

**HLA-B27 NEGATİF ANKİLOZAN SPONDİLİT ÖN TANILI  
HASTALARDA HLA SINIF I DAĞILIMI**

**Eda DİYARBAKIR**

**Yüksel Lisans Tezi**

**Tıbbi Biyoloji AD.**

**Prof. Dr. İbrahim Pirim**

**2009**

**Her hakkı saklıdır.**

**T. C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİMDALI**

**HLA-B27 NEGATİF ANKİLOZAN SPONDİLİT ÖN TANILI  
HASTALARDA HLA SINIF I DAĞILIMI**

**Eda DİYARBAKIR**

**TEZ YÖNETİCİSİ  
Prof. Dr. İbrahim PİRİM**

**Yüksek Lisans Tezi  
ERZURUM-2009**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**HLA-B27 NEGATİF ANKİLOZAN SPONDİLİT ÖN  
TANILI HASTALARDA HLA CLASS I DAĞILIMI**

**Eda DİYARBAKIR**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih** : 09.07.2009

**Tezin Sözlü Savunma Tarihi** : 23.07.2009

**Tez Danışmanı** : Prof. Dr. İbrahim PİRİM

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Hülya AKSOY

**Jüri Üyesi** : Doç. Dr. Bünyami ÜNAL

**Jüri Üyesi** : Yrd. Doç. Dr. Hakan USLU

**Enstitü Müdürü** : Doç. Dr. Bünyami ÜNAL

Temmuz 2009

ERZURUM



|                                                                       |           |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2. Metod .....                                                      | 25        |
| 3.2.1. Moleküler Yöntemlerle Yapılan Doku Tiplendirmesi PCR-SSP ..... | 25        |
| 3.2.2. Lenfositotoksitite Yöntemi .....                               | 29        |
| 3.2.2.1. Lenfosit İzolasyonu .....                                    | 29        |
| <b>4. BULGULAR.....</b>                                               | <b>31</b> |
| <b>5. TARTIŞMA .....</b>                                              | <b>36</b> |
| <b>6. KAYNAKLAR.....</b>                                              | <b>41</b> |
| <b>7. EKLER .....</b>                                                 | <b>49</b> |

## TEŞEKKÜR

Tezin yürütülmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. İbrahim PİRİM'e, katkılarından dolayı Ziraat Fakültesi Zooteknik Bölümünden Yrd. Dr. Memiş ÖZDEMİR'e, Uzm. Dr. Hasan DOĞAN, Arş. Gör. Nilnur EYERCİ, Arş. Gör. Zişan ÖNCEL'e, Seda AŞKIN'a bütün çalışma arkadaşlarıma ve her zaman yanımda olan aileme teşekkür ediyorum.

Erzurum, 2009

Eda DİYARBAKIR

## KISALTMALAR

|                  |                                                       |
|------------------|-------------------------------------------------------|
| <b>AS:</b>       | Ankilozan Spondilit                                   |
| <b>ASH:</b>      | Antijen Sunucu Hücre                                  |
| <b>CLIP:</b>     | Sınıf II İlişkili Değişken Peptit                     |
| <b>CTL:</b>      | Sitotoksik T Lenfosit                                 |
| <b>ER:</b>       | Endoplazmik Retikulum                                 |
| <b>HLA:</b>      | İnsan Lökosit Antijeni                                |
| <b>IL:</b>       | İnterlökin                                            |
| <b>Kb:</b>       | Kilobaz                                               |
| <b>MHC:</b>      | Major Histocompatibly Complex                         |
| <b>MICA:</b>     | Major Histocompatibility Complex Sınıf I Cloted Chain |
| <b>NFkB:</b>     | Nüklear Faktör Kappa Beta                             |
| <b>NK:</b>       | Naturel Killer                                        |
| <b>PCR – SSP</b> | Polimeraz Zincir Reaksiyonu –Dizi Spesifik Primer     |
| <b>PCR:</b>      | Polimeraz Zincir Reaksiyonu                           |
| <b>AAU:</b>      | Akut Arterior Uveit                                   |
| <b>ReA:</b>      | Reaktif Artrit                                        |
| <b>SLE:</b>      | Sistemik Lupus Eritematozus                           |
| <b>SpA:</b>      | Spondiloartropatiler                                  |
| <b>TAP:</b>      | Transported Associated Protein                        |
| <b>TCR:</b>      | T Hücre Reseptörü                                     |
| <b>TH:</b>       | T Helper                                              |
| <b>TNF:</b>      | Tümör Nekroz Faktör                                   |

**ÖZET****HLA-B27 NEGATİF ANKİLOZAN SPONDİLİT ÖN TANILI HASTALARDA  
HLA SINIF I DAĞILIMI**

HLA-B27 allelini taşımanın Ankilozan Spondilit (AS) riskini artırdığı bilinmektedir fakat AS ön tanısı almış HLA-B27 alleli taşımayan hastalardaki ilişki bilinmemektedir.

Çalışmamızda HLA-B27 negatif AS ön tanılı hastalarda HLA Sınıf I antijen dağılımını saptamak ve HLA-B27 dışında farklı Sınıf I sıklığının ya da hastalık ilişkisinin olabileceği değerlendirilmesi amaçlandı. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi servisi, Dahiliye, Romatoloji ve Ortopedi servislerinde AS ön tanılı ve HLA-B27 istemiyle gelen hastalara PCR-SSP ve lenfositotoksitite yöntemleri ile HLA doku tiplendirmesi yapıldı. Çalışmamızda HLA-B27 sonucu pozitif olan Ankilozan Spondilit hastaları dahil edilmedi HLA-B27 negatif olan 189 Ankilozan ön tanılı hasta grubu seçildi, kontrol grubu olarak laboratuarda kemik iliği veya böbrek nakli bekleyen hastaların sağlıklı 93 vericileri alındı. Hasta ve kontrol grubunda bulunan her bir allel için, allel frekansı ki-kare testi, OR değerleri hesaplandı. Çalışmamızın sonucunda yapılan istatistiksel analizler doğrultusunda HLA-B27 negatif Ankilozan Spondilit hastalığı ile HLA Sınıf I alleleri arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Ankilozan Spondilit, HLA Sınıf I antijeni, HLA-B27.



## SUMMARY

### **HLA CLASS I DISTRIBUTION IN PREDIAGNOSED ANKYLOSING SPONDYLITIS PATIENTS WHO DON'T CARRY HLA-B27 ANTIGEN**

Carriage of HLA-B27 has been shown to increase the risk of ankylosing spondylitis (AS) but the association in B27 negative cases is not known. In the present study, we planned to determine HLA Class I antigen distribution in prediagnosed AS patients who don't carry HLA-B27.

Patients recruited from department of, physical medicine, orthopedic and rheumatology clinics who get diverted to our laboratory for HLA-B27 test. HLA Class I testing were performed by using serological method or molecular PCR-SSP. All HLA-B27 positive patients were excluded from the study. HLA-B27 negative (n:189) AS prediagnosed patients were involved in the study. Control group (n:93) was chosen from healthy donors of bone marrow and chronic kidney disease patients. HLA Class I antigens of patient and control groups were statistically compared, and allele frequencies, odds ratio values were calculated for each allele.

Our study results showed that there is no HLA Class I allele or alleles related to the disease but HLA-B27.

**Key words:** Ankylosing Spondylitis, HLA, Class I antigens, HLA-B27

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                 |                                                                                                            |    |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1.</b> | Altıncı kromozomun yapısı, MHC kompleksinin yeri ve bu kompleks içinde yer alan genlerin pozisyonları..... | 4  |
| <b>Şekil 2.</b> | HLA Sınıf I molekülü .....                                                                                 | 5  |
| <b>Şekil 3.</b> | HLA Sınıf I antijenlerinin sentezi ve peptid sunumu .....                                                  | 7  |
| <b>Şekil 4.</b> | HLA Sınıf II molekül yapısı.....                                                                           | 9  |
| <b>Sekil 5.</b> | HLA Sınıf II antijenlerinin sentezi ve peptid sunumu .....                                                 | 10 |
| <b>Şekil 6.</b> | HLA- B27'nin amino asit yerleşim pozisyonlarını gösteren kristal yapı.....                                 | 22 |
| <b>Şekil 7.</b> | PCR–SSP yöntemiyle HLA Sınıf I doku tiplendirme reaksiyon bant görüntüleri .....                           | 26 |
| <b>Şekil 8.</b> | Terasaki plağı.....                                                                                        | 30 |

## TABLOLAR DİZİNİ

|                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1.</b> HLA antijenleri ve hastalık ilişkisi .....                                                                           | 15 |
| <b>Tablo 2.</b> HLA-B*2705'den HLA-B27 subtiplerinin muhtemel oluşum yolağı.....                                                     | 23 |
| <b>Tablo3.</b> PCR-SSP analiz tablosu .....                                                                                          | 27 |
| <b>Tablo 4.</b> HLA A antijenlerinin 189 AS ön tanılı HLA- B27 negatif hasta ve<br>93 kontrol olgusunda görülen fenotip sıklığı..... | 32 |
| <b>Tablo 5.</b> HLA B antijenlerinin 189 AS ön tanılı HLA- B27 negatif hasta ve<br>93 kontrol olgusunda görülen fenotip sıklığı..... | 33 |
| <b>Tablo 6.</b> HLA C antijenlerinin 189 AS ön tanılı HLA -B27 negatif hasta ve<br>93 kontrol olgusunda görülen fenotip sıklığı..... | 35 |

## 1. GİRİŞ AMAÇ

HLA ile ilgili çalışmalar, hastalık riski saptamak ve tedavileri planlama amacıyla yapılmaktadır. Enfeksiyon ve otoimmün hastalıkların birçoğunun HLA ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Belli hastalıkların belli alleleri taşıyan kişilerde daha çok görüldüğü tespit edilmiştir. En dikkat çekici örnekler; Reaktif Artrit (ReA), Ankilozan Spondilit (AS), Behçet ve Çölyak hastalıklarıdır. Bu tip hastalıkların ortaya çıkmasında HLA yalnızca hastalığa yatkınlığı belirtir, birçok faktör bir araya gelerek hastalığın meydana gelmesine sebep olur. Ankilozan Spondilit (AS), ön planda aksiyal iskeleti tutan kronik inflamatuvar bir hastalıktır ve tedavi edilmediğinde ciddi fonksiyon bozukluğuna neden olabilmektedir. AS'li hastaların %90-95'inde HLA-B27 pozitiflik saptanmıştır. Bu hastalıkta genetik etmenlerin büyük rolü olduğu ve bunun dışında çevresel faktörlerin etkili olduğu belirlenmiştir. AS'de entezitis (kemiğe tendon, ligaman yapışma yerlerinin inflamasyonu), belirleyici bir özellik olup yapılan araştırmalarda biyopsi örneklerinde entezit bölgelerinde ve sakroilak eklemden T lenfositlerin ve monositlerin arttığı gözlemlenmiştir. HLA-B27 dışında diğer HLA antijenlerinin tespiti, sunulacak peptidin dolayısıyla oluşacak immün yanıtın özelliği, peptitlerin işlenmesi hastalıkla ilişkili olabilir.

Çalışmamızın amacı, HLA-B27'si negatif olan AS ön tanılı hastalarda diğer HLA Sınıf I antijenlerinin sıklığının hastalıkla ilişkili olup olmadığını araştırmaktır. AS ön tanısı almış hastalardan istenen ve rutin olarak yaptığımız HLA-B27 testi sonuçlarına göre HLA-B27'si pozitif olan olgular çalışma dışı bırakılıp, HLA-B27 negatif olan olgularda HLA-B27 dışındaki HLA Sınıf I antijenlerinin dağılımı tespit edilip, elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

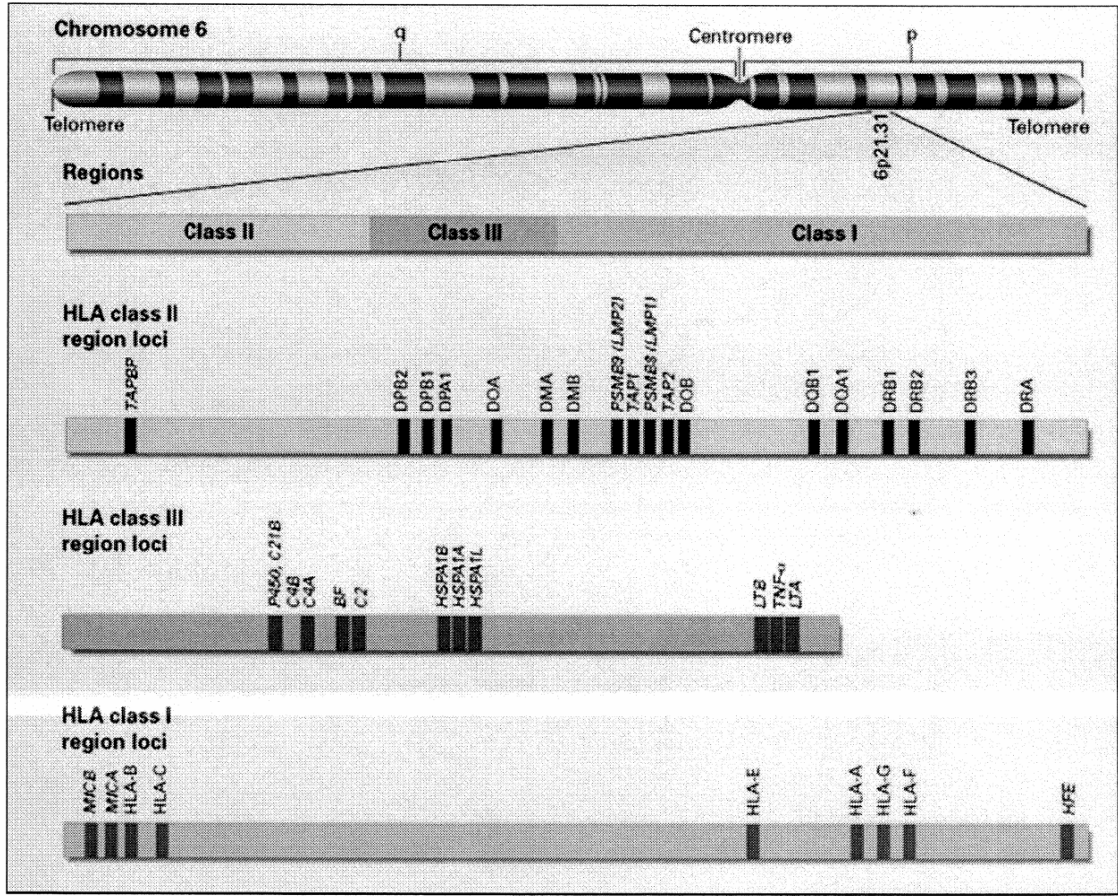
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leucocyte Antigen, HLA)

