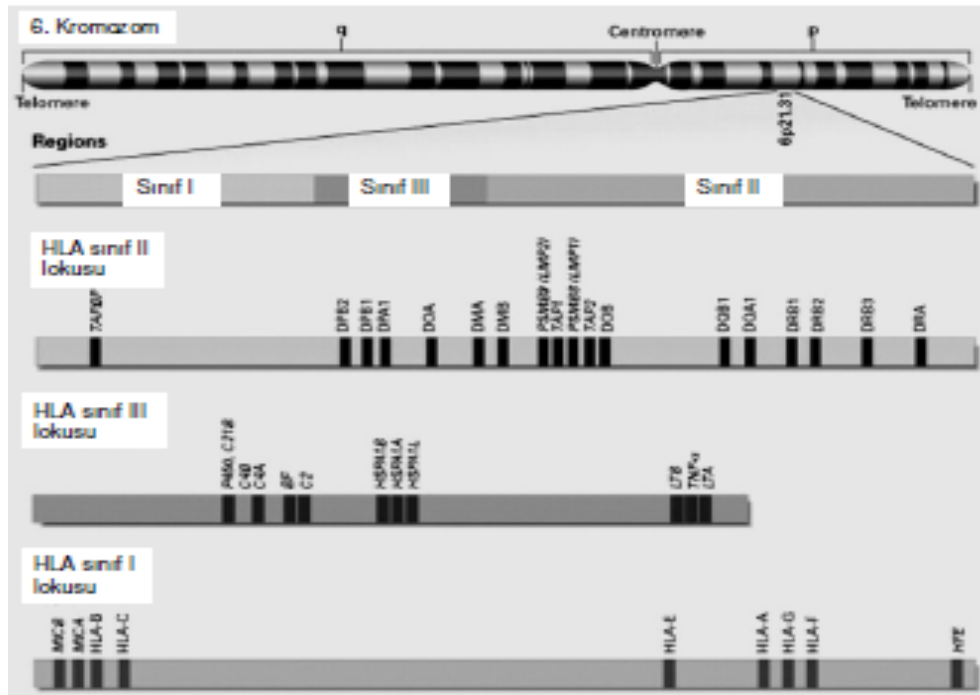
Büyük doku uyuşum kompleksi içerisinde yer alan moleküller ilk olarak farklı türler arasında yapılan greft değişimlerini hızla reddedici özellikleriyle tanımlanmıştır⁽³⁹⁾. Yabancı antijenleri, vücudun kendi antijenlerinden ayırt etme görevi MHC molekülleri ile gerçekleşir. Hücre yüzeyinde bulunan MHC molekülleri yabancı antijenleri bağlayarak immün sistemin efektör hücrelerine sunar ve bu şekilde immün yanıtın başlamasında anahtar rol oynarlar. MHC yerine HLA terimi de kullanılmaktadır⁽⁴⁰⁾.

MHC antijenlerinin üzerlerinde yerleştikleri hücre tipleri ile immün işlevleri açısından 4 farklı grupta oldukları anlaşılmış olup, bunlara sınıf I, II, III ve IV MHC antijenleri adı verilmiştir. I. ve II. sınıf antijenleri hücre membranı üzerine yerleşmiş transmembran proteinlerdir. Ancak bu iki sınıf MHC antijenleri farklı genlerde kodlanırlar, farklı moleküler yapıya sahiptirler ve işlevleri de birbirine benzemez. III. ve IV. sınıf antijenler transplantasyonla doğrudan ilgili değildir. Ancak HLA gen bölgesinde ifade edilen antijenler olup bazı kompleman komponentlerini, inflamasyon moleküllerini (C4 A, C4 B, HSP, LT, MIC A, MIC B ve TNF) içerirler⁽⁴¹⁾.

İnsanda MHC antijenlerini kodlayan gen bölgesi 6. kromozomun kısa kolu üzerinde sentromere yakın bir bölgeye yerleşmiş ardışık bir DNA alanıdır (6p 21.3) (Şekil 5). Bu bölge 4 santimorgan (cM) büyüklüğünde bir bölge olup 203 tane gen immün sistemle ilişkilidir. MHC sistemi polimorfik olup kalıtım şekli ise Mendelian ve kodominattır⁽⁴⁰⁾. İnsanda 6. kromozomda yerleşik olan sınıf I gen bölgesi, MHC'nin

telomerik ucunda yer alır. HLA -A, -B ve -C olarak da tanınan spesifik transplantasyon antijenlerini ve HLA -E, -F ve -G gibi spesifik olmayan Sınıf I antijenleri kodlayan gen lokuslarını, HLA -H, -J, -K, -L ve -X gibi psödogenleri ve gen segmentlerini içerir. Sınıf II bölgesi ise sentromere yakın yerleşmiş olup, HLA -DRA, -DRB, -DQA, -DQB, -DPA, -DPB, -DMA, -DMA ve -DOB lokuslarını barındırır. Bunların yanısıra çeşitli psödogenler, LMP1, LMP2, TAP1 ve TAP2 aktif makrofajlar ve B lenfositler olmak üzere görece kısıtlı sayıda hücrede gibi antijen işlenmesinde rol alan genler de bu bölgede yer alır. HLA DRB ile HLA B bölgeleri arasında Sınıf III genleri bulunur. Bunlar kompleman komponentleri (C2, C4 ve Faktör B) sitokinler (İnterferon, Tümör Nekrozis Faktör), enzimler (21 hidroksilaz koenzim) ve bazı ısı sok proteinleridir (Şekil 4). Adı geçen lokusların bir kısmı, çok sayıda polimorfik allelin kodlanmasından sorumludur. HLA tiplendirilmesi ile amaçlanan da bu alellerin ve kodladıkları antijenlerin belirlenmesidir ⁽⁴²⁾.

İnsanda MHC genleri Mendel kuralına göre ebeveynden çocuklara geçiş göstermektedir. Her bireyde bir çift kromozomun yarısı anneden yarısı babadan geçer. Böylece çocuklar ile anne-baba arasında bir haplotip uygunluğu vardır. Bir haplotipde bulunan aleller bir blok halinde geçer. Genetik geçiş sırasında % 1-3 oranında rekombinasyon (Çapraz geçme=Crossing over) görülebilir ⁽⁴²⁾.

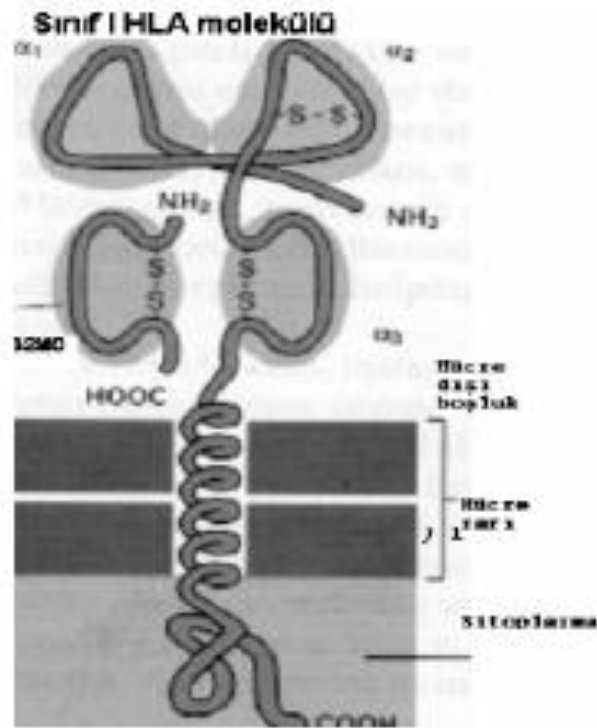


Şekil 5. HLA gen bölgesinin 6. kromozom üzerindeki yerleşimi ve Sınıf I, II, III Bölgeleri ⁽⁴²⁾.

2.2.1.5.1. MHC Sınıf I Molekülleri

Sınıf I MHC (HLA A, B, C) molekülleri tüm çekirdekli somatik hücrelerde bulunurlar. HLA sınıf I molekülleri, kovalan olmayan bağlarla bir arada tutulan, iki polipeptid zincirinden oluşmuş heterodimerlerdir. Bunlardan ağır olan alfa zinciri 45 KDa ağırlığında olup MHC bölgesinde kodlanır, hücre membranı boyunca ilerleyen bu molekülün amino ucu membranın dışında yer alır. Membran dışındaki alfa zinciri, $\alpha 1$, $\alpha 2$ ve $\alpha 3$ “domain” lerden oluşur. Bu domainler sırasıyla 90, 63 ve 86 amino asit dizisinden ibarettir. Zincirin membranı geçen kısmını takiben sitoplazmik kısa bir uzantısı vardır. Molekülde bulunan hafif zincir ise $\beta 2$ mikroglobulin ($\beta 2m$) olup 12,5 KDa ağırlığındadır. $\beta 2m$ non-kovalent bağlarla ağır zincire bağlanmış olup MHC dışında, 15. kromozomda kodlanır^(41,42).

Molekülün üç boyutlu yapısına bakıldığında membran dışında birbirine benzerlik gösteren bölgelerin karşılıklı gelmesi ile iki çift domain oluştuğu görülür. $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ membran distalinde, $\alpha 3$ ve $\beta 2m$ de membran proksimalinde karşılıklı yer alır (Şekil 6). Karşılıklı yerleşen $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ zincirleri antijenlere ait 8-10 amino asit büyüklüğünde peptidlerin yerleşebileceği kovuğa benzer bir yapı oluştururlar. $\beta 2m$ molekülün üç boyutlu yapısının korunmasında rol almaktadır. Sınıf I molekül genleri, kodlama yapan 8 exon ve kodlama yapmayan 7 introndan oluşur. Polimorfik bir yapı gösteren $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ bölgeleri ekzon 2-3 tarafından kodlanır. Altıncı kromozom üzerinde sınıf I molekülleri kodlayan genlerden önce sınıf I genleri düzenleyen bir bölge yer almaktadır. Bu kontrol bölgesi farklı sınıf I genleri ve hatta farklı aleller için bile farklı olabilir^(41,42,43). HLA sınıf I gen bölgesinde (sınıf I benzeri) HLA-E ve HLA-G genleri belirlenmiştir. HLA-E, HLA-G’ye göre daha polimorfiktir. Trasplantasyon sonrası ortaya çıkan olumsuzlukların HLA-G’den kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Ayrıca HLA B lokusuna yakın bir bölgede MIC A (Major Histokompatibilite I Zincir İlişkili Antijen A) ve MIC B (Major Histokompatibilite I Zincir İlişkili Antijen B) adında yeni birtakım genler keşfedilmiştir. Bu genler sınıf I genleriyle yapısal benzerlikleri olan IV. sınıf genler olup tercihen epitel hücrelerinde transkribe olurlar ve özellikle stresle aktifleşirler⁽⁴⁴⁾.



Şekil 6. Sınıf I HLA molekülünün şematik görünümü ⁽⁴²⁾.

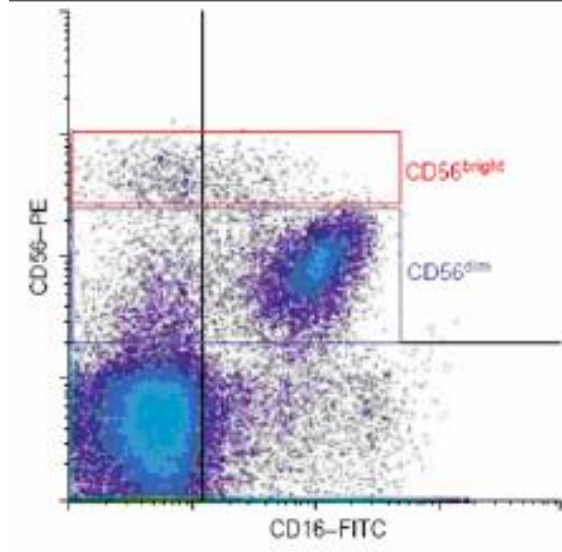
2.2.1.6. Doğal Öldürücü (Natural Killer, NK) Hücreler

NK hücreleri kemik iliği kökenli büyük granüllü lenfosit morfolojisindeki hücrelerdir. Doğal bağışıklığın elemanı olan NK hücreleri esas olarak kan, dalak ve periton sıvısında bulunur. Bu hücrelerin insanlarda ve deney hayvanlarında timus olmadan olgunlaşabildikleri gösterilmiştir. NK hücreleri tümör hücre büyümesinin kontrolünde, viral enfeksiyonlarda, ayrıca parazit, mantar, bakteri gibi mikrobiyal enfeksiyonların kontrolünde, sitokin üretimi, hematopoetik sistem hücre büyüme ve farklılaşması, allograft rejeksiyonu gibi immünoregülatör fonksiyonlarda ve graft versus host hastalığı (GvHH) gelişimi, aplastik anemi, nötrojeni, diyabet, gastrointestinal hastalıklar gibi farklı hastalıklarda rol oynamaktadır ^(45,46).

Antijen sunan hücrelerden salgılanan IL-12 NK hücrelerinin çoğalmasını, IFN α ise mRNA transkripsiyonunu ve sitotoksik etkilerini artırır. Periferik kandaki mononükleer hücrelerin % 5-10'u yüzeylerinde T ya da B hücresi işareti taşımazlar. Bu hücrelerin yüzeylerinde IgG Fc kısmına karşı reseptör bulunur. Bir kısmı bir T hücre göstergesi olan CD8 taşır ve IL-2 ile çoğalır. NK hücrelerinin büyük sitoplazmik granülleri vardır ancak fagositoz yapma ve yapışma özellikleri bulunmamaktadır ^(45,46).

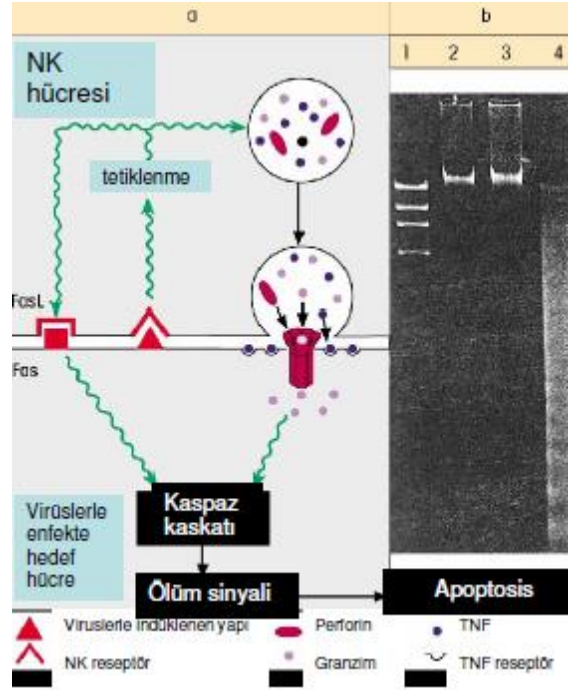
Monosit-makrofaj ve nötrofil benzeri fonksiyonları olan NK hücreleri antikor bağımlı hücrel sitotoksikite (ADCC) etkisi gösterirler. Antikora bağı hücrel öldürme Fc reseptörü olan lenfositin antikor ile kaplı (opsonize) hücreye Fc yolu ile bağlanıp onu öldürmesidir. NK hücre aktivitesi ise daha önceden hedef ile karşılaşmamış lenfositin antikor varlığı gerektirmeyen öldürücü aktivitesidir ⁽⁴⁶⁾. NK hücreleri malign hücreler, virüs ile enfekte hücreler ve transplante edilmiş yabancı hücrelerin yok edilmesinde rol alır. Hedef hücre yıkımının mekanizması tam olarak aydınlatılamamakla beraber sitoplazmik bileşenlerde bulunan perforin ve granzimler aracılığı ile yıkımın gerçekleştiği kabul edilmektedir. Konağın korunmasında ADCC'nin önemi açık olmamakla beraber, bakteri ve virüslerin yok edilmesinde ek bir mekanizma olarak kabul edilmektedir ⁽⁴⁵⁾.

NK hücrelerinin öldürücü yeteneği hedef hücrelerin HLA sınıf I molekül ekspresyonları ile ters orantılıdır. Virüsler ve malign dönüşüm, hücrelerin HLA sınıf I ekspresyonunu azaltır, bu durum CD8+ T hücrelerinin HLA sınıf I'e bağımlı sitotoksik yanıtlarını etkiler. NK hücrelerinin immün sistemdeki bu boşluğu doldurmak üzere geliştikleri düşünülmektedir ⁽⁴⁵⁾. NK hücreleri fenotipik olarak CD3 negatif, CD16 pozitif, CD56 negatif ya da pozitif olabilirler. Yaklaşık 1/3'ünde CD8 pozitifliği de bulunur. NK hücreleri, hücre yüzey moleküllerinden CD56'nın dansitesine göre sınıflandırılabilirler. NK hücrelerinin % 90'ında CD56'nın düşük dansiteli (CD56dim) ekspresyonu gerçekleşmekte iken % 10 kadarında yüksek dansiteli CD56 (CD56bright) ekspresyonu gerçekleşmektedir. Perifer kanda CD56dim hücrelerin sayısı CD56bright hücrelerden fazla iken ve kemik iliği ve dalakta CD56bright hücrelerin sayısı CD56dim hücrelerden fazladır (Şekil 7). Yine CD56dim hücrelerde sitotoksik etki baskın iken CD56bright hücreler minimal sitotoksik etki gösterirler ve potent sitokin salınımından sorumludurlar ^(38,46).



Şekil 7. CD56^{bright} ve CD56^{dim} doğal öldürücü hücrelerin periferik kan örneğinde akımsitometri ile analizi ⁽³⁸⁾.

NK hücreleri, antikor veya antijenik uyarıya gerek duymaksızın hedef hücreleri öldürme yeteneğindedirler. Non-özgül olarak mitojenler, IFN- α , IL-2, IL-12, IL-15 ve IL-18 ile aktifleşirler. Virüsle enfekte hücrelerin yok edilmesinde ilk yanıt veren hücrelerdir. NK hücreleri lektin-benzeri ve diğer reseptörler ile virüsle enfekte hücre yüzeyinde bulunan yüksek molekül ağırlıklı glikoproteine bağlanır. NK hücrelerinin aktivasyonu ile dakikalar içinde çekirdek ile hedef arasında granüllerin polarizasyonu meydana gelerek granül içeriği hücre dışına salınır ve hücre dışı öldürme gerçekleşir. (Şekil 8)⁽³³⁾ Granüller içinde bulunan en önemli bileşen perforin ya da C9 ile yapısal homoloji gösteren sitolizindir. C9 tarafından indüklenen hücre lizisinde önce dış membran daha sonra nükleer değişiklikler sonucu hücre zarar görür. NK hücreleri ise apoptozisi aktifleştirerek hücre ölümüne neden olur. NK hücrelerinde granüller içinde bulunan proteazlara dirençli, negatif yüklü bir proteoglikan olan kondroitin sülfat-A hücrelerin kendi kendini otoliz etmesini önler ⁽³³⁾.



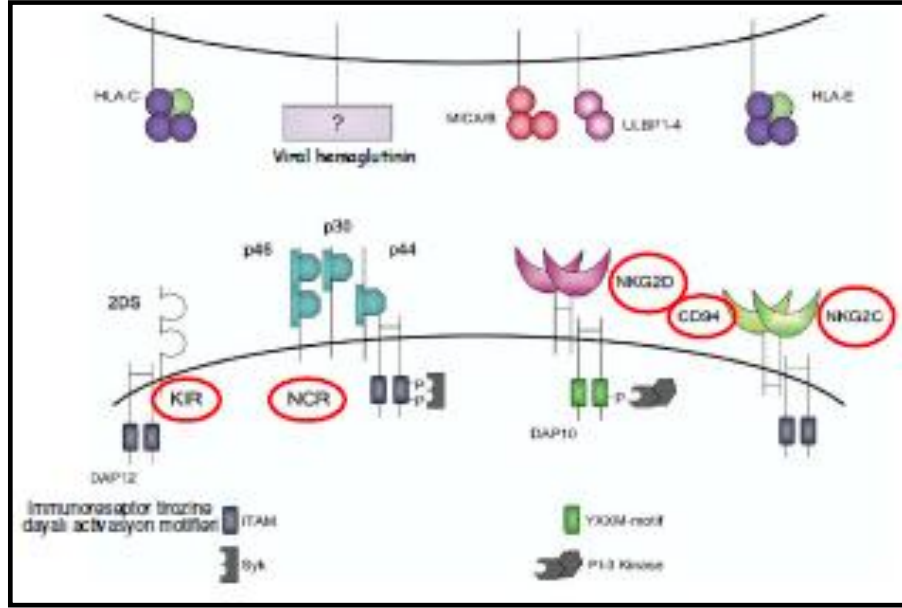
Şekil 8. Viruslerle enfekte hücrelerin, NK hücreleri ile ekstrasellüler olarak öldürülmesi ^(31,33).

2.2.1.6.1. NK Hücrelerinin Yüzey Reseptörleri

NK hücreleri HLA-A, HLA-B ve HLA-C gibi spesifik HLA antijenleri, HLA-E ve HLA-G gibi non-spesifik HLA antijenleri ve stress ile indüklenen molekül MICA moleküllerinin her biri için reseptör üretir. Bu reseptörler doğal öldürücü reseptörler (NKR) olarak adlandırılır. İki farklı yapıda NK reseptör ailesi tanımlanmıştır. Bunlar C-tip lektin reseptörleri ve Ig benzeri reseptörlerdir. Her iki reseptör yapısında aktivatör ve inhibitör reseptörler mevcuttur. İnhibitör reseptörler stoplazmik uçlarında ITIM (Immunoreseptör tirozine dayalı inhibitör motifler) içerirler. Bunlar bazı fosfatazları algılayarak hücre içinde inhibisyon oluştururlar ve sinyal iletimini engellerler. Bu inhibisyonun olmadığı durumda NK hücrelerinden sitotoksik granüller veya sitokin sekresyonu gerçekleşir.

Aktifleştirici reseptörler DAP-12 gibi proteinlerle ilişkilidir ve bunlar sitoplazmik uca pozitif aktivasyon gösteren ITAM (Immunoreseptör tirozine dayalı aktivatör motifler) içerirler. ITAM'lar NK aracılı saldırı olaylarını yönetirler. İnhibitör reseptörler MHC sınıf I moleküllerine bağlandıklarında sinyali baskırlar. Aksi halde NK hücreleri aktifleşir ⁽³⁹⁾.

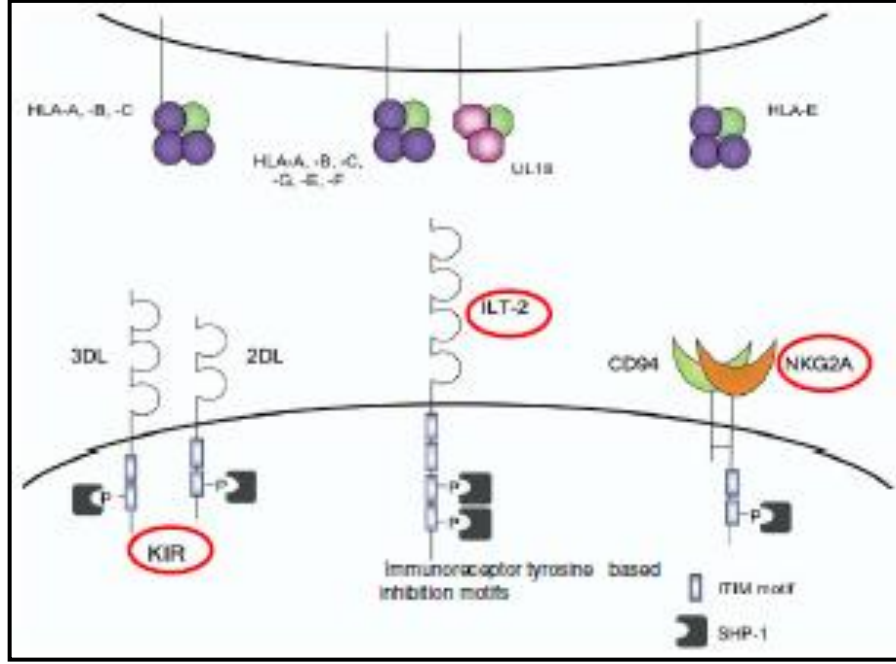
HLA sınıf I molekülleri ile reaksiyona girdiğinde öldürme veya sitokin üretimini inhibe eden sinyal iletimine yol açan reseptörler ilk olarak katil inhibitör reseptörler olarak daha sonra ise katil immünoglobulin-benzeri reseptörler (KIR), öldürme ve sitokin üretimi gibi efektör işlevleri tetikleyen reseptörler ise katil aktivatör reseptörler (KAR) olarak adlandırılmıştır. İlk çalışmalarda tanımlanan KIR, NK hücrelerine inhibitör sinyaller göndermesine karşılık daha sonraki çalışmalar sınıf I MHC antijenleri için aktifleştirici reseptörlerin de KIR ailesi içinde olduğunu göstermiş ve genel olarak killer immünoglobulin-benzeri reseptörler olarak adlandırılmıştır. İnhibe edici sinyaller konağın kendine karşı toleransını sağlarken, Aktive edici sinyaller patojenlere ve transforme hücrelere karşı erken savunmada görev alırlar. Aktive edici NK Hücre reseptörleri doğrudan sitotoksik etki gösterenler ve antikor aracılı sitotoksik etki gösterenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Antikor aracılı sitotoksik etki gösteren reseptörlere bir örnek CD16'dır. CD16, IgG Fc reseptörü için düşük afinite gösterir. Bu durumda reseptörün ligandı anormal durumda hedef hücrede var olan antijene bağlı IgG'dir. Diğer ligandların ne olduğu halen bilinmemektedir. Doğrudan sitotoksik etki gösteren reseptörler NK hücrelerine özgün olanlar (aktive edici KIR, Ig süper ailesinden NKp46, NKp44, NKp30, CD244, NTB-A, Lektinlerden, NKG2D, CD94/NKG2C,-E,-F) ve NK hücrelerine özgün olmayanlar (CD2, CD26, CD69) olmak üzere iki grupta incelenmektedir.(Şekil 9)⁽⁴⁵⁾ Farelerde ana MHC sınıf I'i tanıyan reseptörler Ly49 multigen familyasıyla temsil edilirler. Her bir NK hücresi bir ile dört farklı Ly49 geni eksprese eder. Ancak insanlarda Ly49 bazlı reseptörler bu görevi yerine getirmede kullanılmazlar. Bunun yerine insanlarda işlevsel olarak aynı, yapısal olarak farklı olan KIR reseptörleri bulunur. Bu ilişkisiz genler, aynı işlevi yerine getirmek üzere gelişme olarak adlandırılan konverjent evolusyona iyi bir örnektir. Bazı Ly49 reseptörleri peptid bağı oluşturmada MHC sınıf I moleküllerini tanıyabilirler. Ly49 dimerleri MHC sınıf I molekülleriyle TCR bölgesi ile örtüşme oluşturmada, iki farklı noktadan bağlanırlar. Bunun aksine KIR'lar MHC sınıf I molekülleriyle TCR oluşuna peptid bağı yardımıyla yerleşerek ilişki kurar⁽³⁹⁾.



Şekil 9. Aktive edici NK hücre reseptörleri ⁽⁴⁵⁾.

İnhibe edici NK hücre reseptörleri ise inhibitör katil hücre immunglobulin benzeri reseptörler (inhibitor killer cell immunglobulin like receptors; iKIR), Immunglobulin benzeri transkriptler (ILT) ve C-tip Lektinlerdir (CD94/NKG2A heterodimeri). (Şekil 10) ⁽⁴⁵⁾

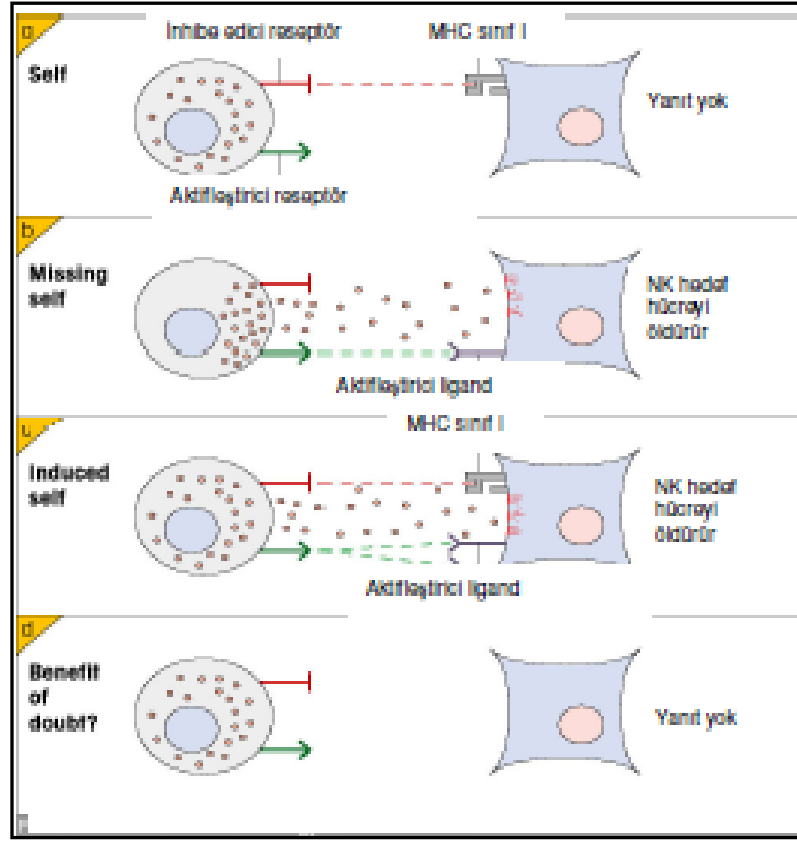
KIR sadece NK hücrelerinin değil aynı zamanda daha önceden aktifleşmiş T hücre aktivasyonunun düzenlenmesinde de rol oynar. Th1 ve Th2 hücrelerine benzer şekilde insan NK hücre alt gruplarının in vivo koşullardaki varlığı taze olarak saflaştırılan IFN- α salgılayan ve salgılamayan NK hücre gruplarında gösterilmiştir. IFN- α salgılayan NK hücre alt grubunun asıl IFN- α salgılamasına karşılık IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılamadığı, tersine IFN- α salgılamayan NK hücrelerinin ise IL-4, IL-5 ve IL-13 salgıladığı bulunmuştur. Taze olarak saflaştırılan IFN- α salgılayan ve salgılamayan NK hücre alt grupları ile in vitro olarak farklılaşmış NK1 ve NK2 hücre alt gruplarının K562 hücrelerine karşı benzer sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır. Son bulgular dolaşımdaki NK hücrelerinin farklı sitokin profillerine sahip efektör NK hücre alt gruplarına dönüşebileceğini ve farklı inflamatuvar özellikler kazanabileceğini göstermektedir ^(45,46).