Majör, Histocompatibly Complex (MHC) tüm omurgalılarda immünolojik ve immünolojik olmayan fonksiyonları yerine getiren bir takım genlerden ibarettir. 1931 yılında Land Steiner eritrosit antijenlerini keşfetmiş ve kan transfüzyonu, doku ve organ transplantasyonu için de doku antijenlerinin uyumundan bahsetmiştir <sup>1</sup>. MHC gen bölgesi ilk kez 1930'lu yıllarda farelerdeki transplantasyon çalışmalarıyla Gorer ve Snell tarafından ortaya çıkarılmış ve doku antijenlerinin varlığından söz edilmiştir <sup>2,3</sup>. Bu doku uyum kompleksine Majör Histocompatibly Complex adını vermişlerdir. Daha sonraki araştırmalarda MHC kompleksinin bütün memelilerde bulunduğunu göstermişlerdir. 1958 yılında Dausset, Snell ve Rappaport insan lökositlerinde doku uygunluk antijenlerini göstermeyi başardılar. Van Rood ve arkadaşları kan transfüzyonu yapılmış kişilerde ve çok doğum yapmış kadınların serumlarında lökositlere karşı oluşan antikorların varlığını göstermişlerdir. <sup>1-5</sup> Kendisine karşı immün yanıt oluşan bu antijenlerin, sadece lökositlerde değil, diğer doku hücrelerinde de olduğu anlaşılmış ve bu antijenlere “Histokompatibilite Antijenleri” veya “Transplantasyon Antijenleri” adı verilmiştir <sup>5</sup>. MHC genel bir isimdir ve her bir türün ayrı bir MHC simgesi vardır. İnsanlarda MHC gen bölgesi olarak kodlanan moleküler HLA (Human leucocyte antigen) olarak adlandırılır. Bu antijen ilk kez 1979 yılında monoklonal antikorlarla gösterilmiştir. İnsanda MHC antijenlerini kodlayan gen bölgesi 6. kromozomun kısa kolu üzerinde sentromere yakın bir bölgede (6q21.3) 4 santimorgan büyüklüğünde bir gen bölgesidir (Şekil-1). <sup>1,2,4,6-11</sup> HLA ile ilgili Sınıflandırmalar 1977 yılında Sınıf I-II-III şeklinde Klein tarafından yapılmıştır. <sup>2</sup> Sınıf I bölgesindeki bu lokusta klasik antijenleri kodlayan HLA-A, -B, -C genleri bulunur bu bölge 3-6 kb uzunluğundadır

ve oldukça polimorfik bir bölgedir. Klasik antijenleri kodlayan genler dışındaki Sınıf I bölgesindeki genler HLA -E, -F, -G, -H, -J, -K, -L genler olup sadece HLA-E, -F, -G, eksprese olmaktadır.<sup>1,2,6-8,12-14</sup> Sınıf II antijenlerini kodlayan HLA-DP, -DQ, -DR, genleridir. Bu bölge 4-11 kb uzunluğundadır. Bu genlerin yanı sıra HLA-DM, -DN, -DO, -TAP I, -TAP 2, -LMP7, -LMP2 gen bölgeleri bulunur.<sup>1,4,7,8,15</sup> Sınıf III bölgesinin gen yoğunluğu oldukça fazladır fakat bunların bir kısmının immün sistemle ilişkisi yoktur. Sınıf III gen bölgesi, Tümör nekroz faktör (TNF), kompleman sistemi (C2, C4a) ve ısı şok proteinleri gibi immünolojik reaksiyonlarla ilişkili proteinleri kodlar.<sup>6,7,9,10,12</sup>

MHC Sınıf I ve II antijenlerini kodlayan 581 kadar allel gen belirlenmiştir. Allellerin lokuslara dağılımı kişinin Histokompatibilite mozağini tayin eder. HLA molekülleri klonal olarak değişkenlik göstermez. Yani herhangi bir kişide lökositler aynı HLA yüzey moleküllerini taşırlar. Her bir HLA lokusunda 2 allel bulunur. Bunlar biri anneden biri babadan gelen allellerdir. Allellerin benzerlik ve farklılığına göre o allel için heterozigot veya homozigot HLA antijenlerine sahip olunur.<sup>5</sup>

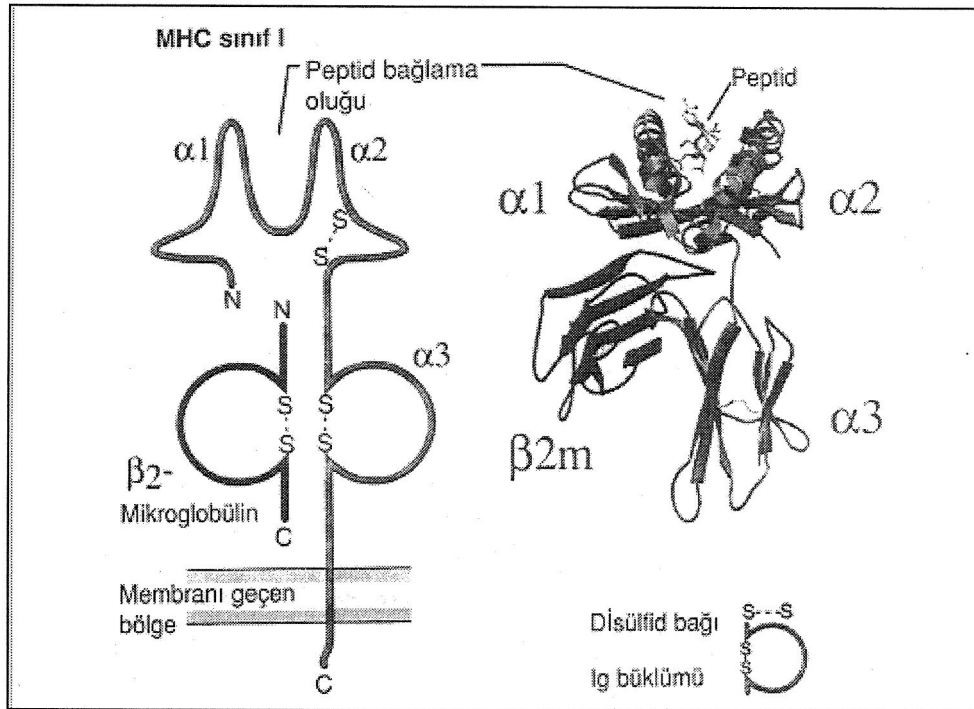


**Şekil 1.** Altıncı kromozomun yapısı, MHC kompleksinin yeri ve bu kompleks içinde yer alan genlerin pozisyonları.

### 2.1.1. HLA Sınıf I Molekülü

HLA Sınıf I moleküller, kovalan olmayan bağlarla bir arada tutulan, iki polipeptit zincirinden oluşmuş heterodimer yapılı proteinlerdir. Bunlardan ağır olan alfa zinciri MHC bölgesinde kodlanır, hücre membranı boyunca ilerleyen bu molekülün amino ucu membranın dışında yer alır ve membran dışındaki alfa zinciri,  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ve  $\alpha 3$  “domain” lerden oluşur. Zincirin membranı geçen kısmını takiben sitoplazmik kısa bir uzantısı vardır. Molekülde bulunan hafif zincir ise Beta 2 Mikroglobulin ( $\beta_2M$ ) olup MHC dışında, 15. kromozomda kodlanır. Molekülün üç boyutlu yapısına bakıldığında membran dışında birbirine benzerlik gösteren bölgelerin karşılıklı gelmesi ile iki çift domain olduğu görülür  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  membran distalinde  $\alpha 3$  ve  $\beta_2M$  de membran

proksimalinde karşılıklı yer alır. Karşılıklı yerleşen  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  zincirleri antijenlere ait 8-10 amino asit büyüklüğünde yapı peptitlerinin yerleşebileceği kovuğa benzer bir yapı oluştururlar. (Şekil-2). Peptitler bu bölgeye non-kovalan bağla bağlanırlar. Ancak bu bağlanma antikor molekülünün peptit bağlayan bölgesine uymayan peptitlere karşı immün cevap oluşturmaz. Antijen sunan hücreler peptitleri CTL' lere HLA Sınıf I antijenleriyle sunarlar. Sınıf I genleri, kodlama yapan 8 ekzon ve kodlama yapmayan 7 introndan oluşur. Polimorfik bir yapı gösteren  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  bölgeleri ekzon 2-3 tarafından kodlanır.<sup>16-18</sup> Altıncı kromozom üzerinde Sınıf I moleküllerini kodlayan genlerden önce Sınıf I genlerini düzenleyen genlerin kodlandığı bir bölge yer almaktadır. Bu kontrol bölgesi farklı alleller için farklı olabilir.  $\alpha$  zincirini kodlayan hücrelerle HLA-A,- B, -C genleri klasik Sınıf I antijenlerini sentezler. HLA-E; natural killer (NK) ile immün yanıtta görev alır.<sup>7,19,20</sup> HLA-H; Sınıf I in immünojenik niteliği taşımadığı düşünülen pseudo gendir.<sup>14,21</sup> HLA-G, maternal fetüs toleransında rol oynadığı ispatlanmıştır.<sup>22,23</sup>

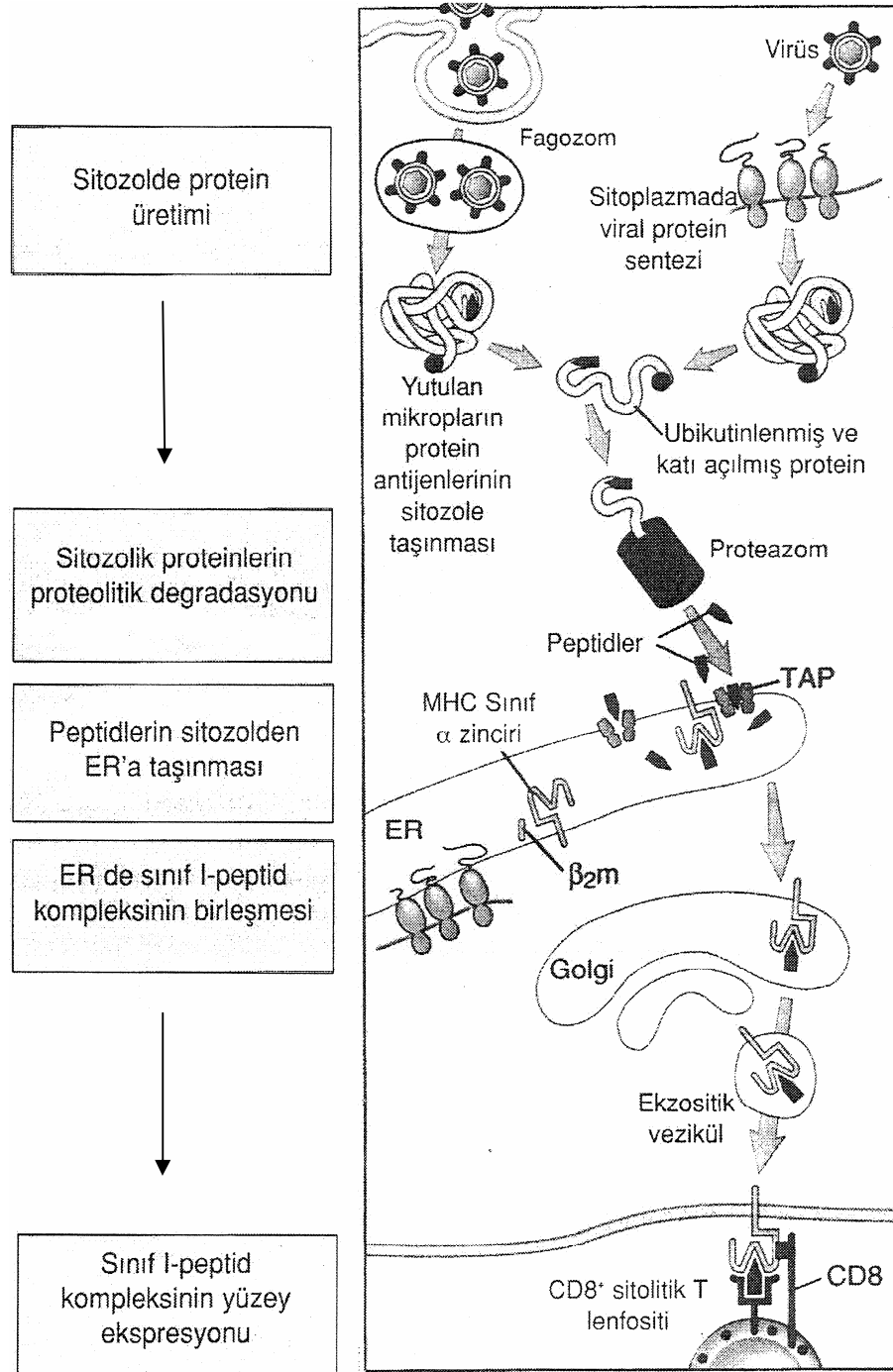


Şekil 2. HLA Sınıf I molekülü



### 2.1.1.1. HLA Sınıf I moleküllerinin antijen sunumu

Sınıf I moleküller, hücre içinden kaynaklanan otolog proteinler ve viral antijenlere ait peptid yapılar gibi hücre içinden kaynaklanan (endojen) peptidleri sunar ve CD8 taşıyan sitotoksik hücrelerin uyarılmalarına sebep olur. Bu şekilde proteinler proteoliz ile parçalanmaya uğrarlar.<sup>16</sup> Bu süreçte proteinler “ubiquitin” adlı özel bir molekülle işaretlenerek Proteozom kompleksine yönlendirilir.<sup>10,11,24</sup> Proteozom kompleksinde peptitler ya sitosolde amino asitlerine kadar yıkılır ya da Endoplazmik Retikulum’a (ER) transfer olur. Ekstrasellüler proteinlerin yıkımı farklı yollarla olur. Proteozom kompleksinde, proteinler Sınıf I molekülüne bağlanabilecek boyutta fragmentlerine ayrılır. Sitoplazmada antijenik peptitlere ayrılan proteinlerle, ER ‘de sentezlenen HLA Sınıf I moleküllerinin bağlanmasını sağlayan özelleşmiş bir protein olan transport associated protein (TAP, TAP1, TAP2) lerdir.<sup>5,11,25,26</sup> Proteozomdan serbest bırakılan peptitler TAP molekülünün sitozolik bölgesine bağlanır ve TAP kanalı boyunca geçer. Sınıf I ‘in  $\alpha$  ve  $\beta$  polipeptit zincirleri ER’ nin sitoplazmik yüzeyinde bağlı olan ribozomlarda üretilir. Üretilen 2 polipeptit zinciri birleştirilir ve özel bir kanalla ER’nin lümenine bakan yüzeyinde şaperonlar sayesinde (calnexin, calnequin ve p57) uygun formda tutunurlar. Sınıf I molekülü bağlayabileceği peptidi bulursa hücre yüzeyine taşınır (Şekil-3).<sup>10,16,27</sup>



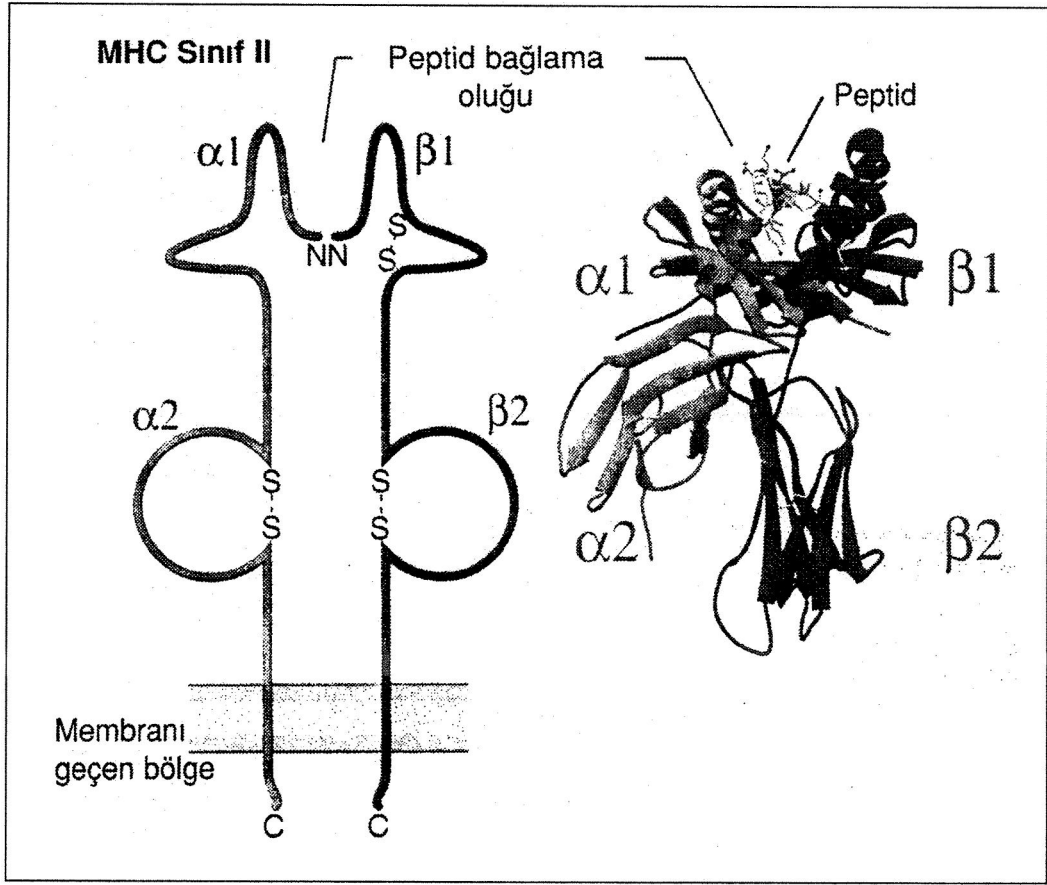
**Şekil 3.** HLA Sınıf I antijenlerinin sentezi ve peptit sunumu

### 2.1.2. HLA Sınıf II Molekülü

Sınırlı bir dağılıma sahip olan Sınıf II antijenleri dendritik hücreler, makrofajlar, profesyonel antijen sunan (APC), B lenfositleri ve aktive edici T lenfositlerinde bulunurlar.<sup>5</sup> HLA Sınıf II molekülü  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere 2 polipeptit zincirinden oluşan heterodimer bir yapıya sahiptir. Bu zincirler non-kovalan bağlarla birbirine bağlıdır. Sınıf II molekülünün  $\alpha$  ve  $\beta$  polipeptit zincirinin 4 domaini bulunur.  $\alpha 1$  ve  $\beta 1$  alt birimleri, polimorfik noktalar içerirler ve 10-30 amino asit uzunluğundaki peptitlerin yerleşebileceği bir domain oluştururlar. Diğer domainler;  $\alpha 2$  ve  $\beta 2$  immunoglobulin benzeri domain bölgeleri, transmembran bölgesi ve sitoplazmik kuyruk kısmından oluşur (Şekil-4).<sup>16</sup> Sınıf II genleri, Sınıf II moleküllerinin  $\alpha$  ve  $\beta$  polipeptit zincirlerini kodlar. 6. kromozom üzerinde bulunduğu bölgeye göre tasarımı 3 harfle gösterilmiştir. İlki Sınıfı gösteren D, ikincisi (M, -O, -P-, U, -R) aile, üçüncüsü ise  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirlerini ifade eden A ve B harflerdir. HLA-DRB örneğinde olduğu gibi gendeki allelik varyant için \*işareti kullanılır. Örneğin HLA-DRB1\*0401, genin 0401 allelik varyantını gösterir.<sup>16</sup> Sınıf II genleri; DR, DQ ve DP genleri olup, DRA DRB, DQA DQB, DPA DPB şeklinde 2'şer çifttir. Sınıf II antijen ve genlerinin hepsinde ortak D harfinin bulunmasının nedeni bu antijenlerin varlığını gösteren serolojik yöntem dışında farklı bir yöntem olarak hücre kültürüne dayanan bir çeşit "Mixed Lymphocyte Culture" reaksiyonu ile gösterilen, HLA-A, B ve C den sonra, HLA-D olarak adlandırılmasından kaynaklanmaktadır.<sup>16</sup>

Çok az polimorfizm gösteren DMA/DMB ve DQA/DQB genleri klasik olmayan Sınıf II moleküllerini kodlar.<sup>7,28,29</sup> Hücreye fagositoz ile alınan ve lizozomlarda antijenik peptitlere ayrılan proteinler HLA-DM molekülünün yardımı ile Sınıf II molekülüne bağlanır.

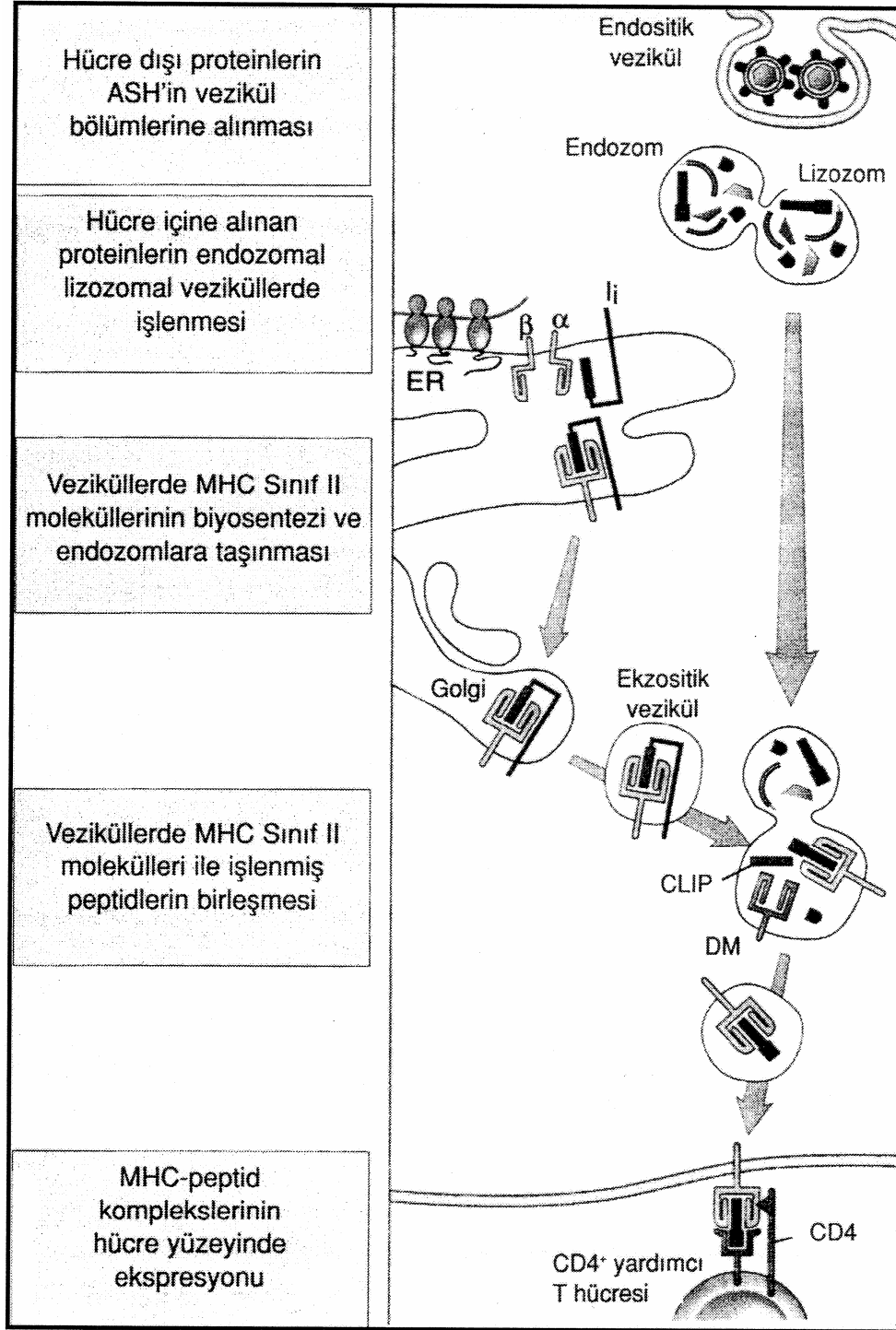
HLA Sınıf II bölgesi içersinde HLA Sınıf I yolu antijen işlenmesinde görev alan TAP 'ı kodlayan gen bölgesi bulunur.<sup>9, 26, 30</sup>



Şekil 4. HLA Sınıf II molekül yapısı

#### 2.1.2.1. HLA Sınıf II moleküllerinin antijen sunumu

Fagositoz yeteneğine sahip B lenfositler, T lenfositler, monositler ve dentritik hücreler Lizozomlarda yıktıkları antijenleri ER'de sentezlenip vezikül içine alınan Sınıf II HLA moleküllerine yerleştirerek sunarlar.<sup>11,25,27</sup> Oluşan HLA peptit kompleksi ekzositoz ile hücre membranına taşınır. Antijenik peptitler CD4 yardımcı lenfositlere sunulur. T lenfosit reseptörleri ve Sınıf II molekülü arasındaki bağ sayesinde yardımcı T lenfositlerden interferon sentezi gerçekleşir ve immün yanıtın ortaya çıkmasını sağlar (Şekil; 5).<sup>34, 25, 31</sup>



Şekil 5. HLA Sınıf II antijenlerinin sentezi ve peptit sunumu.

## 2.2. HLA Hastalık İlişkisi

Belirli HLA alleleline sahip olanların diğer bireylere göre bazı hastalıklara yatkın olduğu belirlenmiştir. Bu hastalıklar arasında kompleman sistemi bozuklukları, otoimmün hastalıklar, bazı nörolojik bozukluklar ve enfeksiyon hastalıkları vardır. Oluşum mekanizması tam olarak bilinmeyen bu hastalıklarda, HLA dışında çok sayıda gen ve çevresel faktörler rol oynar.