Şekil 10. İnhibe edici NK hücre reseptörleri ⁽⁴⁵⁾.

2.2.1.6.2. NK Hücrelerinin Uyarılması

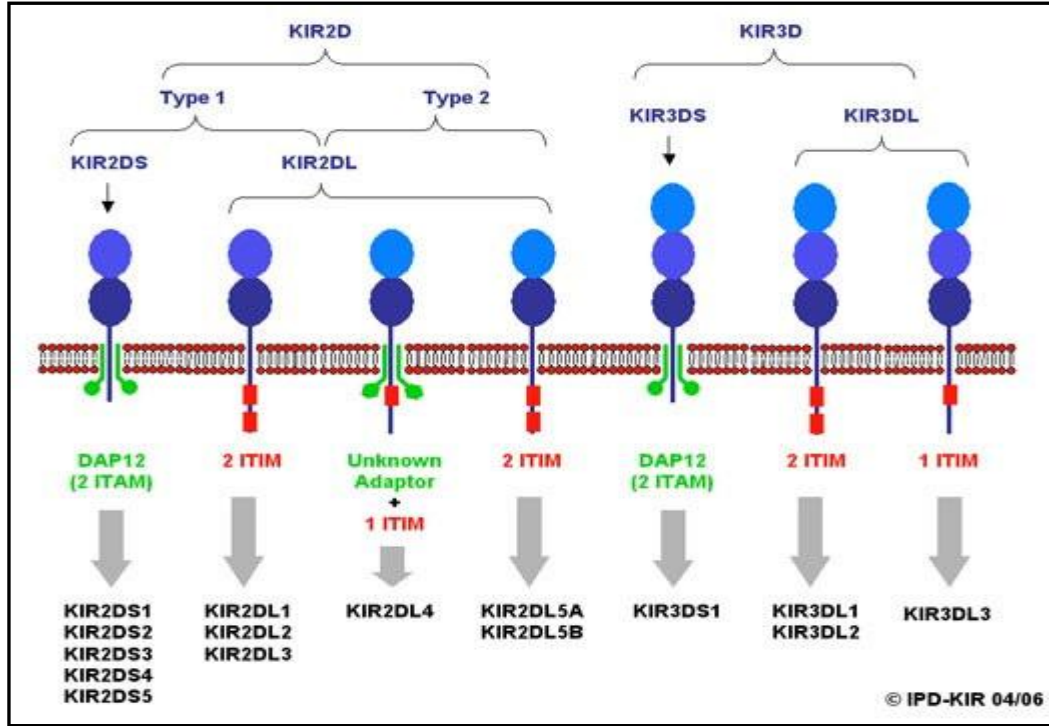
NK hücreleri normal otolog MHC sınıf I molekül üreten hücreyle karşılaştığında inhibe edici reseptörler ile bu hücreye bağlanma olurken aktive edici NK reseptörleri hedef hücre yüzeyinde üretilen aktive edici ligand olmadığı için boşta kalır. Böylece NK hücreleri aktifleştirilmemiş olur. NK hücrelerinin uyarılması iki ayrı hipotezle açıklanmıştır. Bunlardan birincisi kimliğini kaybetme (Missing Self) hipotezidir. Bu hipoteze göre hedef hücrede MHC moleküllerinin kaybı, inhibitör reseptör etkisini ortadan kaldırır ve aktivatör reseptörler baskın hale geçerek yabancı hücrenin ortadan kaldırılması sağlanır. Diğer bir hipotez ise “kendini indükleyen tanıma” (Induced Self Recognition) hipotezidir. Bu hipoteze göre hedef hücrede MHC sınıf I ekspresyonu bulunmasına rağmen bu hücreler NK aktifleştirici ligandları da eksprese ediyorsa, NK hücrelerinin vereceği yanıt aktive ve inhibe edici sinyallerin gücüne göre değişir. Bazı Immunoreceptor tyrosine based inhibition motifs⁽⁴⁵⁾ durumlarda NK hücreleri MHC sınıf I molekülleri ya da aktivatör ligandları eksprese etmezler, bu durumda NK hücreleri alternatif inhibe edici ligandlar nedeniyle hücreleri tanıyamayabilirler. (Şekil 11) ⁽³⁹⁾



Şekil 11. NK hücre aktivasyonu ⁽³⁹⁾.

2.2.2. KIR'ların Yapısı

KIR reseptörü, T hücrelerinin alt grupları ve NK hücrelerinin üzerlerinde eksprese olan hücre yüzey reseptörüdür. Bu reseptörler hedef hücreler üzerindeki HLA sınıf I ligandını tanıyarak NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesini düzenlerler ⁽⁴⁶⁾. KIR2D iki adet, KIR3D ise üç adet immünoglobulin domainine sahiptir. KIR'ların üyesi olan bu alt ailelerin inhibitör ve stimülatör işlevleri bulunmaktadır ⁽³⁾. KIR allellerinin (2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 3DL1, 3DL2) inhibitör sinyal iletimine yol açan, ITIM taşıyan uzun sitoplazmik kuyrukları bulunmaktadır ^(47,48). Kısa sitoplazmik kuyruk (S) varlığı reseptörün stimülatör karakterli olduğunu göstermektedir (2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5 ve 3DS1). (Şekil 12)⁽⁴⁹⁾

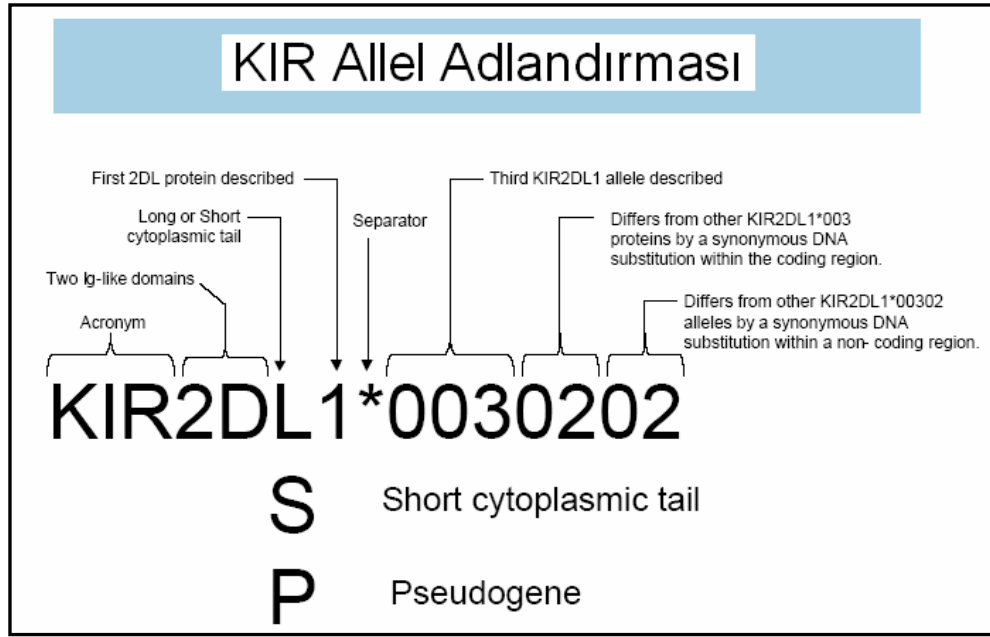


Şekil 12. KIR'ların yapısı ⁽⁴⁹⁾.

2.2.3. KIR'ların Adlandırılması

KIR genlerinin adlandırılması için iki ayrı sistem kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın kullanılanı İnsan Genom Organizasyonu'nun (Human Genome Organization, HUGO) önerdiği protein yapısını, ekstrasellüler Ig domainlerini ve stoplazmik kuyruklarını karakterize eden adlandırma sistemidir. Diğerisi ise kromozom 19'daki genlerin sentromerik-telomerik sıralarına göre CD158a, CD158b gibi CD adlandırma sistemidir ⁽⁵⁰⁾. CD adlandırması yapıyı, işlevi, ekspresyonu veya yerleşimi göstermediği için bu sistem rutinde kullanılmamaktadır. Bizim de kullandığımız sınıflama bu moleküllerin sahip olduğu immünoglobulin domainlerinin sayısına göre yapılmaktadır. Örneğin 2 domainli KIR'lar KIR2D, üç domainli KIR'lar ise KIR3D olarak adlandırılır. KIR'ların alt gruplarının inhibitör sinyal iletimine yol açan ITIM taşıyan uzun sitoplazmik immünoglobulin domainlerinin sayısına göre yapılmaktadır. Örneğin 2 domainli KIR'lar KIR2D, üç domainli KIR'lar ise KIR3D olarak adlandırılır. KIR'ların alt gruplarının inhibitör sinyal iletimine yol açan ITIM taşıyan uzun sitoplazmik kuyrukları bulunmaktadır ve bunlar domain sayısının yanına eklenen "L" harfi ile gösterilir (2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 3DL1, 3DL2). Kısa sitoplazmik kuyruk

ise stimülatör fonksiyonlara sahiptir ve “S” harfi ile gösterilir (2DS1-2DS5 ve 3DS1). KIR3DL3 ise yukarıda belirtilen bir gruba dahil edilmeyip, psödojen olarak kabul görmektedir. Psödojenler ise, domain sayısının yanına eklenen “P” harfi ile gösterilir⁽⁵¹⁾. (Şekil 13)⁽⁵²⁾ KIR’ların yapısal ve işlevsel farklılıklarıyla sınıflandırılması çok önemlidir. Bunun yanı sıra lokuslara ait diziler ve alellik varyantların çözümlenebilmesi yönünde çalışmalar da devam etmektedir.



Şekil 13. KIR allel adlandırılması⁽⁵²⁾.

2.2.4. KIR Ligandları

Hedef hücreler üzerinde bu reseptörlerin bağlandığı ligandların genellikle HLA Sınıf I molekülleri olduğu bildirilmektedir. Üç domainli KIR’ların insan lökosit antijenlerinden özgül olarak HLA A ve HLA B antijenlerine bağlanabildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte iki domainli KIR’ların farklı olarak HLA C antijenleriyle de ilişkide olabilecekleri gösterilmiştir. KIR’lar için ligand olması olası moleküller üzerine çalışmalar devam etmektedir. Populasyonda birçok birey; her üç major HLA sınıf I epitopu için reseptörleri kodlayan inhibitör KIR genlerine sahiptir. KIR 2DL1, KIR 2DL2 ve KIR2DL3 HLA C antijenlerine akronim iki adet Ig benzeri domain Uzun veya kısa sitoplazmik kuyruk İlk tanımlanan 2DL proteini Tanımlanan

üçüncü 2DL1 alleli KIR2DL1*003 proteinlerinden kodlama bölgesindeki sinonim DNA yapısı ile ayrılma KIR2DL1*00302 allelinden kodlama olmayan bölgedeki sinonim DNA yapısı ile ayrılma Kısa sitoplazmik kuyruk Psödogen⁽⁴⁹⁾ bağlanırken, KIR 3DL1'in HLA B antijenleriyle bağlandığı bilinmektedir ⁽⁵³⁾. Bilinen stimülatör KIR'lar (2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5, 3DS1) kısa sitoplazmik kuyruğa sahip olup ITIM motifini taşımazlar (Tablo 5, Şekil 12). Ayrıca transmembran domainlerinde yüklü bir aminoasit rezidüsüne sahiptirler ve inhibitör sinyal taşıma özellikleri de yoktur. Aktivatör KIR'lar için özgül bir ligand net olarak bulunamamıştır. Ancak deneysel çalışmalar KIR 2DS1 ve KIR 2DS2'nin zayıf da olsa HLA antijenlerine bağlandığını göstermektedir. KIR 2DL4 hem inhibitör hem stimulatör özelliği ile ön plana çıkmaktadır ve işlevi bugün için belirsizdir.

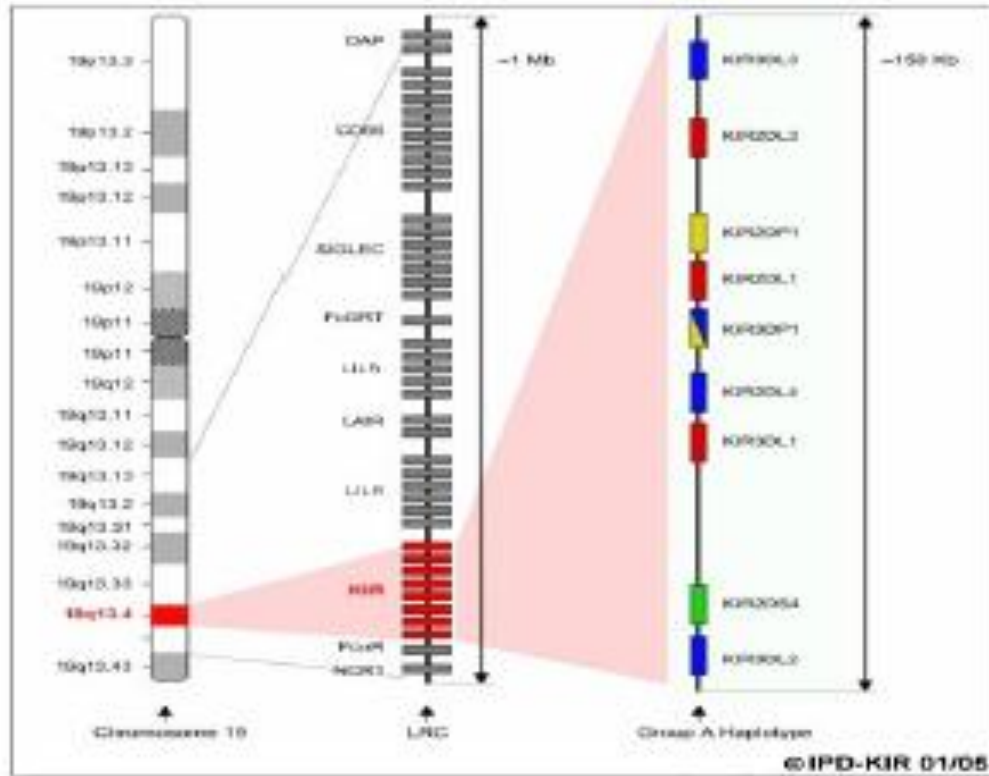
Tablo 5. KIR'ın Ligandları ⁽⁴⁹⁾.