HLA Sınıf I'e peptit sunumundaki bozukluğa; Tap 1, Tap 2 genlerindeki mutasyon da sebep olabilir. Tap I yada Tap 2 alt birimlerinin her birinin yokluğunda Sınıf I molekülün peptit bağlanması büyük ölçüde durur.<sup>32,33</sup> Peptit bağlanmayan m Sınıf I molekülü instabil hale gelir ve golgi aygıtı vasıtasıyla taşınarak etkisiz hale getirilir. Bu nedenle Sınıf I moleküllerinin hücre yüzeyindeki sayıları normal seviyenin %1-3'ü kadar düşer. Bunun sonucu olarak enfeksiyonlara yatkınlık artar. HLA Sınıf II moleküllerindeki eksiklik; Sınıf II genlerinin transkripsiyonunu düzenleyen genlerdeki anormalliklerden kaynaklanır.<sup>34</sup>

### 2.2.1. Narkolepsi

Narkolepsi uykunun kontrol edilemeyen periyotları olan ve gündüz ortaya çıkan uyku haliyle karakterize nörolojik bir durumdur. Bu hastalığa hipokretin tip 2 reseptörü için kodlama yapan gen içersindeki bir defekt sebep olur. Hipokretinler hipotalamusta küçük bir grup nöron tarafından salgılanan nöropeptitlerdir.<sup>35,36</sup> Narkolepsi hastalarında bu molekülü salgılayan hücre sayısı azalmıştır. Ayrıca reseptörü üreten gendeki bir mutasyon hipokretin etkisinin azalmasına veya kaybına neden olur. Mutasyonun HLADQB1\*0602 ve DQA1\*0102 bölgeleri üzerinde yerleşik HCRT2R2 geninde olduğu gösterilmişti.<sup>35,36</sup> Narkoleptik hastaların %9'unda HLADQB1\*0602, HLADQA1\*0102

mutasyonları vardır. Narkolepsi prevalansı ABD 'de %0. 002 - 0. 005 dir ve kadın ve erkeklerde eşit sayıda görülür.<sup>35,36</sup>

### **2.2.2. Hemokromatosis**

Artmış demir emilimi sonucunda dokularda demir birikimi ile karakterize otozomal resesif bir hastalıktır. 1970 yılında ilgili genin HLA-A3 bölgesinde 6. kromozomun kısa koluyla ilişkili olduğu bulunmuştur. 1996 yılında ise HFE olarak adlandırılan bu gende mutasyon sonucunda ortaya çıktığı gösterilmiştir. En sık görülen mutasyon C282Y (Sistein 282 Tirozin) 2. sıklıkta H63D (Histidin 63 Aspartik Asit) mutasyonlarıdır. HFE gen mutasyonu beyazlar arasında en sık görülen kalıtım anormalliklerinden biri olan kalıtsal hemokromatosisden sorumludur. Mutasyon HFE geninin ürünü olan  $\alpha 3$  domaininin 282. pozisyonunda bulunan tirozin amino asitinin sisteinle yer değiştirmesiyle sonuçlanan mutasyon ile  $\beta_2M$ 'in yapısı değişir ve bunun sonucunda transferrin reseptörüne bağlanamaz. Neticede Transferrin reseptörü ve  $\alpha$  zinciri tarafından şekillenen kompleks deodonal kript hücrelerinin yüzeyine taşınamaz. Barsaklardan demirin emilimi serum demir konsantrasyonunun kontrol basamağını oluşturur. Bu hücrelerin yüzeyindeki bahsedilen kompleksin yokluğunda normal miktarın 2-3 katı kadar demir emilimi gerçekleşir.<sup>37-40</sup>

### **2.2.3. HLA Genleri ve Enfeksiyon Hastalıkları**

Bir patojenin etkili bir immün cevabı ortaya çıkarması için HLA moleküllerinin patojenin peptidini sunması ve sunduğu peptitler tarafından aktif hale getirilebilen T hücre repertuarlarının olması gerekir.<sup>41</sup> HLA allellerinin yapısal olarak farklı kombinasyonlara sahip farklı HLA antijenlerini taşıyan bir kişinin enfeksiyon

hastalıklarına yatkınlığını attırır yada azaltır. Bu direncin en iyi örneği Afrika’da şiddetli sıtmaya karşı korunmalı Sınıf I ve Sınıf II spesifik allelerinin ilişkisidir. Hafif sıtmalı çocuklar ve sağlıklı bireylerde %25’lik sıklıkla HLA B53 allelinin varlığı ortaya çıkarılmıştır.<sup>42,43</sup> Şiddetli sıtmalı hastalar arasında HLA B53 sıklığı tahminen %15 kadardır. HLA B53 ‘ün varlığı sıtmada ölüm riskini azalttığı bulunmuştur. HLA B53 molekülleri sıtma ile ilgili proteinleri işleyerek peptitleri CD8+ T lenfositlere sunar böylece sıtmaya karşı koruma sağlanır.<sup>44,45</sup>

#### 2.2.4. Kanser ve HLA

Kanser gelişiminde immün sistemin rolü büyüktür. Kanser tedavisinde, tümörlere karşı immün yanıtın artırılması hedeflenmektedir. İmmün sistemde amaç yabancı olarak algılanan molekülleri tanıyıp yanıt vermektir.<sup>25</sup> Malign tümörler immün sistem tarafından yabancı olarak algılanabilecek çeşitli proteinler sentezler. Yabancı olarak tanınan bu proteinler CTL’ lere sunulur. Tümör hücreleri tarafından sentezlenen bu antijenlerin çoğu, endojen sentezlenen, HLA Sınıf I tarafından sunulan proteinlerdir.

Farklı tümör hücreleri CTL yanıtlarını nasıl uyarırlar?

Tümör hücrelerinde mutasyona uğramış kanser ile ilişkili genlerin proteinleri hücre tarafından yabancı algılanıp CD8 ve CD4 T lenfositlerine sunulur ve tümör hücreleri apoptozise yönlendirilir.<sup>11,25</sup> Tümörlere karşı immün yanıtın yetersiz kalması pek çok tümör antijeninin, öz antijenlerden farklı olmalarındandır, yani immünojenik olmamalarından kaynaklanır. Tümörler, HLA Sınıf I moleküllerinin ekspresyonunu engelleyebilir, böylece antijen sunulamaz, bunun yanında tümörler immün sistemi baskılayan TGF $\beta$  gibi büyüme faktörlerini de üretirler.<sup>11,25</sup>



### 2.2.5. Transplantasyon ve HLA

Doku naklinin gelişmesi ile genetik olarak farklı bireylerden oluşan bir toplumda bireylerin diğer bireylerden nakledilen dokuları reddettiği ortaya çıkmıştır. Red, nakledilen dokuda hasara neden olan inflamatuvar bir tepkidir. Transplantasyon alıcı ve donör gruplarına göre 4 gruba ayrılır. Donör yaşayan bir kişi veya kadavra olabilir. Otograft; bir dokunun kişinin bir bölgesinden alınıp diğer bir bölgesine naklidir. Allograft; aynı türe ait canlılar arasında gerçekleşen doku ve organ naklidir. Nakledilen dokuda yabancı olarak algılanan moleküller alloantijen olarak tanımlanır. İzograft; genetik olarak aynı bireyler arasında, ksenograft ise farklı türler arasında yapılan doku ve organ naklidir.<sup>5,8</sup>

Doku ve organ naklinde red mekanizmasında rol oynayan allograft antijenleri, HLA kompleksi tarafından kodlanan proteinlerdir. Her insan 6 tane Sınıf I alleli ve 6 tane de Sınıf II alleli taşır. HLA yüksek derecede polimorfiktir. Bu yüzden tek yumurta ikizleri hariç her birey diğer bireyden farklı HLA proteinleri eksprese edilir. Farklı HLA'ların tümü red hedefi olabilir. HLA moleküllerini tanımasıyla T hücreleri aktive olur bu da doğrudan alloantijenlerin sunumunu sağlar.<sup>11,25</sup>

### 2.2.6. Otoimmün Hastalıklar

Genetik çalışmalar belli HLA allellere sahip olan bireylerin, bu allellere sahip olmayan bireylere göre spesifik otoimmün hastalıklara daha yatkın olduklarını belirlemiştir.<sup>46,47</sup> Buna örnek olarak Ankilozan spondilitis ve HLA-B27 ilişkisi verilebilir. Hasta bireylerin yaklaşık %90 'nı bu alleli taşıırken, sağlıklı kişilerde taşıma sıklığı %9 kadardır.<sup>48</sup> Otoimmün hastalıkların gelişiminde HLA moleküllerinin etkisini gösteren kanıtlar transgenik hayvanlarla yapılan araştırmalarda elde edilmiştir. Böyle

bir deneyde insan HLA-B27 ve B2M genlerinin transfer edildiği transgenik ratlarda, inflamatuvar hastalık olan ve insanda spondiloartropatiye benzeyen hastalık gelişmiştir. Hastalığın gelişimi lenfosit hücrelerde gösterilen HLA-B27 genlerinin sayısı ile ilişkilidir.<sup>48</sup> Diğer bir otoimmün hastalık olan, Tip I Diyabet, pankreasda insülin üreten  $\beta$  hücrelerindeki hasariyet sonucu oluşur. Diyabet populasyonun %5-10'unda görülür. En sık görülen yaş grubu 5 tir. Çocuklukta başlar. Hastalığın patogeneğinde HLA Sınıf II moleküllerinin etkisi olduğu düşünülmüş ve yapılan çalışmalarda HLA DR3 veya DR4 antijeninin varlığında Tip I Diyabet oluşma riskinin 2-3 kat, her ikisinin de bulunması halinde ise 7-10 kat arttırdığı belirlenmiştir.

Tip I Diyabetli hastaların %95'den fazlası DR3-DR4 taşıyıcısıdır.<sup>49-51</sup> DR2, DQ6 ve DR5 HLA antijenlerinin varlığı ise Tip I Diyabet riskini azaltır. Bunlar koruyucu HLA antijenleridir.<sup>52-54</sup> HLA DQ antijenindeki değişiklikler diyabetin ortaya çıkmasını sağlayabilir. HLA DQ  $\beta$  zincirinde 57. pozisyondaki aspartik asit yokluğu hastalık riskini %100 arttırır. HLA DQ  $\alpha$  zincirindeki 52. pozisyonda arjinin bulunması da hastalık gelişim riskini artırır.<sup>55</sup> Tablo 1'de bazı hastalıklarla ilişkili olduğu saptanan HLA antijenleri verilmiştir.

**Tablo 1.** HLA antijenleri ve hastalık ilişkisi

| <b>Hastalık</b>         | <b>HLA antijeni</b> |
|-------------------------|---------------------|
| Myastenia gravis        | B8/DR3              |
| Ankilozan Spondilit     | B27                 |
| Behçet hastalığı        | B51                 |
| SLE                     | B8/DR3              |
| Çölyak hastalığı        | DRB1*03             |
| Romatoid artrit         | DR4                 |
| Juvenil romatoid artrit | DR4                 |
| İnsüline bağımlı DM     | DQ3/DR4             |
| Multiple skleroz        | DR15                |

### 2.3. Spondilartropatilerin Tanımlaması

Spondilartropatiler (SpA) kendine has fizyopatolojik, klinik, radyografik ve genetik özellikleri olan bir grup kronik, inflamatuvar, romatizmal hastalıklardır. Periferik eklemlerin artritile birlikte olabilen inflamatuvar bel ağrısıyla beraber ekstraartriküler özellikler bu hastalıkların karakteristik semptom ve bulgularıdır.<sup>56</sup>

Spondilartropatilerin prototipi olan AS ile beraber ReA, psöriatik artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları artropatileri, andiferansiye spondilartropatiler ve juvenil kronik artritler bu grubun geleneksel klinik profilini oluştururlar.<sup>57</sup> Her ne kadar bu hastalıkları tetikleyen bazı faktörler açığa çıkarılmış olsa da, henüz nedenleri kesin olarak açıklanamamıştır. Buna rağmen bu hastalıklarla HLA-B27 arasındaki güçlü ilişki, SpA'lerin anlaşılmasında ilerlemelere zemin hazırlamıştır.<sup>58</sup> Kronik inflamasyonun moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, yeni tanısal görüntüleme teknikleri, Sınıflama kriterlerinin geliştirilmesi, hastalığın süreci ve sonucunun daha iyi anlaşılması göz önüne alındığında tedavi paradigmalarında günümüzde dikkate değer değişikliklerin meydana geldiği görülmektedir.

#### 2.3.1 Ankilozan Spondilit

Ankilozan Spondilit periferik eklemleri ve omurgayı etkileyen seronegatif bir hastalıktır.