Reseptör	Ligand
İnhibe edici olanlar	
KIR2DL1 (α helix)	HLA-C grup2
KIR2DL2/3 (α helix)	HLA-C grup1
KIR3DL1 (α 1 domain)	HLA Bw4 motifi
KIR3DL2	HLA-A3, -A11
KIR3DL3	Bilinmiyor
ILT-2 (α 3 domain)	HLA-A,-B, -C, -G, -E, -F.
CD94/NKG2A	HLA-E(self HLA-A, -B, -C, -G peptidleri yüklü)
Aktive edici olanlar	
KIR2DS1	HLA-C grup 2
KIR2DS2	Bilinmiyor
KIR2DS3	Bilinmiyor
KIR2DS4	HLA-C
KIR2DS5	Bilinmiyor
KIR3DS1	Bilinmiyor
KIR2DL4	HLA-G
CD94/NKG2C	HLA-E(self HLA-A, -B, -C, -G peptidleri yüklü)
CD94/NKG2D	MICA, MICB
NKG2E,NKG2F,NKRP1A	Bilinmiyor

2.2.5. KIR Genleri

Polimorfik ve yüksek homoloji gösteren KIR lokusları kromozomun 19q13.4 bölgesinde, 1Mb'lık lökosit reseptör kompleksinde (LRC) bulunmaktadır. LRC hızla evrimleşen immün genlerin yoğun kümeler halinde bulunduğu bir bölgedir (Şekil 14)⁽⁵⁴⁾. KIR genlerini kodlayan LRC bölgesi aynı MHC bölgesi gibi polimorfik, poligenik

ve kompleks bir yapıdadır. LRC; KIR reseptör ailesinin yanı sıra sentromerden telomere doğru siyalik asid bağlayan immunoglobulin-benzeri lektinler (SIGLEC), lökosit Ig-benzeri reseptör ailesi (LILR), lökosit-ilişkili inhibitör reseptör (LAIR) ailesi ve doğal sitotoksikite tetikleyici reseptör 1 (NCR1) olarak bilinen FcGamma reseptörlerini kodlar⁽⁵⁵⁾. Gen içeriği haplotipler arasında değişiklik göstermektedir⁽⁵⁴⁾. KIR gen ailesi LRC'nin 100-200 Kb'lık bölgesinde yer alır ve 15 KIR geni (KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3 ve KIR3DS1) ile 2 psödogeni (KIR2DP1 ve KIR3DP1) kodlar⁽⁵⁶⁾.



Şekil 14. Lökosit reseptör kompleksi (19q13.4) ve bir KIR haplotipi⁽⁴⁹⁾.

NK hücrelerindeki KIR reseptörlerinin gen içeriği kişiden kişiye farklılık gösterir. Bir haploidde 8-14 gen veya yalancı gen olabilir. Bunun yanı sıra KIR genlerinin⁽⁵¹⁾ kopya sayısı da farklılık gösterebilir. Bu farklılıkları arttıran önemli bir etken KIR genlerindeki polimorfizmdir.

2.2.6. KIR Genlerinin Allelik Polimorfizmi

KIR genomik bölgesindeki farklılıklara allelik polimorfizmler önemli bir katkıda bulunur. Tüm KIR lokuslarında nokta mutasyonları veya homolog rekombinasyonlarla oluşan allelik polimorfizmler saptanmıştır. KIR polimorfizminin işlevsel anlamı bazı polimorfizmler dışında halen tam olarak çözülememiştir⁽⁵⁶⁾. Örneğin KIR2DS4*001 alleli normal aktive edici KIR2DS4 yüzey molekülünü kodlamaktayken KIR2DS4*003, KIR2DS4*004 ve KIR2DS4*006 delesyona uğramış variant allellerdir ve eksprese edilmeyen allelik formlardır. Bu variant allellerin homozigot olduğu ve aktive edici reseptör olarak sadece 2DS4 taşıyan bireylerin bu molekülünün işlevsiz olduğu ve bu kişilerde immün cevabın devamlılığında KIR2DL4 molekülünün hem inhibe hem aktive edici özelliği rol oynamaktadır⁽⁵⁷⁾. Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarına (European Molecular Biology Laboratory, EMBL) bağlı Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü (European Bioinformatics Institute, EBI) KIR allelleri için bir database oluşturmuştur (Tablo 6).

Tablo 6. EMBL KIR Bilgi Bankasına 15.05.2008 Tarihine Kadar Girilmiş Olan Allel Tipleri ve Sayıları⁽⁵⁸⁾.

Allel Bilgileri								
KIR allelleri								292

KIR allelleri								
Gen	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	2DS1	2DS2	2DS3
Alleller	15	5	7	28	21	12	10	7
Proteinler	10	5	7	12	11	8	5	3
Null allel	0	0	0	0	0	0	0	1

Gen	2DS4	2DS5	3DL1	3DS1	3DL2	3DL3	3DP1	3DP1
Alleller	11	10	49	14	38	55	5	7
Proteinler	7	8	43	12	34	34	0	0
Null allel	0	0	1	1	0	0	0	0

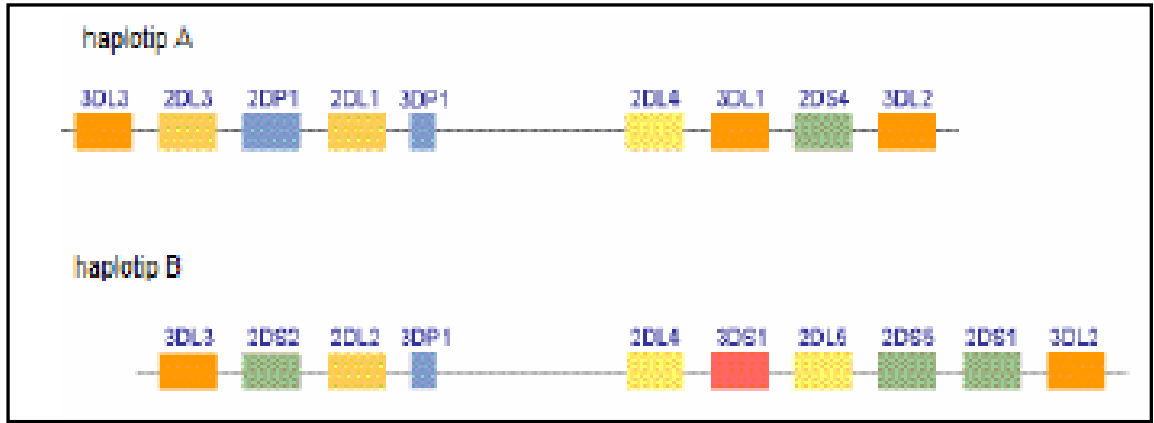
2.2.7. KIR Genlerinin Dizilimi ve Haplotipik Değişkenlik

KIR genlerinin DNA segmentindeki yerleşimi sürekli genişleyen ve kontraksiyon yapan bir bölgededir. KIR haplotiplerinin tarihini gen duplikasyonları ve eşit olmayan crossing over bölgeleri oluşturmuştur. KIR lokuslarının sayısının bireyden bireye değişkenlik göstermesi nedeniyle farklı KIR haplotipleri oluşmaktadır⁽⁵⁹⁾. Kromozom üzerindeki KIR gen diziliminin farklılığı ile birbirinden farklı iki haplotip yapısı oluşturulmaktadır⁽⁵⁵⁾. Her gen yaklaşık olarak 10-16 kb uzunluğundadır ve her gen çifti 2 kb'lık aralıklarla birbirinden ayrılmaktadır. KIR gen kompleksindeki varyasyon hem bazı KIR genlerindeki allelik polimorfizmlerle hem de haplotipler üzerinde bulunan genlerin sayısı ve tiplerindeki farklılıklarıyla ortaya çıkmaktadır⁽⁵⁴⁾.

Haplotiplerin her iki grubu da şimdiye kadar analiz edilen bütün popülasyonlarda görülmüş olmakla beraber, oranları farklı ırk ve etnik gruplarda değişmektedir. Ancak KIR gen lokusunun geniş genomik dizilemesi sonuçları ve popülasyon çalışmalarının sonuçları 4 KIR geninin hem A grubu, hem de B grubu haplotiplerde ortak olduğu izlenimini vermektedir. Bunlar sentromerik sınırda yer alan KIR3DL3 geni, telomerik uçta yer alan KIR3DL2 geni, KIR gen kümesinin ortasında yer alan KIR2DL4 ve KIR3DP1 genidir. KIR haplotiplerindeki gen sayılarının ve tiplerinin değişik olmasına rağmen, 2DL4, 3DP1, 3DL2 ve 3DL3 genleri hemen hemen her haplotipte bulunmakta ve çerçeve genleri (framework lokus) olarak adlandırılmaktadırlar⁽⁵⁵⁾. Diğer genlerin tamamı total haplotipik havuzun bir parçası olarak bulunmaktadır. Tek bir haplotipte eksprese olan KIR sayısının, temel olarak aktive edici KIR lokusunun olmasına veya olmamasına dayanarak, 7 ile 12 arasında olduğu varsayılmaktadır^(54,55). Haplotipler gen içeriğine dayalı olarak A ve B olarak iki gruba ayrılmışlardır. Bu ayırımı southern blot analizi ile belirlenen 24kb'lık HindIII fragmanının varlığına dayanarak yapılmıştır⁽⁵⁴⁾.

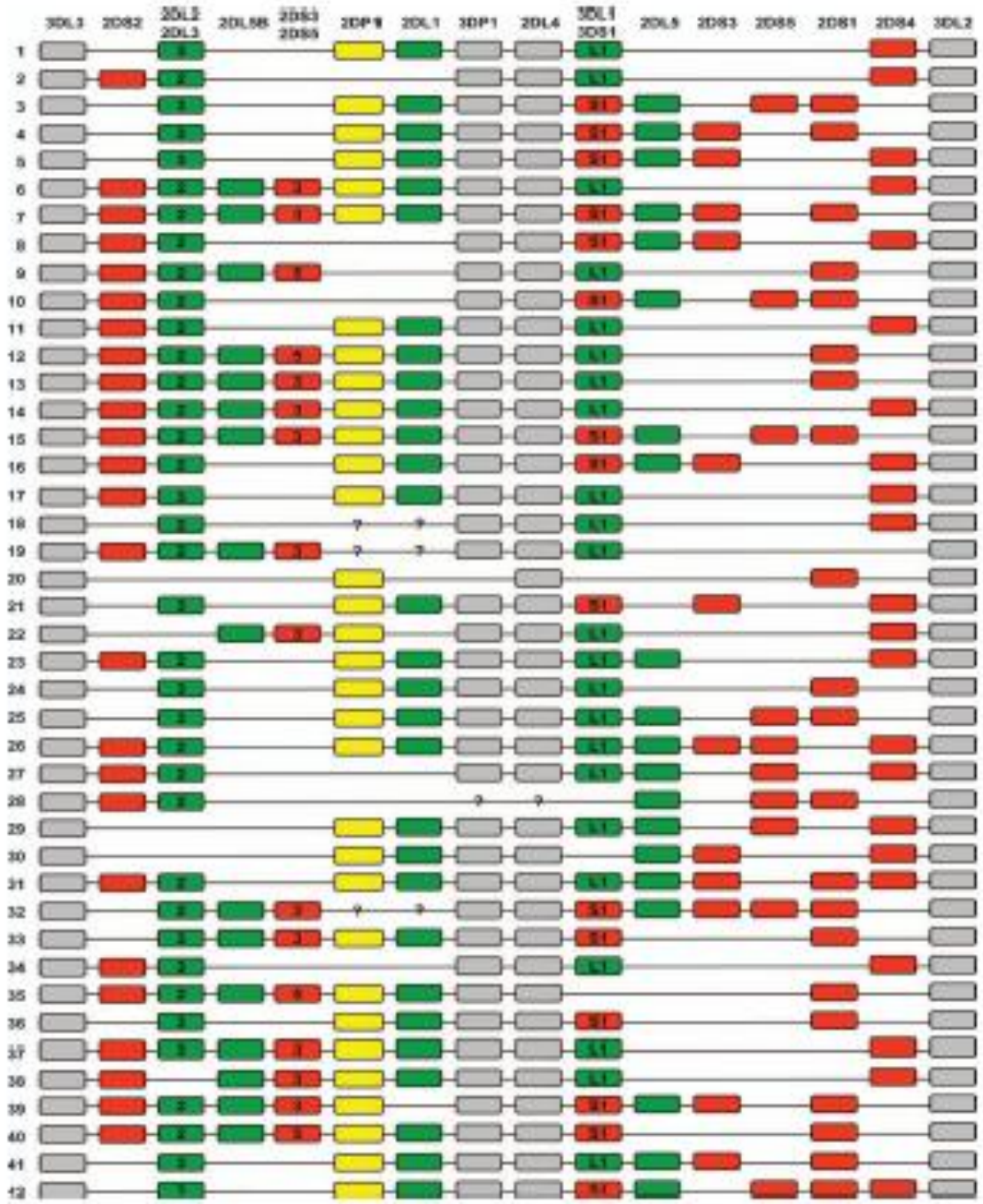
Haplotip A da 7 lokus (2DL1, 2DL3, 2DL4, 2DS4, 3DL1, 3DL2 ve 3DL3) bulunmaktadır. Haplotip A ile B arasındaki en önemli fark içerdikleri stimülatör reseptörlerin sayısıdır. Haplotip A sadece bir stimülatör KIR geni içerirken (2DS4) Haplotip B 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS5, 3DS1 ve 2DS4 ün farklı bileşimlerini içerir. Ayrıca 2DS4 geninin popülasyonun % 84 ünde null alleli bulunmaktadır (allel frekansı olarak % 60)⁽⁶⁰⁾. Bundan dolayı, bazı bireyler stimülatör KIR geni içermeyen A haplotipi için homozigot olabilirler. Her iki haplotip grubu KIR2DL ailesinin

karakteristik elemanlarını içermektedir ⁽⁶¹⁾. A haplotipi KIR3DL3, -2DL3, -2DL1, -DL4, -3DL1, -2DS4 ve -3DL2'yi içerir. A grubu haplotipi hem KIR2DL1 hem de KIR2DL3'ün varlığı ve aynı anda KIR2DL2'nin yokluğu ile karakterizedir ⁽⁶²⁾. B grubu haplotipleri için bunun tam tersi geçerlidir. Yani KIR2DL2'nin varlığı ve aynı zamanda KIR2DL1 ve KIR2DL3'ün olmaması ile belirlenen haplotip grubu B olarak isimlendirilir⁽⁶³⁾. (Şekil 15, Şekil 16) ⁽⁶⁴⁾



Şekil 15. KIR Haplotiplerinin gen dizisi ⁽⁶⁴⁾.