##### 2.3.1.1. Genetik

1970 'lerden önce bu hastalıklar ve diğer romatizmal hastalıkların etiyolojisi ve genetik karakterleri hakkında çok az bilgi vardı.<sup>59,60</sup> 1973'de Londra'da Brevverton ve arkadaşları, Los Angeles'da Schlosstein ve arkadaşları tarafından HLA-B27 ilişkisinin

birbirinden bağımsız ancak eş zamanlı olarak keşfedilmesi önemli bir gelişme olmuştur. AS ve HLA-B27 arasındaki önemli orandaki birliktelik hastalığın etyopatogenezinin anlaşılmasında önemli katkılar sağlamıştır.<sup>61,62</sup> Öncelikle AS'nin RA' ten farklı bir hastalık olduğu açık bir şekilde ortaya konmuş olup, yeni Sınıflama kriterlerinin geliştirilmesi için bir adım atılmıştır. Ayrıca genetik bir belirteç olan HLA-B27 ilişkisinin ortaya konması hastalığın ailesel karakterli olduğuna dair düşüncüyü güçlendirmiştir.<sup>62,63</sup>

Bu süreçte bazı hastalıklarla spesifik HLA tipleri arasında olası ilişkiler incelenmiş ancak güçlü bir korelasyon saptanamamıştır. İlk kez bir dermatolog olan Dr. Seymour White, Dr. Terasaki ile beraber psoriyasisli hastalarda HLA tiplendirmesi yapmıştır. 1972'de her iki araştırmacı psoriyasisli hastalarda HLA-13 ve HLA-17 sıklığının sağlıklı kişilere göre 3 kat fazla olduğunu belirlemişlerdir. Elde edilen bu sonuçlar tüm romatizmal hastalıklarda HLA ilişkisinin araştırılmasına neden olmuştur.<sup>63-65</sup> Bu çalışmada yer alan Brewerton, 2003 yılındaki açıklamasında şu ifadelerle yer vermiştir; "Bu hastalık açıklanamayan genetik komponentli, yaygın, inflamatuvar bir hastalık olduğundan dolayı AS 'li hastalar için derhal doku tiplemesi yapılmasını önerdim. Daha sonra şunu öğrendik ki; HLA-B27 antijeni sekiz AS 'li hastanın sekizinde de pozitif. Bu milyonda bir görülecek bir durumdur. Bu durumun vereceği heyecanı düşünün".<sup>60</sup> Ancak bu heyecan paylaşılmalıydı. Çünkü eş zamanlı olarak Los Angeles'da Bluestone, Terasaki ve arkadaşları Gutlu hastalarda HLA tiplemesini çalışırken aynı özelliği keşfetmişlerdi. 1988 yılında buluşları ve araştırmaları ile ilgili raporunda belirttiği gibi; 20 AS'li hastanın %95'inde HLA-B27 pozitif.<sup>61,66</sup> HLA-B27 nin keşfi sadece belirgin patogenetik etkilerinden değil, aynı zamanda önemli bir tanısal ve prognostik araç olduğu için dönüm noktası olan bir buluş olmuştur. Bundan sonra diğer pek çok çalışmalarda benzer ilişki teyit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada genel Kafkas popülasyonunda HLA-B27 yaklaşık %8 oranında pozitif bulunurken, AS 'li Kafkas hastalarda ise bu oranın %90-95 olduğu bildirilmiştir. HLA-B27 ilişkisinde farklı ırk ve etnik gruplarda anlamlı farklılıklar olduğu görülmüştür.<sup>66</sup>

### **2.3.1.2. HLA-B27 ve Ankilozan Spondilit ilişkisi**

HLA-B27, MHC Sınıf I bölgesinde kodlanır. AS için bilinen en büyük riski oluşturur ve Avrupa kökenli AS olgularının %90'dan fazlasında tesbit edilebilir. Reaktif artritli hastalarda yaklaşık %70 oranında HLA-B27 pozitifliği vardır. Afrika kökenli ReA'lı hastalarda HLA-B27 ilişkisi gözlenmemiştir.<sup>67</sup> Ancak HIV ilişkili ReA ve spondiloartrit ile HLA-B27 ilişkisi vardır. HLA-B27; psoriyatik spondilitte %60-70 hastada, periferik psoriyatik artritte %25 hastada pozitif bulunmuştur. İrritabl bağırsak sendromu ilişkili spondilitte, vakaların %70'inde HLA-B27 pozitifdir. Bununla birlikte asemptomatik sakroileitle HLA-B27 ilişkisi tespit edilememiştir. Tek başına Akut anterior üveiti bulunan yaklaşık %50 hastada HLA-B27 pozitifdir.<sup>67</sup>

### **HLA-B27'nin AS riskine katkısı nedir?**

HLA-B27'nin hastalığın gelişmesindeki etkisinin altında yatan mekanizma net değildir. Bu konuda 5 tane teori vardır:

1) Artritogenik peptid hipotezi: Bu hipotez, AS'nin HLA-B27'nin bakteri aracılığıyla veya kendi kendine tek veya bir grup antijenik peptide bağlanma yeteneği temeline dayanmaktadır. Hastalık, bir HLA-B27 sınırlı sitotoksik T hücrelerinin sadece eklemlerde ve diğer etkilenmiş dokularda bulunan peptit veya peptitlere yanıtından kaynaklanmaktadır. Böyle bir peptit ile ilişkili olabilir ve tüm hastalıkla ilişkili HLA-

B27 alt tipleri tarafından sunulabilir. Ancak diğer HLA Sınıf 1 molekülleri tarafından sunulamazlar. Patojenik T hücreleri; eklem, genital bölge veya bağırsak mukozası gibi yerlerde oluşabilir ve bunlar daha sonradan başlangıçta HLA-B27 tetikleyen bir patojenden köken alan peptit veya peptit türevlerinin tanınmasını sınırlayarak antijenlere karşı otoimmün toleransın bozulmasına yol açabilir. Bu hipotez için kanıtlar <sup>68</sup> Chlamydia Trachomatis proteomundan HLA-B27 sınırlı peptitlerin tanımlanması ile elde edilmiştir. Bu, endojen B27 peptitleri ve çevresel antijenler arasındaki moleküler benzerlikte olduğu gibidir. Bu fikir, reaktif artritli hastalarda farklı HLA-B27 pozitif hastalar arasındaki ortak TCR  $\beta$ -zincir sekanslarının ve CD8+T hücrelerinin AS varlığı ile bağlantılı olarak HLA-B27 sınırlanmış kendi epitoplarına gösterdiği otoprotein reaksiyonun gösterilmesiyle ortaya atılmıştır. Ancak "artritogenik peptit"in henüz daha gösterilmemiş olması ve daha önceden tanımlanan destekleyici bulgulardan hiçbirinin, hastalıkla HLA-B2706 ve B2709'un düşük ilişkisini henüz açıklayamamış olması bu teorisin açmazlarıdır.<sup>69-71</sup>

## 2) HLA- B27 homodimer formasyonu

HLA-B27'nin 67. pozisyonunda sistein kalıntısı taşıdığı gözlenmiş ve bu kalıntının değiştirilebileceği ya da tiyol içeren moleküllerle disülfür bağı oluşturabileceği düşünülmüştür. Bunun sonucu antikör aracılı bir tepki ortaya çıkabilir. Alternatif olarak; bu amino asitin modifikasyonu, peptid bağları üzerinde oldukça önemli bir etkiye sahiptir. HLA-B27, bu modifikasyonlar sonucu homodimerler oluşturabilir. Ancak transgenik varyasyonda çok az bir artrit oluşmaktadır.<sup>72,73</sup> Ayrıca pozisyon 67'deki sistein kalıntısı sadece HLA-B27 ye özgü değildir. Pozisyon 67 deki sistein HLA-B14'te de bulunur.<sup>72,73</sup>

### 3) İntraselüler invazyon/öldürme farklılıkları:

Artrite sebep olabilen moleküller ReA'nın hücresel temeline esas oluşturabilir. Ancak sinovisitlerde bakterisidal yolların moleküler esası henüz tam olarak çözülememiştir. Yapılan bir çalışmada HLA-B27-pozitif U937 hücrelerinin, *Salmonella* hücrelerini yok etmede HLA-B27-negatif olanlara göre daha az etkili olduğu bulunmuştur. Aynı araştırmada HLA-B27-pozitif U937 hücreleri HLA-B27-negatif olanlarla karşılaştırıldığında IL-10 üretiminin daha az, tümör nekroz faktör (TNF) üretimi ise daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle HLA-B27 ilişkili sitokin cevap profilinin düzenlenmesinin ReA'n patogenezinde önemli olabileceği söylenebilir.<sup>74,75</sup>

4) Otoantijen olarak HLA-B27; HLA-B27 ve CD4+ T hücrelerince tespit edilebilir ve HLA Sınıf II molekülleri ile CD4+ T lenfositlere sunulabilir.<sup>75</sup> HLA-B27 transgenik fareler B27 pozitif splenosit veya plazmid DNA'sı kullanılarak B27'nin immünizasyonuna izin verirler ve anti-B27 sitotoksik T lenfosit oluşturmazlar. Eğer böyle immunize edilmiş hayvanların splenositleri in vitro olarak *Clamidia*'ya maruz bırakılırsa HLA B 27+ hedefleri parçalayan CTL'ler üretilir fakat kontrol HLA B7-B14-B40 ve B44 transfekte hedeflere karşı reaksiyon oluşmaz. Bu da HLA-B27'nin tek başına veya değişik bir formunun hastalık gelişimini yönlendirebileceğini düşündürmektedir.<sup>75,76</sup>

### 5) Moleküler taklitçi hipotez

Hastalığın HLA-B27 nin tek bir parçası ve belli bakteriyel epitoplar arasındaki çapraz reaksiyon sonucu oluşan bir antikordan kaynaklandığı ileri sürülmektedir. HLA-B\*2705 72-77 pozisyonlu amino asitin, hem *Klebsiella*'daki nitrat redüktaz enzimi hem de *Shigella Fleksneri*'nin plazmid gen ürünü arasında moleküler moleküler bir

benzerliğin olduğu tesbit edilmiş ve bunlara karşı oluşan antikorun varlığı AS'li hastalarda bulunmuştur. Ancak, bu amino asit alanı, AS hastalığıyla ilişkili subtip olan HLA-B2702 ve HLA-B2704 te bulunmamıştır.<sup>77-79</sup>

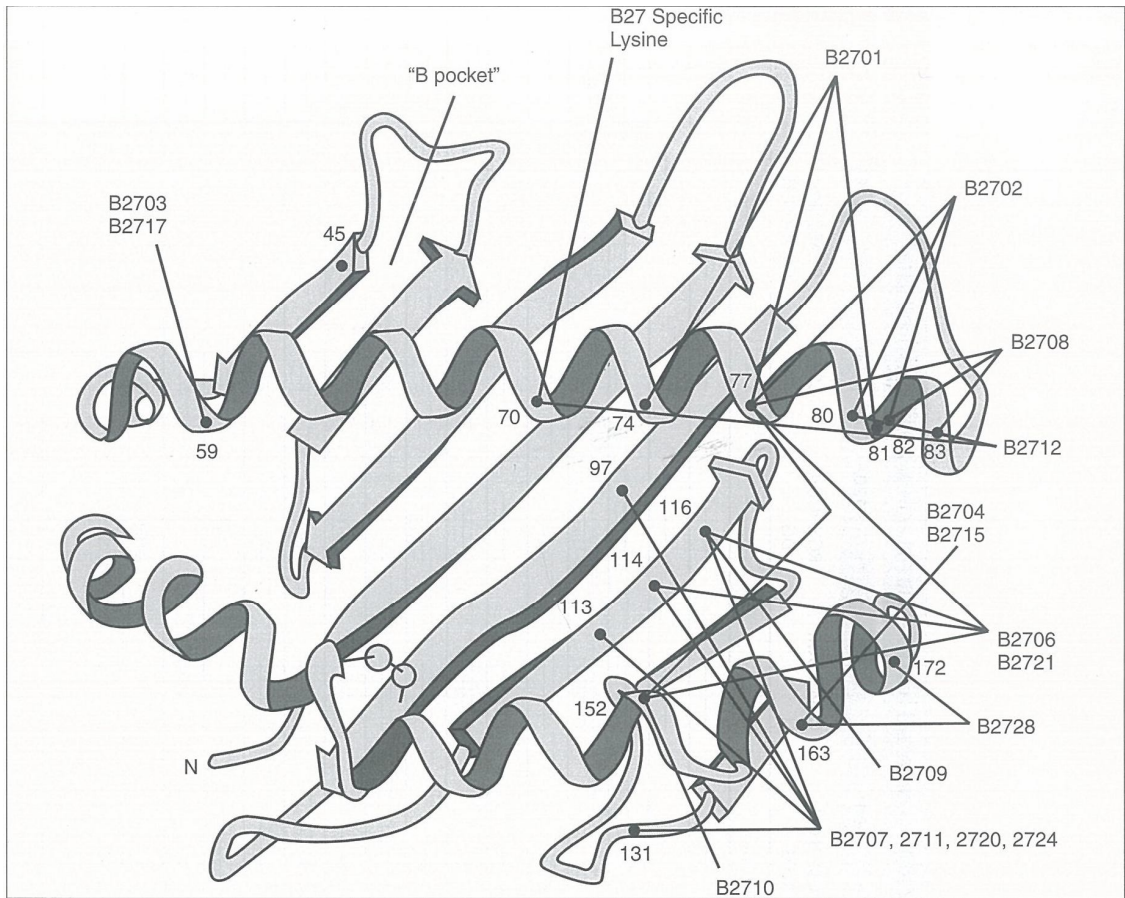
#### **2.3.1.2.1. HLA-B27'nin alt tiplerinin AS riskine katkısı nedir?**

HLA-B27'nin şimdiye kadar 27'den fazla moleküler alt tipi tanımlanmıştır. Bu alt tipleri yalnızca çok az sayıdaki amino asit ile peptit bağlayıcı moleküllerin özellikleri açısından birbirinden farklılık gösterir. HLA-B\*2705 tüm popülasyonlarda bulunur (Tablo-2). Diğer alt tiplerin çoğunluğu,  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  alanlarındaki aminoasitlerin değişimi sonucu oluşabildiği gibi veya tek başına coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterir<sup>80</sup>. Birinci alternatifte  $\alpha 1$  bölgesinde değişim söz konusudur ve HLA-B27 alt tiplerinin sayısına bağlıdır. Bu yolak Avrupa'da yerleşen Kafkasyalı ve Afrikalılarda görülür. İkinci alternatif, polimorfizm miktarına bağlıdır ve Doğu Asya'da görülür;  $\alpha 1$  alanında değişim olmaksızın ve  $\alpha 2$  alanında farklı kalıp değişiklikleriyle oluşur. Üçüncü alternatif Güney Asya ve Orta Asya 'da görülür ve  $\alpha 1$  bölgesi değişmezken  $\alpha 2$ 'de farklılık gösteren HLA-B\*2705' e özgü alt tipleri içerir. Birçok alt grup (HLA-B2705, B\*2702, B\*2704 ve B\*2707) açık şekilde spondiloartrit ile ilişkilidir. HLA-B27'nin iki alt tipinden HLA-B\*2706 Güney Doğu Asya'da, B\*2709 Sardinya'da bulunur ve AS ile ilişkileri tespit edilmemiştir (Tablo-2). Bu, HLA-B27 subtipleri tarafından sunulan peptitlerin kompozisyonunu değiştirebilen antijeninin bağlanma bölgesinin "B" cebindeki muhtemel aminoasit farklılığından kaynaklanır.<sup>80,81</sup>