Çerçeve genlerinin bulunmasına rağmen ortaya çıkan bu değişken poligeni HLA-DR'de görülen poligeni ile analogtur. HLA DR lokusunda DRA genleri her zaman bulunmakla birlikte DRB genlerinin sayısı değişkendir. Beyaz ırkta haplotip A ve B frekansları yaklaşık olarak birbirine eşittir. Gen içeriğine bakıldığında ise haplotip B subtipleri açısından daha büyük bir varyasyon göstermektedir ⁽⁶⁴⁾.



Şekil 16. Populasyonlarda bulunan farklı KIR haplotiplerinin şematik görünümü ⁽⁶⁴⁾.

1. haplotip, grup A haplotipini gösterirken, diğerleri B haplotip grubundandır. Tüm haplotiplerde bulunan, çerçeve genleri gri renk ile aktivatör reseptörlerin kodlandığı genler kırmızı, inhibitör reseptörlerin kodlandığı genler ise yeşil ile gösterilmiştir. KIR2DP1 psödogendir ve sarı ile gösterilmiştir. Framework genlerden

KIR2DL4 hem aktive hem inhibe edici, KIR3DL2 inhibe edici reseptörlerdendir, KIR3DL3'ün fonksiyonu bilinmemektedir, KIR3DP1 ise psödogendir ⁽³⁾.

Yapılan çalışmalarda akraba olmayan bireylerde 250'nin üzerinde farklı KIR profili tanımlanmıştır. Bazı farklı gen içeren haplotipler ise segregasyon analizi ile gösterilmiştir. Daha fazla sayıda birey ve aile taranarak bu sayının artacağı tahmin edilmektedir.

KIR bölgesinin eşit olmayan kromozomal parça değişimi (crossing over) sonucunda bu bölgenin genişlemesi ve kontraksiyonu gerçekleşebilir. Bu olay sonucunda iki veya daha çok gen kopyası içeren KIR haplotipleri tek haplotip üzerinde bulunabilir ve gen dizisinin rearanjmanını sağlayabilir. En son bulunan KIR geni 2DL5'tir ⁽⁶⁵⁾. Segregasyon analizleri tek 2DL5 lokusundaki allellerin aslında tek bir haplotipte bulunan iki farklı lokustan oluştuğunu göstermektedir ^(66,67). İlginç bir şekilde, 2DL5A ve 2DL5B olarak adlandırılan bu genler, haplotipler üzerinde her iki geni de içeren, ardışık şekilde değil de nonresiprokal parça değişimi gerektiren bir mekanizma ile lokalize olmaktadır. Her iki genin ekzonlarında ve intronlarında % 99'un üzerinde dizi benzerli bulunmaktadır ^(66,67). 2DL4 ve 3DL1'de olmak üzere bazı KIR'ların silinmiş olduğu en az bir haplotip bulunmaktadır ⁽⁶⁸⁾.

2.2.7.1. Bağlantı Dengesizliği

Aynı kromozom veya haplotipde bazı allellerin birbirleri ile birlikte görülme sıklıkları beklenenden daha yüksek saptanmıştır. Bu durum bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium) olarak ifade edilir. Farklı toplumlarda bu beraberlikler değişiklikler gösterir. KIR lokusundaki polimorfik gen çiftlerinin arasındaki bağlantı dengesizliğine yönelik çalışmalar, 2DL4'ün telomerik ve sentromerik bölgelerine yerleşen baz çiftleri arasında güçlü allelik dengesizliğin ortaya konmasıyla birlikte önem kazanmıştır ⁽⁶⁴⁾. Yapılan diğer çalışmalarda, her ne kadar zayıf olsa da lokusun karşılıklı bölgelerindeki gen çiftleri arasında anlamlı dengesizlik paternleri gözlenmiştir. Genel olarak bugüne kadar gözlenebilmiş bağlantı dengesizlikleri genler arasındaki fiziksel uzaklıklarla uyumlu olarak ortaya çıkmıştır.

2.2.8. KIR Gen Dizileri

EMBL ve Nükleotid Dizi Veritabanında (EMBL Nucleotide Sequence Database; EMBL-Bank) 100'ün üzerinde KIR dizisi bulunmaktadır. Bunların bir kısmı parsiyel cDNA veya genomik dizilere sahip olmakla birlikte, bir kısmı ise tam uzunluğa sahiptir. Gen bankasında tanımlanmış fakat yeri belirlenmemiş her KIR dizisi bilinen diziden % 2'den az farklılık gösteriyorsa özgül bir KIR geninin alleli olarak tanımlanır ⁽⁶⁴⁾.

2.2.9. KIR Genlerinin Ekzon ve İntron Yapıları

Farklı KIR genlerinin ekzon ve intron yapılarının dizilimi temel düzenleme ile son derece uyumludur: sinyal dizisi ilk iki ekzon tarafından, her Ig bölgesi (N terminal uçtan başlayarak D0, D1 ve D2) uygun olan tek bir ekzon tarafından (sırasıyla ekzon 3-5), bağlantı ve transmembran bölgelerinin her biri ise tek bir ekzon tarafından (ekzon 6 ve 7) ve sitoplazmik bölge ise son iki ekzon tarafından kodlanmaktadır ⁽⁶⁴⁾. KIR2DL1, 2DL2, 2DL3 ve tüm 2DS genleri (tip 1, iki- domainli KIR genleri) KIR moleküllerini üç Ig bölgesi ile kodlayan identik bir genomik dizilime sahiptirler. Bununla birlikte bu iki-domainli KIR genlerinde bulunan ekzon 3, üç baz çiftinin delesyonundan dolayı sıklıkla çerçevede kalsa bile, sonuç olarak kesilen bir psödo ekzondur. Tüm NK hücreleri en az bir tip 1 iki-domainli KIR eksprese etmektedir. 2DL4, 2DL5A ve 2DL5B yi içeren tip 2, iki-domainli KIR'lar ise ekzon 4 ün olmaması ile karakterizedir ve bunların protein ürünlerinde D1 domaini bulunmamaktadır. 3DL3 geni, ekzon 6'nın olmaması dışında, diğer 3 domainli genler ile benzerlik göstermektedir. İki KIR psödogeni tanımlanmış ve adlandırılmıştır. Bu psödogenlerden KIR2DP1 (KIRZ), KIR 2DL2 ve 2DL1 genleri ile yakın ilişkilidir (nükleotid düzeyinde % 97'nin üzerinde homoloji göstermektedir) ve iki psödoekzon (3. ve 4. psödoekzon) içermektedir. 2DP1'in psödoekzon 3'ü tip 1 iki-domainli KIR genleri ile aynı sapmayı göstermektedir. 2DP1'in psödoekzon 4'ü ise çerçeve kayması sonucu stop kodonunun ortaya çıkmasına yol açan tek baz çifti delesyonuna sahiptir ⁽⁶⁴⁾. İkinci KIR psödogeni, 3DP1 (KIRX) in ise ucu kesilmiş olup, genin değişik formları ekzon 2'nin ortadan kalkmasına yol açan 1,5 kb'lık delesyon ile birbirlerinden farklılık göstermektedirler ⁽⁵⁵⁾.

2.2.10. KIR Ekspresyonu ve KIR Repertuarının Devamlılığı

NK hücrelerinin klonal olarak dağılmış KIR repertuarı ürettiği ve bunu değişik NK hücreleri üzerindeki yeniden düzenlenmesi olmayan değişik KIR gen grupları oluşturarak yaptığı gösterilmiştir. Genel olarak bireyin sahip olduğu tüm KIR genleri rastgele oluşmaktadır ⁽⁵³⁾. İki ya da daha fazla KIR geninin olası tüm kombinasyonları farklı NK hücrelerinde eksprese edilebilir. KIR kombinasyonlarındaki farklılık 2 faktörle sınırlanabilmektedir ⁽⁵⁹⁾. Bunlardan birincisi bütün NK hücrelerinde KIR2DL4'ün ekspresyonudur, diğeri de bütün NK hücrelerinde (self) HLA Sınıf I antijenine özgül en az bir adet inhibitör NK hücre reseptörü olmasıdır. Self HLA Sınıf I ligandlarıyla NK hücrelerinin inhibisyonu uygun inhibitör KIR eksprese edilmediğinde lektin benzeri inhibitör reseptör olan CD94: NKG2A ile gerçekleştirebilir ⁽⁶⁴⁾.

Farklı KIR ekspresyon paternlerinin oluşmasında KIR genlerinin promotor bölgesinde genetik olarak kodlanmış düzenleyici mekanizmaların yanı sıra epigenetik mekanizmaların da rol oynadığı düşünülmektedir. Örneğin DNA metilasyonu bireysel hücrelerde farklı gen ekspresyonu için gereklidir. Yapılan çalışmalarda KIR genlerinde sitozin guanin dinukleotidlerin kümeleşme yaptığı bölgeler (CpG adaları) tanımlanmıştır. Bu CpG adaları 2DL4 dışında eksprese olan tüm KIR genlerinde ortak yapıya sahiptir. KIR genlerinin metilasyon durumu transkripsiyonel aktiviteleri ile korelasyon göstermektedir. Yüksek metilasyon gösteren CpG adaları eksprese olmayan KIR'larda bulunmakla birlikte, eksprese olan KIR'ların metilasyona uğramadığı gözlenmiştir. Bu korelasyon hem NK hücre serilerinde hem de taze elde edilmiş NK hücrelerinde gözlenmiştir. De novo KIR ekspresyonu NK hücrelerinde ve T hücre alt gruplarında uyarılabilmektedirken diğer hücre tiplerinde bu olay gerçekleştirilememektedir. Bu da bize NK ve T hücrelerinde diğer hücrelerde bulunmayan KIR'a özgü transkripsiyon faktörleri olduğunu düşündürmektedir ⁽⁶⁹⁾. KIR moleküllerinin yüzey ekspresyonu genetik olarak ta kontrol edilmektedir. Örneğin inhibitör reseptör olan 3DL1'in, 3DL1*004 allelik formunun D0'daki 86. ve D1'deki 182. pozisyonlardaki kritik bölgelerdeki değişimlerden dolayı molekülün hücre yüzeyinde ekspresyonu gerçekleşmemektedir ⁽⁷⁰⁾. Bu allelik formda 3DL1 molekülleri intrasellüler olarak bulunmaktadır.

2.2.11. KIR'ların Transplantasyondaki Önemi

2.2.11.1. KIR ve Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu

KIR-MHC uyumsuzluğu NK hücre aktivasyonuna yol açar ve MHC uyumsuz olan hücre yok edilir. HLA tam uyumlu olmayan transplantasyonda çok sayıda alloreaktif NK hücresi oluşumu akut GvHH gelişiminde etkilidir. NK hücrelerinde bulunan KIR reseptörlerinin diğer hücrelerle tam uyumlu MHC tip I molekülü yoluyla etkileşmesi ise NK hücre üzerine inhibitör etki göstermektedir. NK hücreleri alıcı immün sistemi hedefleyerek rejeksiyonu önlemede de etkili olurlar ⁽⁷¹⁾.

NK hücreleri kendine toleranslı olmakla beraber, HLA ekspresyonunun düzenlenmesinin bozulmasına yol açan malign hücreler ve viral olarak enfekte hücrelerin tanınmasında allogenik hücrelerin HLA ligand yokluğunu saptayabilir. NK hücrelerinin doğuştan bir alloreaktif repertuarının varlığının hematopoietik kök hücre naklinde (HKHN) bu hücre tipi için önemli işlevler gördüğü ileri sürülmüştür ⁽⁷²⁾. Murin türü LRC KIR genlerine sahip olmamasına rağmen işlevsel anlamda eşit görünen Ly49 reseptörleri bu alloreaktif yanıtta sorumludur. Polimorfik insan NK reseptörlerinin tanımıyla birlikte insan popülasyonundaki benzer etkilerin olabileceği düşünülmüştür ⁽⁷³⁾. Hematopoietik kök hücre nakli, miyeloplastik sendromlar ve hematolojik tümörlerin bazı tipleri için tedavi edici bir terapidir. Ayrıca otoimmün hastalıklar ve bazı solid tümörler için bir tedavi olarak kabul görmüştür. İnsanda MHC polimorfizmin yüksek düzeyde olmasından dolayı bir hematopoetik kök hücre transplantasyonunda donör için en iyi aday HLA-uyumlu-kardeştir. Bu durum hastaların yaklaşık % 25'inde mümkün olabilmektedir ⁽⁷⁴⁾. Hasta ve donörün HLA C uyumsuzluğu graft rejeksiyonu ve akut GvHH sıklığında artış ile karakterizedir ki bu NK hücrelerince yönetilen allo-tanıma işaret eder. İlgili HLA ligandlarında hasta KIR genotipine göre uyumsuzluk nakil sonuçları üzerine bazı etkiler yapmıştır ⁽⁷⁵⁾. Bu etkileri sıralayacak olursak birincisi alloreaktif donor NK hücrelerinin GvHH'yi hasta dendritik hücrelerinin selektif olarak öldürülmesi ile azaltması, ikincisi hasta T hücrelerinin öldürülmesi ile graft rejeksiyonunun önlenmesi ve üçüncüsü ise rezidüel alıcı tümör hücrelerinin tahrip edilmesi ile Graft versus Lösemi olarak özetlenebilir ⁽⁷⁶⁾. Yapılan araştırmalarda akut miyeloid lösemide hastalıksız sağkalımda da yararlı NK hücre etkileri görülmüş ama akut lenfoid lösemi hastaları için bu mümkün olmamıştır ⁽⁷⁷⁾. Küçük bir grup hasta