AS ile ilişkili HLA-B2705 ve ilişkisiz HLA-B\*2709 alt tipleri arasındaki farklılık, 116. pozisyonda aspartat artığının histidine değişimi ile oluşur (Şekil 6). HLA-B27 nin diğer alt tipleri, çok az sıklıkla hastalık oluşumuna katkıda bulunurlar. AS



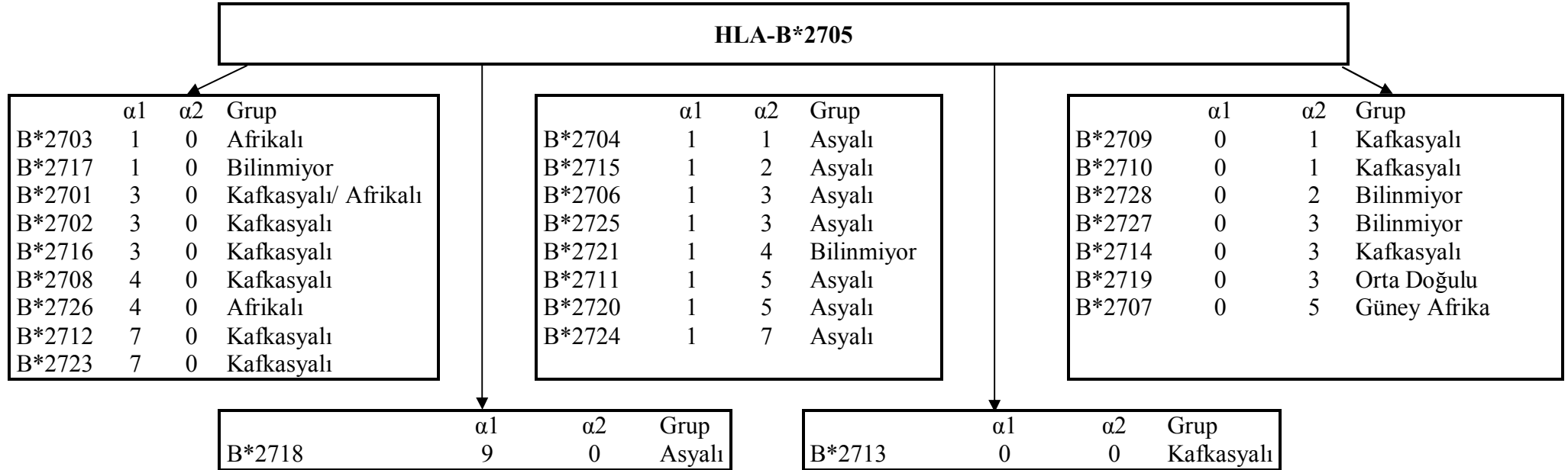
vakalarının genellikle B\*2701, \*2703, \*2704, \*2707, \*2708, \*2710, \*2714, \*2715 ve \*2719 taşıdıkları bildirilmektedir.<sup>82,83</sup> HLA-B27'nin hastalık üzerinde etkisinin gerçek mekanizması hala tam olarak aydınlatılmamıştır. Bir MHC Sınıf I protein olarak HLA-B27'nin klasik fonksiyonu; endojen (viral, bakteriyel, tümoral) peptitleri, sitotoksik (CD8+) T lenfosit üzerindeki alfa-beta T-hücre antijenlerine sunmaktır. Bununla beraber klasik antijenlerde gösterdiği role ek olarak, HLA Sınıf I proteinleri; NK hücreleri üzerindeki öldürücü immünglobulin reseptör ailesinin bir üyesi olarak da bilinir ve bu özelliğinin hastalığa yatkınlıkta nasıl bir katkı sağladığı netlik kazanmamıştır.<sup>82,83</sup>



**Şekil 6.** HLA-B27'nin amino asit yerleşim pozisyonlarını gösteren kristal yapı

**Tablo 2.** HLA-B\*2705'den HLA-B27 subtiplerinin muhtemel oluşum yolağı

HLA B-27 subtiplerinin 3 majör grubunun ebeveyn HLA B\*2705 ile ilişkisini gösteren  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  domainlerindeki B\*2705 de yerleşen amino asit sayısı subtiplerin tanımlandığı  $\alpha 1$  domainine 1 amino asit  $\alpha 2$  domaininde 1 amino asit yerleşerek veya değişerek HLA-B27 den farklı bir subtip ortaya çıkar.



### **2.3.1.2.2. AS’ de $\beta$ 2 Mikroglobulinsiz HLA-B27 ve HLA-B27 proteininin yanlış katlanma ilişkisi**

HLA-B27’nin klasik yapısının yanı sıra  $\beta$ 2M parçası olmadan da artrite zemin hazırlayabildiği gösterilmiştir. Klasik dörtlü yapısı olmadan da HLA-B27 molekülünün artriti başlatabilmesi CD8 T lenfositlere antijen sunma mekanizmasından başka mekanizmaların rol aldığını düşündürmektedir.<sup>84</sup>

HLA- B27 homodimerlerinin patogenezdaki rolüne ek olarak  $\beta$ 2M’in olmadığı HLA-B27 ağır zincirin de artrite sebep olabilmesinin diğer bir muhtemel açıklaması da HLA-B27 proteinlerinin yanlış katlanması ve Endoplazmik retikulumun (ER) yanlış katlanmış proteinlerle dolmasıdır.<sup>8</sup> Endoplazmik retikulum içinde HLA molekülü ilk olarak serbest ağır zincir olarak üretilir ve daha sonra  $\beta$ 2M ve antijenik peptitler eklenir. Ancak bütün komponentler eklenince molekül matür hale gelerek hücre yüzeyine taşınır.<sup>85</sup>

Maturasyonun farklı fazları sırasında molekül farklı yapılar kazanır. Bu olay “katlanma” olarak isimlendirilir. Molekülün katlanma hızı da kaderini belirler. HLA-B27 diğer HLA alellerinden çok yavaş katlanması açısından farklıdır. Molekül bu evreye ulaşmadan önce katlanmamış haldedir. Genelde katlanmamış moleküller ER içinde kalır ve birikirler. Genelde ER de katlanmamış proteinler biriktiğinde “katlanmamış protein cevabı” denilen bir sinyal iletisi başlar. Bu genelde NFkB aktivasyonuna sebep olur ve artrite sebep olan proinflamatuvar sitokinlerin salınımı ile sonuçlanır. SpA’sı olan hastalarda sinoviyal sıvı mononükleer hücrelerinde katlanmamış protein cevabı olduğu gösterilmiştir.<sup>85</sup>

### **3. MATERYAL METOD**

#### **3.1. Materyal**

Bu çalışmada Fizik Tedavi, Dahiliye, Romatoloji ve Ortopedi servislerine AS ön tanısıyla 2001-2009 yılları arasında laboratuvarımıza HLA-B27 tetkiki için başvurmuş 980 hasta dahil edildi. Hastalardan HLA -B27 pozitif olanlar çalışmaya dahil edilmedi, HLA-B27 negatif olan 189 hasta çalışmaya alındı.

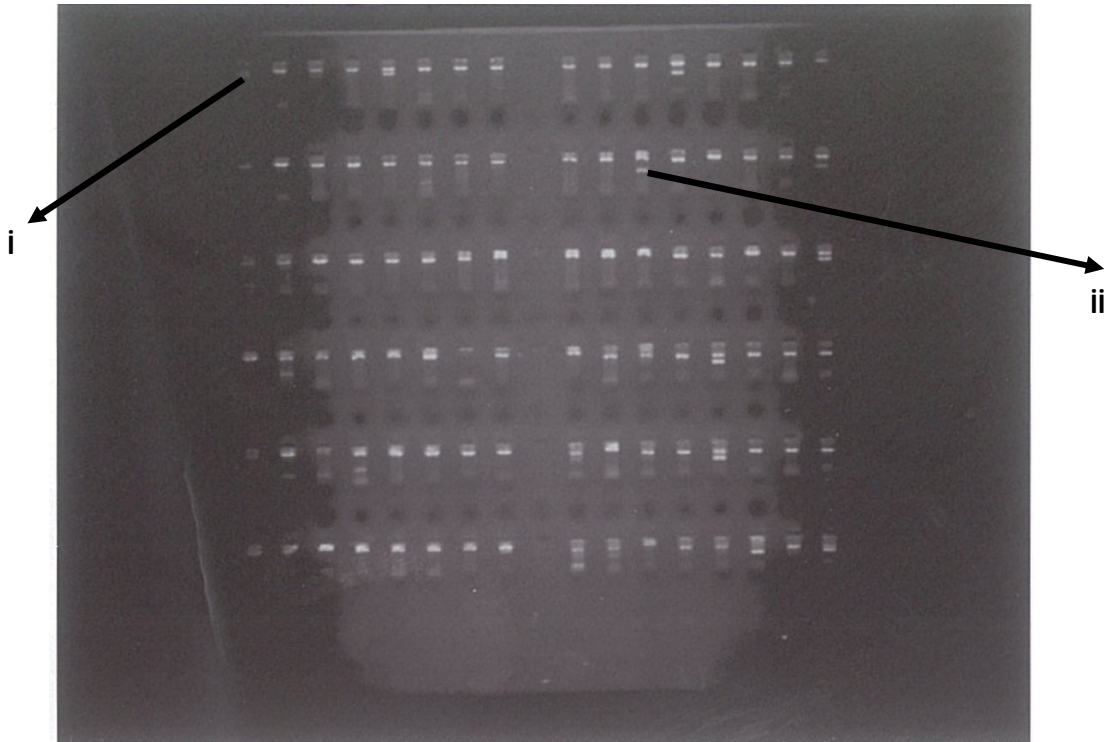
#### **3.2. Metod**

HLA -B27'si negatif Ankilozan Spondilit ön tanılı hastaların HLA Sınıf I antijen dağılımını saptamak için Moleküler PCR'a dayalı ve Serolojik (mikrolenfositotoksitite) teknikler uygulandı. Moleküler testler için hastalardan hemogram tüpüne 2 ml kan alınarak otomatize DNA izolasyon cihazında (MagNA Pure Compact-Roche) DNA'lar izole edildi ve PCR-Sequence Spesific Primer (SSP) yöntemiyle doku tiplendirilmesi yapıldı. Serolojik yöntemde ise periferik kandan lenfosit izolasyon yöntemi ile izole olan hücreler Terasaki plaklarına döküldü. HLA Sınıf I antijenleri kompleman eşliğinde antijen antikor reaksiyonuyla tespit edildi

##### **3.2.1. Moleküler Yöntemlerle Yapılan Doku Tiplendirmesi PCR-SSP**

Pre -PCR aşamasında 1500 ml lik ependorf tüpe 624 µl distile su, 312µl Master mix (buffer, MgCl, dNTP), 105 µl hasta DNA'sı ve 8,5 µl enzim (Tag DNA polimeraz) katılır. Karışım vortekslendi. Kit olarak satılan HLA ABC'de 96 kuyucuk bulunmaktadır. Bu kuyucukların ilk 24 ünün içinde allele spesifik HLA A primerleri, 48 kuyucuğunda HLA B primerleri ve son 24 kuyucuğunda da HLA C primerleri bulunur. Hazırlanan karışım kuyucuklara 10'ar µl dağıtıldı. Pleytin kapağı kapatılarak termal

cycler cihazına yerleştirildi. (BIO-RAD MY CYCLER), genomik DNA'nın denatürasyon basamağı ( $96^{\circ}\text{C}$  2 dakika), primerlerin bağlanması ( $96^{\circ}\text{C}$  15 dak,  $65^{\circ}\text{C}$  60 saniye) uzama basamağı ( $96^{\circ}\text{C}$  15 saniye,  $61^{\circ}\text{C}$  50 saniye,  $72^{\circ}\text{C}$  de 30 saniye) basamağını kapsayan PCR programı ile HLA-A, -B, -C lokuslarındaki hastanın HLA antijenlerinin ampliconları elde edildi, Ampliconlar %2'lik agaroz jel elektroforezinde 10-15 dakika yürütüldü. Yürütme işleminden sonra bantlar transilimatör cihazında görüntülendi. Skor programı (Helmbery Score 3.318T) kullanılarak doku tiplendirmesi yapıldı. Şekil -7 de HLA A, -B, -C lokuslarındaki HLA allellerinin amplifiye olmuş kontrol bandına ilave bir bant ile görünmektedir. (i-kontrol bandı, ii-amplifiye bant) Şekil-7'de amplifiye olan bandın hangi HLA antijenine ait olduğu Tablo-3 deki lokus haritalarından ya da Helmbery Score 3.318T programından belirlendi.