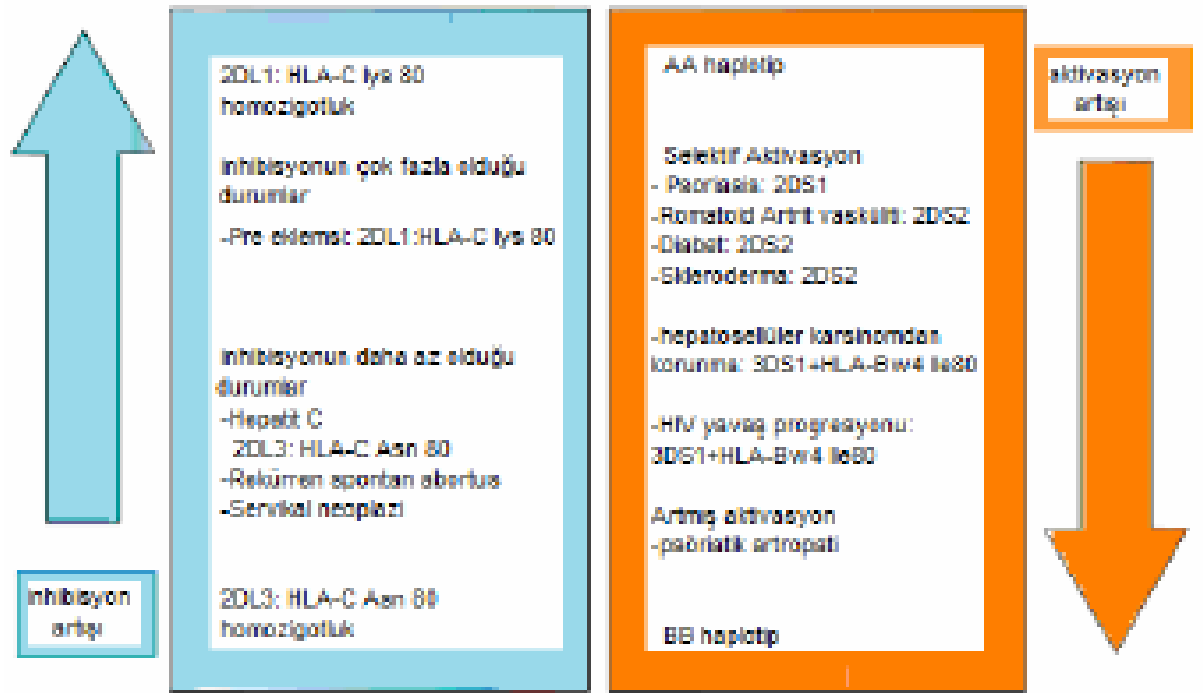
üzerindeki genetik çalışma GvHH'in gelişimi ile KIR2DS aktivatör reseptör varlığı arasındaki ters ilişkiyi ortaya koymuştur.

2.2.11.2. KIR ve Solid Organ Transplantasyonu

Böbrek transplantasyonu da dahil olmak üzere tüm solid organ transplantasyonları için hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalarla NK hücrelerinin rolü ortaya konmaya çalışılmaktadır ⁽⁵⁴⁾. Akut redde NK hücrelerinin sayısının arttığı gösterilmiştir. Değişik lökosit belirteçleri kullanılarak NK hücrelerinin erken dönem redde renal grefti infiltre ettiği, bu dönemi takiben T hücre ve makrofajların akınının izlediği bildirilmiştir⁽⁶²⁾. Deney hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda kronik vasküler red ile organların reddinde NK hücrelerinin önemli bir rolü olduğu ileri sürülmüştür. KIR2DS2 ve onun HLA-C ligandları vasküler sorunların gelişimi için bir risk faktörüdür ve NK hücreleri doğrudan aktif olan vasküler endotel hücrelerince tanınmaktadır ⁽⁷⁸⁾. KIR moleküllerinin NK hücreleri dışında T hücre alt grupları üzerinde de eksprese olmaları nedeniyle kronik redde de etkili oldukları düşünülebilir. KIR'lar vaskülerize organ greftleri derinliğine çalışılmamıştır. Deneysel hayvan modellerinde NK hücrelerinin KIR'lar aracılığı ile redde rol oynadığı ileri sürülmüştür. Benzeri rolün kronik vasküler redde de olabileceği rapor edilmiştir ^(46,71).

2.2.11.3. KIR'ların Hastalıklardaki Roller

KIR genlerinin niteliklerinin belirlenmesi ve haplotiplerinin tanımlanması çok yeni olduğu için bu genlerin özgül hastalıklarla ilişkisini gösteren kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. NK hücrelerinin KIR reseptörlerini kodlayan genlerinde ortaya çıkan bazı farklılıkların çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır. KIR reseptörlerinin hastalıkla bağlantısıyla ilgili genetik çalışmalarda viral enfeksiyonlar ve otoimmün hastalıklar bası çekmektedir ⁽⁷¹⁾. MHC ile otoimmün hastalık bağlantısı özgül KIR'ların bu hastalık gruplarıyla da ilişkide olabileceğini düşündürmektedir. KIR'ların ayrıca gebelik ve hematolojik hastalıklarda da önemli rol oynayabileceğini gösteren bulgular vardır (Şekil 17). KIR reseptörlerindeki farklılıklar ve bu genlerin işlevleriyle ilgili ipuçları genelde fare Ly49 geninde yapılan çalışmalarla ortaya çıkmaktadır.



Şekil 17. KIR genlerinin farklı hastalıklarla ilişkisini gösteren sematik resim ⁽⁷¹⁾.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu araştırma; Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulunun onayı alındıktan sonra Ekim 2013- Ocak 2014 tarihleri arasında Nöroşirürji Anabilim dalına başvuran 18 yaş üzeri 81 hasta üzerinde yapıldı. Çalışmaya alınan tüm bireyler veya yakınları araştırma hakkında bilgilendirildi. Bu amaçla hazırlanan Aydınlatılmış Onam Formu okutularak, şuuru açık olan hastaların kendisinden, şuuru bozuk olanların ise ailesinden çalışmaya katılım ile ilgili onay alındı. Yaş, cinsiyet, doğum yeri, kronik viral hastalıklar, otoimmün hastalıklar (FMF, romatoid artrit, ankilozan spondilit, SLE), kanser öyküsü ve diğer hastalıklar, ailede hastalık öyküsü, kadınlar için gebelik ve düşük hikayesi gibi bilgileri içeren bir veri toplama formu düzenlenerek, bu form çalışmaya alınan tüm bireyler için dolduruldu. Veri toplama formunda hastaların ayrıca patoloji sonucu da kayıt altına alındı. Deney grupları, GBM tanılı 31 hastadan oluşan grup ile sağlıklı 50 kişiden oluşan iki grup şeklinde planlandı. Hastalardan onam formu alınması sonrası alınan tam kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı. KIR tiplendirilmesi SSOP (sequence spesifik oligonucleotid probes) prensibine dayanılarak çalışıldı.

SSOP yöntemi: Bir KIR lokusunun PCR ile çoğaltılmasını takiben allellere özgün olan oligonukleotidler kullanılarak bu çoğalmış DNA segmenti ile özgün oligonukleotidlerin katı bir ortam üzerinde bağlanması (hibridleşmesi) sağlanır. Kullanılan oligonukleotidler işaretli olup; ortama eklenen reaktifler ile renkli bir ürün oluşması sağlanır. Bu işlemde DNA'nın çoğaltılması sırasında işaretlenmiş primerler kullanıldığından çoğalmış olan DNA da işaretlenmiş olur. Oligonukletid problar DNA'daki allele özgü ise membran üzerinde bu problar ve çoğalmış DNA arasında hibridleşme olur. Hangi oligonukleotid prob ile bağlanma olduğu, bireyin hangi KIR allelini taşıdığı, çeşitli reaktifler aracılığı ile görünür hale getirilebilir. Reaksiyon tüpünde bulunan 100 farklı renkte floresan veren boncuğun her birine farklı problar bağlanarak, bu floresanın ölçümüyle değerlendirme yapılmaktadır.

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 18.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum) olarak özetlendi. Sürekli ölçümler

arasındaki korelasyon Sperman Korelasyon katsayısı ile incelendi. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmamız beyin cerrahi servis ve polikliniğine başvuran 31 GBM tanılı hasta ve 50 kişilik kontrol grubu olmak üzere toplam 81 kişi üzerinde yapılmıştır.

GBM tanısı olan hastaların 20'si erkek (% 64,5), 11'i kadındı (% 35,5).

Tablo 7. GBM Tanılı Hastalarda Cinsiyete Göre Sayısal Değerler

	Kadın	Erkek	Toplam
Sayı	11	20	31
Yüzde (%)	% 35,5	% 64,5	100

Kontrol grubunun 32'si erkek (% 64), 18' i kadındı (% 36).

Tablo 8. Kontrol Grubunda Cinsiyete Göre Sayısal Değerler

	Kadın	Erkek	Toplam
Sayı	18	32	50
Yüzde (%)	% 36	% 64	100

GBM tanılı hastalarda yaş ortalaması 53,5 yıl olarak hesaplandı. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise 53,98 idi.

Tüm çalışma grubumuzda yaş ortalaması 53,8 idi.

Tablo 9. Çalışma Gruplarının Yaş Ortalaması

Tüm çalışma grubumuzda yaş ortalaması	GBM tanılı hastaların yaş ortalaması	Kontrol grubunun yaş ortalaması
53,8	53,5	53,98

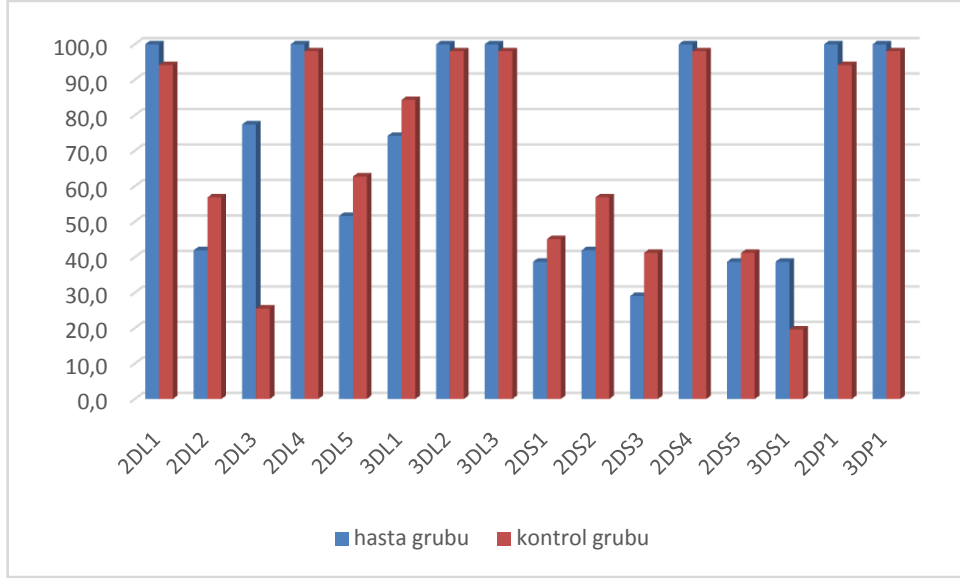
3DL1	2DL1	2DL3	2DS4	2DL2	2DL5	3DS1	2DS1	2DS2	2DS3	2DS5	2DL4	3DL2	3DL3	2DP1	3DP1	Toplam hasta	Genotip no
																6	AA1
																4	AA156
																4	Bx2
																4	Bx6
																3	Bx71
																3	Bx154
																2	Bx4
																1	AA180
																1	Bx317
																1	Bx5
																1	Bx73
																1	Bx187

Şekil 18. Hastaların genotip dağılımları

Çalışmamızda incelediğimiz toplam 31 hastanın genotip dağılımı yukarıdaki gibidir.

Tablo 10. İnhibitör ve Aktivatör Genlerin Frekansları: 2DL3 Geninin Hastalığa Yatkınlıkla İlişkisi İstatistiksel Olarak Anlamlı. P<0,05.

	Gen	Hasta Grubu Sayı	%	Kontrol Grubu Sayı	%	p Değeri
İnhibitör KIR	2DL1	31	100,0	48	94,1	0,522
	2DL2	13	41,9	29	56,9	0,177
	2DL3	24	77,4	13	25,5	0,0
	2DL4	31	100,0	50	98,0	1,0
	2DL5	16	51,6	32	62,7	0,353
Aktivatör KIR	3DL1	23	74,2	43	84,3	0,242
	3DL2	31	100,0	50	98,0	1,0
	3DL3	31	100,0	50	98,0	1,0
	2DS1	12	38,7	23	45,1	0,645
	2DS2	13	41,9	29	56,9	0,177
Psödogen	2DS3	9	29,0	21	41,2	0,344
	2DS4	31	100,0	50	98,0	1,0
	2DS5	12	38,7	21	41,2	0,819
	3DS1	12	38,7	10	19,6	0,077
	2DP1	31	100,0	48	94,1	0,522
	3DP1	31	100,0	50	98,0	1,0



Şekil 19. Hasta ve kontrol grubunda inhibitör ve aktivator genlerin frekansları

Yukarıdaki tablolar incelendiğinde toplam 31 GBM tanılı hasta, 50 kontrol grubu olmak üzere toplam 81 kişide çalışmamız yapılmıştır.

Çalışmamızda inhibitor, aktivator ve psödogen olmak üzere toplam 16 farklı KIR geni çalışılmıştır. İnhibitör genlerden 2DL3 geninin hastalığa yakınlıkla ilişkili istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($P<0,05$).

5. TARTIŞMA

KIR'lar (killer cell immunglobulin like receptör), NK hücreleri tarafından üretilen ve NK hücrelerinin aktivasyonunu düzenleyen inhibitör ve aktivatör reseptörlerden oluşan bir ailedir. KIR genleri geniş bir çeşitlilikle karakterize oldukça polimorfik işaretleyicilerdir. Bundan dolayı popülasyonlarda iyi bir genetik işaretleyici olarak değerlendirilebilir.

İnsan immun sistemindeki immunglobulinleri, HLA moleküllerini ve KIR genlerini kodlayan genler çok yüksek bir polimorfizm sergilerler, bu da popülasyonlar arasında önemli ölçüde çeşitlilik olduğunu gösterir. Bugün artık KIR genlerinin HLA ligandları ile birlikte geliştiği geniş ölçüde kabul görmektedir ⁽⁷⁹⁾. Ayrıca genotipik kır çeşitliliği allelik ve haplotipik çeşitliliğin bir sonucudur. Bu da şu gerçek ile neticelenmektedir ki; akraba olmayan iki farklı kişide aynı KIR genotipini bulmak çok zordur ⁽⁸⁰⁾. Bu karakteristik özelliklerden dolayı KIR genleri iyi bir popülasyon genetik belirleyicisi olarak değerlendirilebilir ^(81,82).

Günümüzde KIR genlerinin transplantasyon reddi ve kanser hastalıklarıyla ilişkisini gösteren çalışmaların artmasıyla birlikte tüm toplumlarda bu konuyla ilgili popülasyon taramaları yapılmaya başlanmıştır. KIR genleriyle ilgili birbirinden bağımsız olarak yapılan bu çalışmalar 2003 yılında HLA için hazırlanmış olan bilgi bankasına eklenerek bir araya getirilmiştir.

Tümör hücrelerinin bir kaçış mekanizması olarak kullandığı T hücrelerinin aracılık ettiği sınıf I HLA yüzey moleküllerinin baskılanması natural killer hücre aracılığı için daha duyarlı hale getirilir. Bu durumda NK hücrelerinin KIR genlerindeki bireysel değişiklikler sadece bazı NK hücrelerin tümör parçalama yeteneğine sahip olduğunu açıklamaktadır.

Doğal Öldürücü Hücreler, KIR (killer cell immunoglobulin-like receptors) aracılığıyla viral enfekte olmuş ya da malign transformasyona uğramış hücreleri, hücre aracılığı sitotoksiste ve antikör aracılığı hücre sitotoksiste ile lizise uğratabilirler. Yapılan çalışmalar farklı KIR genleri ve KIR ligandlarının lösemilere ve solid tümörlere karşı koruyuculukla veya yatkınlıkla ilişkili olabileceğini göstermiştir. Bizim çalışmamızın amacı GBM (Glioblastoma Multiforme)'li olgularda KIR gen polimorfizmlerinin olası rollerinin ortaya konmasıdır.

KIR genleri birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. Önceki çalışmalar kır genleri ve ligandlarının lösemi ve virüs ilişkili solid tümörlerde koruyucu veya şüpheli olarak ilişkilendirildiğini göstermiştir. Bununla beraber KIR gen polimorfizminin GBM gelişimindeki rolü bilinmemektedir. Bu çalışmamızda kır geni polimorfizmi ile GBM arasındaki ilişkiyi araştırmak için 31 GBM tanılı hasta ve 50 kişilik kontrol grubundan oluşan toplam 81 kişiyi inceledik. Sonuçlarımız göstermiştir ki: çerçeve genler KIR 2DL4, 3DL2, 3DL3 ve 3DP1 tüm hasta ve kontrol grubunda mevcut idi. İnhibitor KIR genlerinden 2DL3 geni hasta grupta daha fazla idi ($P=0,0$). Bu sonuçlara göre, 2DL3 geni ile GBM gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.

Görüröglü ve arkadaşları 2012 yılında meme kanserli olgularda yaptıkları araştırmada; çerçeve genler KIR2DL4, 3DL2, 3DL3 ve 3DP1 tüm hasta ve kontrol grubunda mevcut olduğunu. KIR2DS1 aktivasyon oranı hasta grupta daha fazla olduğunu ($P=0,032$), 2DS4(2DS4*003/4/6/7)'ün alellik aktive tipi ise meme kanserli hastalarda daha az olduğunu ($P=0,028$) tespit etti. Ayrıca meme kanseri gelişimi ve 2DL1 geni arasında istatistiksel olarak anlamlı bir negatif ilişki varlığını ($P=0,025$) buldu. Sonuç olarak, bu çalışma göstermektedir ki KIR2DS1 aktivasyonu meme kanseri gelişimini tetikleyebilmektedir, 2DL1 geni ve 2DS4*003/4/6/7 allelleri ise meme kanseri için muhtemel koruyucu genlerdir ⁽⁸³⁾.

Middleton ve arkadaşları tarafından Türk lösemi hastalarında kır genlerinin ve ligandlarının dağılımını gösteren bir vaka kontrol çalışması yapılmıştır. Çalışmacılar kronik myeloid lösemi de bir korunma modeli önermişlerdir. Bu model KIR2DL2 ve/veya KIR2DS2 genlerinin ligand HLA-C1 grup varlığında olması yolu ile ve HLA-Bw4 homozigotlarının varlığı ile olmaktadır ⁽⁸⁴⁾.

Ek olarak Besson ve arkadaşları çalışmada KIR3DS1 VE KIR2DS1 aktive genlerinin hodgkin lenfomaya karşı koruyuculuk ile ilişkili olduğunu göstermiştir ⁽⁸⁵⁾.

Başka bir çalışmada Lopez –Vazquez ve arkadaşları HLA ve KIR genotipleri incelemiş ve KIR3DS1 ve HLA-Bw4 allotipleri arasında hepatocellüler kanser gelişimine karşı koruyucu olduğunu buldular ⁽⁸⁶⁾. Ayrıca KIR'ların aktivasyonundaki artış nasofaringeal karsinoma ile de ilişkili bulunmuştur ⁽⁸⁷⁾.

KIR'ların anormal sentezlenmesi birçok malign durum ile ilişkilendirilmiştir. Sezary sendromlu hastalarda fenotipik olarak anormal T hücrelerinde KIR3DL2'nin

sentezlendiği gösterilmiştir ⁽⁸⁸⁾. T hücreli geniş granüler lenfositik lösemisinin alt tiplerinde inhibitör KIR lar sentezlenmektedir⁽⁸⁹⁾ ve hastalığın şiddeti sentezlenen KIR'lar için HLA ligandlarının olmamasıyla artmaktadır ⁽⁹⁰⁾.

Öte yandan Omer ve arkadaşları KIR genleri açısından solid tümörlü hastalarla (küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, kolon kanseri, böbrek kanseri) sağlıklı kişileri karşılaştırmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamıştır ⁽⁹¹⁾. KIR genlerinin tümör gelişimindeki rolü hakkında bu kadar karmaşık bilgilerin olması değişik kökenli kanserlerde birçok değişik potansiyel patolojik mekanizmanın, immun cevapların ve immun kaçış mekanizmalarının var olmasından kaynaklanmaktadır.

Zhang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada aktivatör KIR2DS4 geninin kronik myeloid lösemi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir aynı zamanda diğer bir aktivatör kır geni olan 2DS3 ün akut lenfoblastik lösemi ile düşük etki gösterdiğini bulmuşlardır ⁽⁹²⁾.

S. Kulkarni ve arkadaşları yaptıkları çalışmada KIR 2DL2/2DL3,HLA-C1 in malign melanom gelişiminde duyarlılığı artırdığını, KIR3DS1 varlığı, HLA-C2 ve /veya HLA-BW4 yokluğunun servikal kanser gelişiminde duyarlılığı artırdığını bulmuşlardır ⁽⁹³⁾.

Bütün bu veriler aktive KIR genotiplerinin değişik kanser tiplerine karşı koruyucu etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

Elde edilen sonuçlara göre, NK hücrelerin inhibitör reseptörlerinden KIR 2DL3'ün hasta popülasyonunda yüksek olması, bu hastalarda NK hücrelerinin immün sistemdeki koruyucu rollerini etkilediğini ve gerekli immun cevabın sağlanamadığını düşündürmüştür. Bu veriler immün sistemin GBM hücrelerini tanıma ve yok etme yeteneğine sahip olduğu hakkında daha güçlü kanıtlar sunmaktadır. Aynı zamanda GBM hücrelerinin immün sistemden kaçabilme yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. GBM hücrelerinin immün sistem genetiği ile ilişkisinin anlaşılması ailevi yatkınlıkların önceden tahmini ve erken teşhis açısından önem taşımaktadır. Bundan da öte bu bilgi hastalara cerrahi sonrası uygulanabilecek bireysel immunoterapötik tedavi modaliteleri geliştirmek için kullanılabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1) Bu çalışmamızda KIR geni polimorfizmi ile GBM arasındaki ilişkiyi araştırmak için 31 GBM tanılı hasta ve 50 kişilik kontrol grubundan oluşan toplam 81 kişiyi inceledik.

2) Deneklerin sekans spesifik oligonükleotid prob analizlerini yaptık ve tüm veriyi fisher exact testini kullanarak istatistiksel olarak analiz ettik.

3) Sonuçlarımız göstermiştir ki: çerçeve genler KIR 2DL4, 3DL2, 3DL3 ve 3DP1 tüm hasta ve kontrol grubunda mevcut idi. İnhibitor KIR genlerinden 2DL3 geni hasta grupta daha yüksek olarak bulunmuştur ($P=0,0$).

4) GBM hücrelerinin immun sistem genetiği ile ilişkisinin anlaşılması ailevi yatkınlıkların önceden tahmini ve erken teşhis açısından önem taşımaktadır. Bundan da öte bu bilgi hastalara cerrahi sonrası uygulanabilecek bireysel immunoterapötik tedavi modaliteleri geliştirmek için kullanılabilir.

5) Çalışmanın geliştirilmesi için biopsi örneklerinde NK hücre infiltrasyonu ve KIR reseptörlerinin gösterilmesi, daha büyük hasta populasyonlarında çalışılması, yine KIR'lar ile birlikte ligandları olan HLA molekülleri ile de çalışılması değerli olacaktır.

6) Birey sayısının az olmasından dolayı bu çalışma literatürde bulunan çalışmaları destekler nitelikte olmasına karşın yeterli değildir.

7) Çalışmamızın GBM (Glioblastoma Multiforme) patogenezinin araştırılmasına yönelik yapılacak olan daha ileri araştırmalara temel oluşturabilecek nitelikte bir çalışma olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1) **Sahin, F.I., Yilmaz, Z., et. al.** *Clinical findings and HER-2/neu gene amplification status of breast carcinoma patients, pathology oncology research*, **2006**;12, 211-215 p.
- 2) **Durmaz, R., Vural, M.** Primer ve sekonder glioblastoma multiforme genetiği. *Türk Nöroşirurji Dergisi*, **2007**; 17; 80-90.
- 3) **Warren HS, Campbell AJ, Waldron JC, Lanier LL.** Biphasic response of NK cells expressing both activating and inhibitory killer Ig-like receptors. *Int Immunol.* **2001**;13(8):1043-1052.
- 4) **Avcı, Ç. B. Susluer, S.Y., et. al.** Anaplastik Beyin Tümörlerinin Tanı ve Prognozunda Tümör Süpresör Genlerin ve Onkogenlerin Önemi, *Journal of Neurological Sciences (Turkish)*, **2011**;28, 4, 563-580 s.
- 5) **De Angelis, L.M., Loeffler, J.S., Mamelak, A.N.** *Cancer management handbook*, 11th edition 18) Central Brain Tumor Registry of the United States (CBTRUS), 2007-2008 primary brain tumors in the united sates statiscal report **2008**
- 6) Sağlık Bakanlığı, *Türkiye Sağlık İstatistikleri 2009*, Kalkan Matbaacılık, Ankara, **2011**;173 s.(1)
- 7) **Mahmood, A., Caccamo, D.V., Tomecek, F.J., Malik, G.M.** Atypical and malignant meningiomas: a clinicopathological review. *Neurosurgery*, **1993**;33, 955-963 p.
- 8) **Sav, A.** Beyin Tümörlerinin Tanı ve Evrelemesinde Genetik Yöntemler, *Genetics in Neuro- Oncology* **2006**
- 9) **Kalkan, R.** Gliblastomalı olgularda mutasyon ve metilasyon paternlerindeki değişikliklerin araştırılması, ESOĞÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, *Doktora Tezi*, **2011**;111 s.
- 10) **Mirimanoff, R.O., Dosoretz, D.E., Linggood, R.M., Ojemann, R.G., Martuza, R.L.** Meningioma analysis or recurrence and progression following neurusurgical resection, *J Neurosurg*, **1985**;62:18-24 p.
- 11) **Schiff, D.** Gliomas arising in organ transplant recipients: an unrecognized complication of transplantation?, *Neurology*, **2001**; 57(8):1486-8p.
- 12) **Blumenthal, DT., Schulman, SF.** Survival outcomes in glioblastoma multiforme, including the impact of adjuvant chemotherapy. *Expert Rev Neurother*, **2005**;5; 683-690.
- 13) **Wernicke, A.G., Dicker, A.P. et. al.** Assessment of epidermal growth factor receptor (EGFR) expression in human meningioma, *Radiation Oncology*, **2010**;5, 46 p.
- 14) **Moore, K. and Kim, Swapan, L.** Glioblastoma Molecular Mechanisms of Pathogenesis and Current Therapeutic Strategies, Springer Science+Business Media, Primary Brain Tumors: Characteristics, *Practical Diagnostic and Treatment Approaches*, **2010**;43 p.
- 15) **Keskiner, F.** İntrakraniyal Yer Kaplayıcı Lezyonların Saptanmasında 0.5 m ve 1m Gadolinyum Şelatlarının İntraindividüel Karşılaştırılması, *Radyolojik Uzmanlık Tezi*, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoloji Kliniği, **2008**;52 s
- 16) **Sathornsumetee, S., Rich, JN.** Designer therapies for glioblastoma multiforme. *Ann.N.Y. Acad. Sci.* **2007**;1142; 108-132.
- 17) **Krakstad, C., Chekenya, M.** Survival signaling and apoptosis resistance in glioblastoma: oppurtunities for targeted therapeutics. *Molecular cancer*, **2010**; 9; 135.