**Şekil 7.** PCR–SSP yöntemiyle HLA Sınıf I doku tiplendirme reaksiyon bant görüntüleri



Tablo3. PCR-SSP analiz tablosu

| Tube No.                                                                                                                                         | 1  | 2  | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8  | 9   | 10  | 11  | 12         | 13         | 14  | 15  | 16 | 17         | 18  | 19   | 20  | 21  | 22  | 23  | 24                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|------------|------------|-----|-----|----|------------|-----|------|-----|-----|-----|-----|------------------------------|
|                                                                                                                                                  | 1H | 1G | 1F  | 1E  | 1D  | 1C  | 1B  | 1A | 2H  | 2G  | 2F  | 2E         | 2D         | 2C  | 2B  | 2A | 3H         | 3G  | 3F   | 3E  | 3D  | 3C  | 3B  | 3A                           |
| Size of PCR Product [bp]                                                                                                                         | -  | 80 | 135 | 230 | 480 | 210 | 210 | 95 | 200 | 475 | 75  | 285<br>170 | 200<br>170 | 95  | 200 | 90 | 265<br>180 | 260 | 200  | 155 | 140 | 375 | 70  | 188<br>75                    |
| A Allele Specificity                                                                                                                             |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     |                              |
| Negative Control                                                                                                                                 | 1  |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | Ser. Type                    |
| A*0101-09,11N,14-16N,18N,20,22-30                                                                                                                |    | 2  |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A1, -, (Null)                |
| A*0110,21                                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*0112,19 / 1117,19                                                                                                                              |    |    |     |     | 5   |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | - / -                        |
| A*0113,17                                                                                                                                        |    | 2  |     |     |     |     |     |    |     |     |     | 12L        | 14         |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*0201-09,11-16,18-26,28-33,36-41,43-47,49,51,53N, 54,57-60,63-72,74-80,82-86,88-92,94,96-99, 9201,02,04-07,09,11,13N,15,16,18-21,23,25-28,30-34 |    |    |     | 3   |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A2, -, A203, (Null)          |
| A*020109,0117,42,48,61                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*0210,52,73,93,95, 9214,17                                                                                                                      |    |    | 3   |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     | 21  |     |     | A210, -                      |
| A*0217, 9208                                                                                                                                     |    |    | 3   |     |     | 6   |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A2                           |
| A*0227                                                                                                                                           |    |    | 3   |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     | 23  |     | -                            |
| A*0234,3501,56,62                                                                                                                                |    |    | 3   |     |     |     |     |    |     |     |     | 12L        |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A2, -                        |
| A*0250, 9222 / 6810,13,14,30                                                                                                                     |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     | 21  |     |     | A2 / -                       |
| A*0255                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     | 22  |     | 24s | -                            |
| A*0281,87, 9212,24                                                                                                                               |    |    | 3   |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            | 18  |      |     |     |     |     | -                            |
| A*9210                                                                                                                                           |    |    | 3   |     |     | 6   |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     | 21  |     |     | -                            |
| A*0301-04,07,09,11N,13-17,19-31,33-35,37,38                                                                                                      |    |    |     | 4   |     |     |     |    |     |     |     | 12L        |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A3, -, (Null)                |
| A*0305,06,10 / 023502,3503, 9203                                                                                                                 |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     | 12L        |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A3, -                        |
| A*0308,12,32,36N                                                                                                                                 |    |    |     | 4   |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*0318                                                                                                                                           |    | 2  |     |     |     |     |     |    |     |     |     | 12L        |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*1101-03,05-07,09,13-15,20-22,26,27,29,30,32                                                                                                    |    |    |     |     | 5   |     |     |    |     |     |     |            |            |     | 14  |    |            |     |      |     |     |     |     | A11, -, (Null)               |
| A*1104                                                                                                                                           |    |    |     |     | 5   |     |     |    |     |     |     |            |            |     | 14  |    |            |     |      |     |     | 23  |     | A11                          |
| A*1108,23-25,31                                                                                                                                  |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     | 14  |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*1110                                                                                                                                           |    |    |     |     | 5   |     |     |    | 9   |     |     |            |            |     | 14  |    |            |     |      |     |     |     |     | A11                          |
| A*1111                                                                                                                                           |    |    |     |     | 5   |     |     |    |     |     |     |            |            | 13L | 14  |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*1112,18                                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*1116                                                                                                                                           |    |    |     |     | 5   |     |     |    |     |     |     |            |            |     | 14  |    |            |     |      |     | 21  |     |     | -                            |
| A*2301,03-08N,10-13,15,16 / 241301,18                                                                                                            |    |    |     |     |     | 6   |     | 8  |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A23(9), -, (Null), -         |
| A*2309 / 2424                                                                                                                                    |    |    |     |     |     | 6   |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | - / -                        |
| A*2314 / 241302,14,15,51-54,57,64 / 9229                                                                                                         |    |    |     |     |     |     |     | 8  |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | - / A24(9), -                |
| A*2402,03,05-07,09-11N,17,20-23,25-27,30,32-41,43,45N-50,55,56, 58-63,66,68-81,83N / 2302                                                        |    |    |     |     |     |     |     | 7  | 8   |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A24(9), A9, A2403, (Null), - |
| A*2404,08,28,29,31,42,67                                                                                                                         |    |    |     |     |     |     |     | 7  |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A24(9), -                    |
| A*2419                                                                                                                                           |    |    |     |     | 5   |     |     | 7  |     |     |     |            |            |     | 14  |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*2444                                                                                                                                           |    |    |     |     | 5   |     |     | 7  |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*2482                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     | 7  | 8   |     |     |            |            |     |     |    |            | 17L |      |     |     |     |     | -                            |
| A*2501,05                                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   | 10  |     | 12s        |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A25(10), -                   |
| A*2502                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   | 10  |     | 12s        |            | 14  |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A10                          |
| A*2503                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     | 10  | 12s        |            |     |     |    |            | 18  |      |     |     |     |     | -                            |
| A*2504                                                                                                                                           |    |    |     |     | 5   |     |     |    |     |     | 9   | 10         | 12s        |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*2506                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     | 9   | 10         |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*2601,02,10-12,14,15,17,18,23-28,32,35                                                                                                          |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     | 11  | 12s        |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A26(10), A10, (Null), -      |
| A*2603,05,06,21,30                                                                                                                               |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     |     | 12s        |            |     |     |    |            |     |      |     |     | 24s |     | A26(10)                      |
| A*2604,09,29,34                                                                                                                                  |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     | 11  |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A26(10), -                   |
| A*2607,16,20                                                                                                                                     |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     | 11  | 12s        |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A26(10), -                   |
| A*2608                                                                                                                                           |    |    |     |     | 5   |     |     |    | 9   |     | 11  | 12s        |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A26(10), -                   |
| A*2613,33                                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     | 11  | 12s        |            | 14  |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*2619                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     | 12s        |            | 14  |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*2622                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     | 11  | 12s        |            |     |     |    |            |     |      |     | 22  |     |     | -                            |
| A*2631                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     | 12s |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*2901-06,08N,09-12,15-17                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            | 15  |      |     |     |     |     | A29(19), (Null), -           |
| A*2907                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     | 6   |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            | 15  |      |     |     |     |     | -                            |
| A*2913                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            | 15  |      |     |     |     |     | -                            |
| A*3001-20,23,24                                                                                                                                  |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     | 16   |     |     |     |     | A30(19), -                   |
| A*3022                                                                                                                                           |    |    |     | 3   |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     | 16   |     |     |     |     | -                            |
| A*3101-06,09,11-20 / 2914                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*3107,10                                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     | 17s  |     |     |     |     | A31(19), - / -               |
| A*3108                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     | 17sL |     |     |     |     | -                            |
| A*3121                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     | 8  |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     | 17L  |     |     |     |     | -                            |
| A*3201-03,06,08-15                                                                                                                               |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*3204                                                                                                                                           |    |    |     | 4   |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     | 18   |     |     |     |     | A32(19), -                   |
| A*3205                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     | 18   |     |     |     |     | -                            |
| A*3207                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     | 8  |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     | 18   |     |     |     |     | -                            |
| A*3301-07,10-13                                                                                                                                  |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     | 19  |     |     | A33(19), -                   |
| A*3308,09                                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*3401-06                                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     |     |            |            |     | 14  |    |            |     |      |     |     |     |     | A34(10), -                   |
| A*3407                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     |     |            |            |     | 14  |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*3408                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     | 12L        |            | 14  |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*3601,03                                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     | 23  |     | A36, -                       |
| A*3602                                                                                                                                           |    |    |     | 4   |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     | 23  |     | -                            |
| A*3604                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*4301                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     | 12s13L     |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A43                          |
| A*6601,04,06                                                                                                                                     |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     |     | 12s        |            | 14  |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A66(10), -                   |
| A*6602,03                                                                                                                                        |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     |     |            | 13s        |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A66(10), A10                 |
| A*6605                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     |     | 12s        |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*6801-04,06-09,11N,16-19,21-28,31-41                                                                                                            |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     | 21  |     |     | A68(28), A28, Null, -        |
| A*6805,15,20                                                                                                                                     |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     | 21  |     | 24s | A68(28), -                   |
| A*6812                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | A28                          |
| A*6829                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      | 19  | 21  |     |     | -                            |
| A*6901                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    | 9   |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     | 22  |     | A69(28)                      |
| A*7401-09,11,12N                                                                                                                                 |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     | 20  |     |     | A74(19), -, (Null)           |
| A*7410                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     |     | -                            |
| A*8001                                                                                                                                           |    |    |     |     |     |     |     |    |     |     |     |            |            |     |     |    |            |     |      |     |     |     | 24L | A80                          |
| Tube No.                                                                                                                                         | 1  | 2  | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8  | 9   | 10  | 11  | 12         | 13         | 14  | 15  | 16 | 17         | 18  | 19   | 20  | 21  | 22  | 23  | 24                           |
|                                                                                                                                                  | 1H | 1G | 1F  | 1E  | 1D  | 1C  | 1B  | 1A | 2H  | 2G  | 2F  | 2E         | 2D         | 2C  | 2B  | 2A | 3H         | 3G  | 3F   | 3E  | 3D  | 3C  | 3B  | 3A                           |