- 18) **Sarkar, C., Jain, A., Suri, V.** Current concepts in the pathology and genetics of gliomas. *Indian Journal of Cancer*, **2009**;46; 108-119.
- 19) **De Angelis, LM.** Brain Tumors. *The New England Journal of Medicine*, **2001**;334; 114-123.
- 20) **Kleihues, P., Louis, DN., Wiestler, OD., Burger, PC., Scheithauer, BW.** WHO Classification of tumors of the central nervous system (4th Ed.). *International Agency for Research on Cancer (IARC)* Lyon, **2007**; p:10-11.
- 21) **Louis, DN., Ohgaki, H., Wiestler, OD., Cavenee, WK., Burger, PC., Jouvett, A., Scheithauer, BW., Kleihues, P.** The 2007 WHO classification of Tumors of the Central Nervous System. *Acta Neuropathologica*, **2007**; 114; 97-109.
- 22) **Rossel, R., De Las Penas, R., Balana, C., Santarpia, M., Salazar, F., De Aguirre, I., Reguart, N., Villa, J., Wei, J., Ramirez, JL., Molina, MA., Ycajal, SR., Jablons, D., Taron, M.** Translational research in glioblastoma multiforme: molecular criteria for patient selection. *Future Oncology* (London, England), **2008**; 4; 219-228.
- 23) **Adamson, C., Kanu, OO., Mehta, AI., Di, C., Lin, N., Mattox, AA., Bigner, DD.** Glioblastoma Multiforme: A review of where we have been and where we are going. *Expert Opinion On Investigational Drugs*, **2009**;18; 1061-1083.
- 24) **Sathornsumetee, S., Rich, JN.** Designer therapies for glioblastoma multiforme. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **2008**; 1142; 108-132.
- 25) **Clarke, JW, Chang, EL.** Optimizing radiotherapy schedules for elderly glioblastoma multiforme patients. *Expert Rev. Anticancer Ther*, **2008**; 8; 733-741.
- 26) **Krex, D., Klink, B., Hartmann, C.** Long-term survival with glioblastoma multiforme. *Brain*, **2007**; 130; 2596-2606.
- 27) **Ohgaki H., Dessen P., Jourde B., Horstmann S., Nishikawa T., Di Patre PL., Burkhard C., Lutoff U., Kleihues P., Yasargil M. G.** Genetic pathways to Glioblastoma: a population based study. *Cancer Res*, **2004**; 64; 6892-6899.
- 28) **Adilay, HU.** Glioblastoma multiforme ve benign meningeom olgularında tümör dokusunda ölçülen çinko, demir ve kadmiyum düzeylerinin karşılaştırılması. *Uzmanlık tezi*, **2006**;10-12.
- 29) **Burger, PC., Vogel, F.** Glioblastoma multiforme and anaplastic astrocytoma: pathologic criteria and prognostic implications. *Cancer*, **1985**;56; 1106-1111.
- 30) **Burger, PC., Green, SB.** Patient age, histologic features and length of survival in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer*, **1987**; 59; 1617-1625.
- 31) **Roitt IM, Delves PJ.** Innate Immunity. In: *Roitt's Essential Immunology*. Blackwell Science. Tenth Edition. UK, **2001**;1-19.
- 32) **Delves PJ, Roitt IM.** The immune system. (Second part). *N Engl J Med*. **2000**; 343:108-117.
- 33) **Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM.** Doğal İmmün Cevap. Roitt's Temel İmmünoloji. Çev. Ed. İlman MN, Yıldız M. Atlas Kitabevi, Ankara, (In: Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. *Roitt's Essential Immunology*, Blackwell Science, 11. Ed, UK) **2008**; bölüm 1, sf: 1-20.
- 34) **Clark R, Kupper T.** Old Meets New: The Interaction Between Innate and Adaptive Immunity. *J Invest Dermatol*. **2005**; 125: 629-637.
- 35) **Bachmann MF, Kopf M.** Balancing protective immunity and immunopathology. *Current Opinion in Immunology*. **2002**; 14:413-419.

- 36) **Medzhitov R, Janeway C.** Innate immunity. *N Engl J Med.* **2000;** 343(5):338-344.
- 37) **Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM.** Antikorlar. Roitt's Temel İmmünoloji. Çev. Ed. İlman MN, Yıldız M. Atlas Kitabevi, Ankara, (In: Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. *Roitt's Essential Immunology*, Blackwell Science, 11. Ed., UK) **2008;** bölüm 3, sf: 37-60.
- 38) **Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA.** The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends in Immunology.* **2001;** 22(11):633-640.
- 39) **Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM.** Antijenler için Membran Reseptörleri. Roitt's Temel İmmünoloji. Çev. Ed. İlman MN, Yıldız M. Atlas Kitabevi, Ankara, (In: Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. *Roitt's Essential Immunology*, Blackwell Science, 11. Ed., UK) **2008;** bölüm 4, sf: 61-85. 97
- 40) **Choo SY.** The HLA system: Genetics, immunology, Clinical testing and Clinical Implications. *Yonsei Med. Journal.* **2007;** 48:11-23.
- 41) **Uçar F, Ovalı E, Deger O, Önder E, Kartı SS.** MHC Gen Kompleksi ve HLA Doku Tipleme Testlerinin Önemi. *İbni Sina Tıp Dergisi.* **2001;**6:117-124.
- 42) **Dalva K.** Her Yerde Karsımda; Nedir Bu HLA Tiplendiri mi? XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu kitapçığı. 42-52.
- 43) **Van Kaer L.** Major histocompatibility complex class I-restricted antigen processing and presentation. *Tissue Antigens.* **2002;** 60(1):1-9.
- 44) **Stephens HA.** MICA and MICB genes: can the enigma of their polymorphism be resolved? *Trends Immunol.* **2001;** 22(7):378-385
- 45) **Hsu KC, Dupont B.** Natural killer cell receptors: regulating innate immune responses to hematologic malignancy. *Semin Hematol.* **2005;** 42(2):91-103.
- 46) **Moretta L, Biassoni R, Bottino C, Cantoni C, Pende D, Mingari MC, Moretta A, Human NK.** Cells and their receptors. *Microbes Infect.* **2002;**4(15):1539-1544
- 47) **Keaney L, Williams F, Meenagh A, Sleator C, Middleton D.** Investigation of killer cell immunoglobulin-like receptor gene diversity III. KIR2DL3. *Tissue Antigens.* **2004;**64(2):188-194.
- 48) **Williams F, Meenagh A, Sleator C, Middleton D.** Investigation of killer cell immunoglobulin like receptor gene diversity: I. KIR2DL4. *Hum Immunol.* **2004;** 65(1):31-38.
- 49) <http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/introduction.html>. Erişim Tarihi: 21.05.2008
- 50) **André P, Biassoni R, Colonna M, et. al.** New nomenclature for MHC receptors. *Nat Immunol.* **2001;** 2(8):661.
- 51) **Middleton D, Williams F, Halfpenny IA.** KIR genes. *Transplant Immunology.* **2005;** 14:135–142.
- 52) <http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/alleles.html>
- 53) **Halfpenny IA, Middleton D, Barnett YA, Williams F.** Investigation of killer cell immunoglobulin-like receptor gene diversity: IV. KIR3DL1/S1. *Hum Immunol.* **2004;** 65(6):602-612.
- 54) **Uhrberg M, Valiante NM, et. al.** Human diversity in killer cell inhibitory receptor genes. *Immunity.* **1997;** 7(6):753-763.

- 55) **Wilson MJ, Torkar M, Haude A, Milne S, Jones T, Sheer D, Beck S, Trowsdale J.** Plasticity in the organization and sequences of human KIR/ILT gene families. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2000**; 97(9):4778-4483.
- 56) **Trowsdale J.** Genetic and functional relationships between MHC and NK receptor genes. *Immunity*. **2001**;15(3):363-374
- 57) **Middleton D, Gonzalez A, Gilmore PM.** Studies on the expression of the deleted KIR2DS4*003 gene product and distribution of KIR2DS4 deleted and nondeleted versions in different populations. *Hum Immunol*. **2007**; 68(2):128-134.
- 58) <http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/stats.html>.
- 59) **Shilling HG, Young N, Guethlein LA, Cheng NW, Gardiner CM, Tyan D, Parham P.** Genetic control of human NK cell repertoire. *J Immunol*. **2002**;169(1):239-247.
- 60) **Maxwell LD, Wallace A, Middleton D, Curran MD.** A common KIR2DS4 deletion variant in the human that predicts a soluble KIR molecule analogous to the KIR1D molecule observed in the rhesus monkey. *Tissue Antigens*. **2002**; 60(3):254-258.
- 61) **Uhrberg M, Parham P, Wernet P.** Definition of gene content for nine common group B haplotypes of the Caucasoid population: KIR haplotypes contain between seven and eleven KIR genes. *Immunogenetics*. **2002**; 54(4):221-229.
- 62) **Bishara A, Brautbar C, Eid A, Sherman L, Safadi R.** Killer inhibitory receptor mismatching and liver transplantation outcome. *Transplant Proc*. **2001**;33(6):2908.
- 63) **Hsu KC, Liu XR, Selvakumar A, Mickelson E, O'Reilly RJ, Dupont B.** Killer Ig-like receptor haplotype analysis by gene content: evidence for genomic diversity with a minimum of six basic framework haplotypes, each with multiple subsets. *J Immunol*. **2002**; 169(9):5118-5129.
- 64) **Carrington M, Norman P.** The KIR Gene Cluster. U.S. Natl. Library Med., *National Center for Biotechnology Information*, Bethesda, MD, **2003**.
- 65) **Vilches C, Rajalingam R, Uhrberg M, Gardiner CM, Young NT, Parham P.** KIR2DL5, a novel killer-cell receptor with a D0-D2 configuration of Ig-like domains. *J Immunol*. **2000**;164(11):5797-5804.
- 66) **Gómez-Lozano N, Gardiner CM, Parham P, Vilches C.** Some human KIR haplotypes contain two KIR2DL5 genes: KIR2DL5A and KIR2DL5B. *Immunogenetics*. **2002**; 54(5):314-319.
- 67) **Vilches C, Gardiner CM, Parham P.** Gene structure and promoter variation of expressed and nonexpressed variants of the KIR2DL5 gene. *J Immunol*. **2000**;165(11):6416-6421.
- 68) **Norman PJ, Carrington CV, et. al.** Natural killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) locus profiles in African and South Asian populations. *Genes Immun*. **2002**;3(2):86-95.
- 69) **Zambello R, Della Chiesa M, et al.** Expression and functional and function of KIR and natural cytotoxicity receptors in NK-type lymphoproliferative diseases of granular lymphocytes (LDGL). *Blood*. **2003**;102:1797-1805.
- 70) **Pando MJ, Gardiner CM, Gleimer M, McQueen KL, Parham P.** The protein made from a common allele of KIR3DL1 (3DL1*004) is poorly expressed at cell surfaces due to substitution at positions 86 in Ig domain 0 and 182 in Ig domain 1. *J Immunol*. **2003**; 171:6640-6649.
- 71) **Williams AP, Bateman AR, Khakoo SI.** Hanging in the balance. KIR and their role in disease. *Mol Interv*. **2005**; 5(4):226-240.

- 72) **Gagne K, Brizard G, Gueglio B, et. al.** Relevance of KIR gene polymorphisms in bone marrow transplantation outcome. *Hum Immunol.* **2002**; 63(4):271-280.
- 73) **Saleh A, Davies GE, et. al.** Identification of probabilistic transcriptional switches in the Ly49 gene cluster: a eukaryotic mechanism for selective gene activation. *Immunity.* **2004**; 21(1):55-66.
- 74) **Petersdorf E, Anasetti C. et. al.** Genomics of unrelated-donor hematopoietic cell transplantation. *Curr Opin Immunol.* **2001**; 13(5):582-589.
- 75) **Davies SM, Ruggeri L. et. al.** Evaluation of KIR ligand incompatibility in mismatched unrelated donor hematopoietic transplants. Killer immunoglobulin-like receptor. *Blood.* **2002**; 100(10):3825-3827
- 76) **Jacobs R, Stoll M, Stratmann G, Leo R, Link H, Schmidt RE.** CD16- CD56+ natural killer cells after bone marrow transplantation. *Blood.* **1992**; 79(12):3239-3244.
- 77) **Ruggeri L, Capanni M. et. al.** Role of natural killer cell alloreactivity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* **1999**; 94(1):333-9.
- 78) **Piccioli D, Sbrana S, Melandri E, Valiante NM.** Contact-dependent stimulation and inhibition of dendritic cells by natural killer cells. *J Exp Med.* **2002**;195(3):335-341.
- 79) **Sanchez-Mazas A, Fernandez-Vin˜a M. et. al.** Immunogenetics as a tool in anthropological studies. *Immunology* **2011**;133:143–164
- 80) **Pavlova Y, Kolesar L, Striz I, Jabor A, Slavcev A.** Distribution of KIR genes in the Czech population. *Int J Immunogenet* **2008**;35:57–61
- 81) **Denis L, Sivula J, Gourraud PA. et. al.** Genetic diversity of KIR natural killer cell markers in populations from France, Guadeloupe, Finland, Senegal and Re0 union. *Tissue Antigens* **2005**;66:267–276
- 82) **Niokou D, Spyropoulou-VlachouM, Darlamitsou A, Stavropoulos- Giokas C.** Distribution of killer cell immunoglobulinlike receptors in the Greek population. *Hum Immunol* **2003**;64:1167–1176
- 83) Medical Oncology ISSN 1357-0560 Volume 29 Number 2 *Med Oncol* **2012**;29:511-515
- 84) **Middleton D, Diler AS, Meenagh A, Sleator C, Gourraud PA.** Killer immunoglobulin-like receptors (KIR2DL2 and/or KIR2DS2) in presence of their ligand (HLA-C1 group) protect against chronic myeloid leukaemia. *Tissue Antigens* **2009**;73:553–560
- 85) **Besson C, et al.** Association of killer cell immunoglobulin-like receptor genes with Hodgkin's lymphoma in a familial study. *PLoS One.* **2007**;2:e406.
- 86) **Lopez-Vazquez A, et al.** Protective effect of the HLA-Bw4I80 epitope and the Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor 3DS1 gene against the development of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection. *J Infect Dis.* **2005**; 192:162–5.
- 87) **Butsch Kovacic M, et al.** Variation of the killer cell immunoglobulin- like receptors and HLA-C genes in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **2005**;14:2673–7.
- 88) **Bahler DW, Hartung L, Hill S, Bowen GM, Vonderheid EC.** CD158 k/KIR3DL2 is a useful marker for identifying neoplastic T-cells in Sezary syndrome by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom.* **2008**;74:156–62.

- 89) **Morice WG, Kurtin PJ, Leibson PJ, Tefferi A, Hanson CA.** Demonstration of aberrant T-cell and natural killer-cell antigen expression in all cases of granular lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol.* **2003**;120:1026–36.
- 90) **Nowakowski GS, Morice WG, Phyliky RL, Li CY, Tefferi A.** Human leucocyte antigen class I and killer immunoglobulin-like receptor expression patterns in T-cell large granular lymphocyte leukaemia. *Br J Haematol.* **2005**;128:490–2.
- 91) **Al Omar S.** Associations between genes for killer immunoglobulin-like receptors and their ligands in patients with solid tumors. *Hum Immunol.* **2010**; 71:976–81.
- 92) **Zhang Y.** Killer cell immunoglobulin-like receptor gene polymorphisms in patients with leukemia: Possible association with susceptibility to the disease. *Leukemia res.* **2010**; 34:55–8
- 93) **Kulkarni S, Martin MP, Carrington M.** The Yin and Yang of HLA and KIR in human disease. *Semin Immunol.* **2008**; Dec;20(6):343-52.

ÖZGEÇMİŞ

Adı - Soyadı : M. Emre SARAÇ
Doğum Tarihi ve Yeri : 28/04/1975 ADANA
Medeni Durumu : Evli
Adres : Kışla Mah. Seyhan Park Evleri Sitesi
F.Blok. Kat: 2, Daire No: 4 Yüreğir/ADANA
Telefon : 0 (542) 317 32 67
E. Posta : emre_sarac@hotmail.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi
Görev Yerleri : Eylül 2001- Ocak 2003 :Askerlik görevi
Ağustos 2003- Ağustos 2009 :Mersin İli Silifke İlçesi
Pratisyen Hekim
2009- Halen: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nöroşirurji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi
Yabancı dil : İngilizce