Tablo 3. Devami

| HLA-A* | 1                                                                                  | 2                                                                                    | 3                                                                                | 4                                                                                              | 5*                                                                                        | 6                                                                                        | 7                                                        | 8                                                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1      | Negative Control<br>800 bp IC<br>430 bp NC                                         | 01.. / 0318<br>800 bp IC<br>80 bp                                                    | 02.. / 3022<br>800 bp IC<br>135 bp                                               | 03.. / 3204 / 3602<br>800 bp IC<br>230 bp                                                      | 0112,19 / 11.. / 2419,44 / 2504 / 2608<br>800 bp IC<br>480 bp                             | 0217,9208,10 / 2301,03-13 / 241301,18,24 / 2907<br>800 bp IC<br>210 bp                   | 2302 / 24..<br>800 bp IC<br>210 bp                       | 9229 / 23.. / 24.. / 3108 / 3205<br>800 bp IC<br>95 bp                                                   |
| 2      | 1110 / 25.. / 26.. / 34.. / 66.. / 68.. / 69..<br>800 bp IC<br>200 bp              | 25..<br>1070 bp IC<br>475 bp                                                         | 26.. / 3319<br>800 bp IC<br>75 bp                                                | 0113.. / 0234.. / 03 / 3406 / 25.. / 26.. / 4301 / 6601,04...<br>800 bp IC<br>255 bp<br>170 bp | 1111 / 4301<br>6602,03<br>800 bp IC<br>200 bp<br>170 bp                                   | 0113,17 / 11.. / 2419 / 2502 / 2613... / 34.. / 6601,04...<br>800 bp IC<br>95 bp         | 29..<br>800 bp IC<br>200 bp                              | 30..<br>800 bp IC<br>90 bp                                                                               |
| 3      | 2482 / 2913,14 / 31..<br>800 bp IC<br>255 bp<br>180 bp                             | 0281... / 2503 / 32..<br>800 bp IC<br>280 bp                                         | 33.. / 6829<br>1070 bp IC<br>200 bp                                              | 74..<br>800 bp IC<br>155 bp                                                                    | 0210... / 1116 / 68..<br>800 bp IC<br>140 bp                                              | 0255 / 2622 / 68..<br>800 bp IC<br>375 bp                                                | 0227 / 1104 / 36..<br>800 bp IC<br>70 bp                 | 80.. 0255 / 2603,05... / 6905...<br>800 bp IC<br>158 bp<br>70, 75 bp                                     |
| HLA-B* | 25                                                                                 | 26                                                                                   | 27                                                                               | 28*                                                                                            | 29                                                                                        | 30                                                                                       | 31                                                       | 32                                                                                                       |
| 4      | 1070 bp                                                                            | 07..<br>3707 / 4015.. / 4805,08,15 / 9530<br>800 bp IC<br>115 bp                     | 08..<br>800 bp IC<br>205 bp                                                      | 13.. / 1536,69 / 4408,57<br>800 bp IC<br>145 bp                                                | 14..<br>800 bp IC<br>260 bp                                                               | 1401,07N / 2712,16 / 3801... / 3901,03...<br>800 bp IC<br>215 bp                         | 1402... / 3528 / 3805 / 3904<br>800 bp IC<br>185 bp      | 1309 / 1501-02,04... / 3546 / 4021 / 4801...<br>800 bp IC<br>130 bp                                      |
| 5      | 1503,09,10,18,23... / 4012<br>800 bp IC<br>330 bp                                  | 1509,10,18,21,23,37...<br>1070 bp IC<br>400 bp                                       | ... / 0804,17 / 1503... / 3902,08... / 48..<br>800 bp IC<br>105 bp               | 1502... / 1822 / 35.. / 53.. / 57.. / 58..<br>800 bp IC<br>100 bp                              | 1516,17,67,95 / 1512,14,19... / 3545... / 4417,43 / 5807<br>800 bp IC<br>285 bp<br>190 bp | 1513,16,17,23...<br>800 bp IC<br>435 bp                                                  | 350202,2002 / 18..<br>800 bp IC<br>130 bp                | 27..<br>800 bp IC<br>155 bp                                                                              |
| 6      | ... / 35.. / 4406 / 51.. / 53.. / 78..<br>800 bp IC<br>390 bp                      | 0832 / 18.. / 35.. / 3711 / 3919 / 5606 / 78..<br>800 bp IC<br>130 bp                | 40.. 41.. / 4416 / 45.. 49.. 50..<br>1070 bp IC<br>315 bp                        | 37.. / 5303<br>800 bp IC<br>130 bp                                                             | 1548.. / 38.. / 39.. / 67..<br>800 bp IC<br>210 bp                                        | 38..<br>800 bp IC<br>110 bp                                                              | 14.. / 38.. / 3901,03... / (4075)<br>800 bp IC<br>400 bp | 07.. / 08.. / 14.. / 39.. / 40.. / 41.. / 42.. / 45.. / 48.. / 50.. / 67.. / 73..<br>800 bp IC<br>425 bp |
| 7      | 4001,07... / 4431 / 4606 / 4801(w),63... / 81.. (w) 9516,24<br>800 bp IC<br>165 bp | 13.. / 3546... / 4002... / 44.. 47.. 1314 / 4002...<br>800 bp IC<br>310 bp<br>185 bp | 08.. / 37... / 41.. / 42... / 44... / 83..<br>800 bp IC<br>180 bp                | 07 / 27 / 42.. 48.. 54.. 55.. 56 / 67 / 73 / 81.. 82.. / 83..<br>1070 bp IC<br>320 bp          | 3545,71 / 44.. / 5142 / 5707 / 83<br>800 bp IC<br>255 bp                                  | 4415.. / 45.. / 5002 / 5123<br>800 bp IC<br>250 bp                                       | 46..<br>800 bp IC<br>125 bp                              | 47..<br>800 bp IC<br>230 bp                                                                              |
| 8      | 2724 / 4031,45 / 48.. / 81..<br>800 bp IC<br>175 bp                                | 4013,19 / 4418,25,50 / 49..<br>800 bp IC<br>140 bp                                   | 49.. / 50.. / 51.. / 52.. / 55.. / 78<br>800 bp IC<br>205 bp                     | 2702,30 / 51.. / 52.. / 53.. / 57.. / 58..<br>800 bp IC<br>430 bp                              | 40.. 41.. / 4409,46 / 45.. 4702.. / 50..<br>1070 bp IC<br>130 bp                          | 13.. / 15.. / 40.. / 41.. / 44.. 45.. / 47.. / 49.. / 50.. / 52..<br>800 bp IC<br>200 bp | 150104 / 370104 / 54..<br>800 bp IC<br>215 bp            | ... / 54.. / 55.. / 59..<br>800 bp IC<br>235 bp                                                          |
| 9      | ... / 45.. / 49.. / 50.. / 56.. / 82..<br>800 bp IC<br>175 bp                      | 1516,17... / 57..<br>800 bp IC<br>95 bp                                              | 58..<br>800 bp IC<br>110 bp                                                      | ... / 4406 / 51.. / 53.. / 59<br>800 bp IC<br>85 bp                                            | 7301<br>800 bp IC<br>295 bp                                                               | 4406... 4410 w / 62..<br>1070 bp IC<br>540 bp<br>245 bp                                  | Bw4<br>800 bp IC<br>355 bp                               | Bw6<br>800 bp IC<br>355 bp                                                                               |
| Cw*    | 73                                                                                 | 74*                                                                                  | 75                                                                               | 76                                                                                             | 77                                                                                        | 78                                                                                       | 79                                                       | 80                                                                                                       |
| 10     | 1070 bp                                                                            | 01..<br>800 bp IC<br>240 bp                                                          | 02.. / 1511<br>800 bp IC<br>210 bp                                               | 0302,14,15<br>800 bp IC<br>235 bp                                                              | 02.. / 0302,04... / 1403 / 1502...<br>800 bp IC<br>240 bp                                 | 0303,04...<br>800 bp IC<br>210 bp                                                        | 0303,11... / 1512<br>800 bp IC<br>280 bp                 | 04..<br>800 bp IC<br>235 bp                                                                              |
| 11     | 0413 / 0517 / 0728 / 0801,03,06...<br>800 bp IC<br>150 bp                          | 06.. / 18..<br>1070 bp IC<br>125 bp                                                  | 05.. / 0605 / 0810 / 1221<br>800 bp IC<br>160 bp                                 | 0702,03... 0701,06...<br>800 bp IC<br>215 bp<br>110 bp                                         | 0501,03... / 0704,11,12 / 08..<br>800 bp IC<br>280 bp                                     | 0314 / 07... / 1214<br>800 bp IC<br>130 bp                                               | 08..<br>800 bp IC<br>160 bp                              | 1202,08,10,16,17<br>800 bp IC<br>155 bp                                                                  |
| 12     | 89<br>120301...<br>800 bp IC<br>95 bp                                              | 0104,09 / 0205,17,06... / 1203... / 1604<br>800 bp IC<br>215 bp                      | ... / 070107... / 080102 / 0611 / 0704,11,12..<br>1070 bp IC<br>195 bp<br>125 bp | 0411 / 14..<br>800 bp IC<br>255 bp                                                             | 1208 / 15..<br>800 bp IC<br>165 bp                                                        | 16..<br>800 bp IC<br>215 bp                                                              | 17..<br>800 bp IC<br>180 bp                              | 04.. / 0708 / 18..<br>800 bp IC<br>310 bp                                                                |

### 3.2.2. Lenfositotoksitite Yöntemi

HLA Sınıf I antijenlerinin belirlenmesinde serolojik yöntemlerden mikrolenfositotoksit yöntemidir. Çalışmamızda Fizik Tedavi, Dahiliye, Romatoloji ve Ortopedi servislerinden AS ön tanılı hastalardan alınan kan örneklerinden izole edilen lenfosit hücreleri Sınıf I HLA antijenlerinin tayini için anti HLA antikoru ile reaksiyona sokuldu. Serolojik tayinlerde bireye ait lenfositler her bir kuyucuğunda farklı anti HLA antikoru olan Terasaki plak içine döküldü ve antijen–antikor reaksiyonu tavşan komplemanı birlikte antijen–antikor-kompleman üçlü kompleksi meydana gelir. Terasaki plaklarının içinde kuyucuklarda bireye ait lenfosit yüzey antijenleri ile reaksiyona girecek anti-serum bulunmuyorsa antijen–antikor kompleksi oluşmayacaktır. Kuyucuklara eklenen boya (Stain–fix), kompleman tarafından zar geçirgenliği bozulan lenfositlerin içine gireceğinden faz kontrast mikroskopta yapılan incelemede anti-serumla ile bağlanan lenfositler, bizim o bireye ait HLA Sınıf I antijenlerini tanımlamamızı sağlar.

Serolojik yöntemler sadece HLA –A,- B,- C antijenlerini belirlemede kullanılır. Bu yöntemler basit ve hızlı sonuç vermesine rağmen antijen antikor birleşmesine ve kompleman bağımlı olması, değerlendirmenin boya almış hücre oranı ile yapılması dezavantajdır.

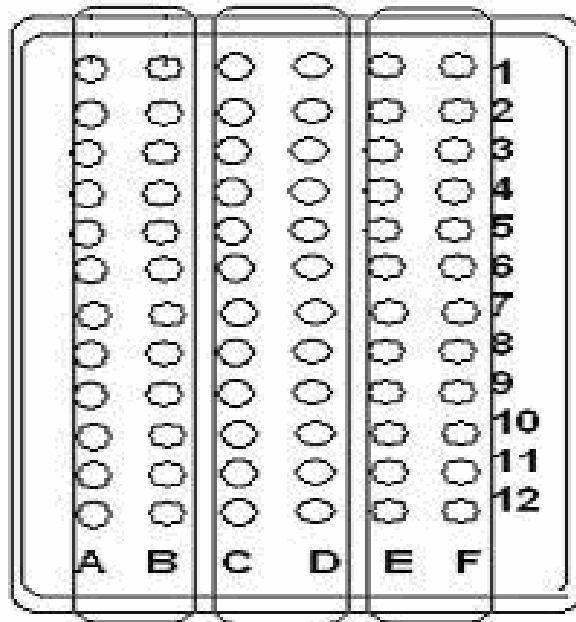
#### 3.2.2.1. Lenfosit izolasyonu

Laboratuara başvuran hastalardan 5 ml heparinli tüpe kan alındı. Eşit miktarda fosfat tamponlu tuz solüsyonu (PBS) ilave edilerek ½ dilüe edildi. Dilüe edilen kan, 14 ml’lik plastik santrifüj tüplerine konulan 4 ml ficol üzerine eklendi. 2600 rpm de 20 dakika santrifüj edildi. Oluşan lenfosit halkası pastör pipetiyle ayrı bir santrifüj tüpüne



toplandı, 5 ml PBS ile 1800 rpm de santrifüj edildi. Süpernatant kısmı atıldı, 5ml amonyum klorür çözeltisinde 5 dakika bekletildi. 1500 rpm de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı atıldıktan sonra 3 kez PBS ile 1000 rpm de hücreler santrifüj edilerek yıkandı. Lenfositler 3 kez yıkamadan sonra RPMI 1640+%10 fetal calf serumu ile 50 µl da 4000 adet olacak şekilde sayıldı.

Lenfosit izolasyonu yapılan kişinin lenfosit hücreleri Terasaki plaklarındaki kuyucuklara döküldü (Şekil 8.). 30 dakika süresince inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda bütün kuyucuklara 5µl tavşan komplemanı ilave edilip 1 saat bekletildi. İnkübasyona süresi dolduktan sonra bütün kuyucuklara soft drop yöntemi ile boya döküldü. Sonuçlar invert ışık mikroskobunda değerlendirildi. Daha sonra faz kontrast mikroskobunda hücreler siyah canlı parlak olarak görülür. Antijen antikor reaksiyonu olmayan hücrelerde boyanma olmazken, antijen-antikor reaksiyonu görülen hücrelerde boyanma oldu. Eğer kuyucuklarda %100 boyanmış hücreler varsa 8, %60 ise 6, %50’de 4, %25’de 2, hücreler boyanmamışsa 1 olarak skorlandı.



Şekil 8. Terasaki plağı

#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Fizik Tedavi servisi, Dahiliye, Romatoloji ve Ortopedi servilerinden Ankilozan Spondilit ön tanısı ile takip edilen ve rutin tetkik olarak HLA-B27 istemiyle hastalardan alınan kan örneklerinden HLA Sınıf I doku tiplendirmesi (PCR-SSP ve Serolojik yöntemler ile yapıldı. Bu hasta grubundan HLA-B27 + olan AS ön tanılı bireyler çalışmaya katılmadı, HLA-B27 negatif olan AS ön tanılı 189 kişinin HLA A-B-C lokusları analiz edildi, Ek-1 'de, AS ön tanılı hastaların HLA Sınıf I antijenleri gösterilmiştir. Ek-2'de Kontrol grubu kemik iliği ve böbrek nakli bekleme listesinde yer alan 93 sağlıklı vericilerin HLA Sınıf I antijenleri verilmiştir. HLA-B27 negatif AS ön tanılı hastalarda Sınıf I dağılımının belirlenmesi için kontrol grubuyla karşılaştırılarak istatistiksel analizler yapıldı. AS ön tanılı ve kontrol grubunun her bir alleli için ayrı frekans değerleri, ki-kare testi, önemlilik değerleri (p) ve odds oranı (OR) değerleri bulundu. Tablo 4 'de HLA-B27 'si negatif AS ön tanılı hastaların ve kontrol grubunun HLA -A alleleri için frekans değerleri, frekans yüzdeleri, ki-kare testi değerleri, p önemlilik, OR değerleri ve güven aralıkları verilmiştir. Tablo 5'de HLA-B27 si negatif AS ön tanılı hastaların ve kontrol grubunun HLA-B allelleri için frekans değerleri, frekans yüzdeleri, ki-kare testi değerleri, p önemlilik, odds oranı (OR) değerleri ve güven aralıkları verilmiştir. Tablo 6'da HLA-B27 si negatif AS ön tanılı hastaların ve kontrol grubunun HLA-C allelleri için frekans değerleri, frekans yüzdeleri, ki-kare testi değerleri, p önemlilik, odds oranı (OR) değerleri ve güven aralıkları verilmiştir Veriler SPSS 13. 0 /Windows programına göre analiz edilmiştir. Bu verilerden yola çıkarak HLA-B27 dışında HLA Sınıf I antijenlerinin AS ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. AS ön tanılı ve kontrol grubunda bulunan HLA-A antijen dağılımı, kontrol grubundaki HLA-A antijen dağılımından farklılık göstermemiştir. Aynı şekilde HLA-B ve HLA-C antijenlerin de AS ön tanılı hasta ve kontroller karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir.

**Tablo 4.** HLA A antijenlerinin 189 AS ön tanılı HLA-B27 negatif ve 93 kontrol olgusunda görülen fenotip sıklığı

| A ALLELERİ | HASTA FREKANSI | HASTA YÜZDESİ | KONTROL FREKANSI | KONTROL YÜZDESİ | Kİ-KARE | P     | OR    | GÜVEN ARALIĞI  |
|------------|----------------|---------------|------------------|-----------------|---------|-------|-------|----------------|
| A1         | 33             | 8.7           | 20               | 10.8            | 0.599   | 0.439 | 0.980 | 0.768 - 1.900  |
| A2         | 81             | 21.4          | 33               | 17.7            | 1.051   | 0.305 | 1.264 | 0.807 - 1.982  |
| A3         | 44             | 11.6          | 22               | 11.9            | 0.040   | 0.948 | 0.982 | 0.570 - 1.693  |
| A7         | 1              | 0.3           | 0.               | 0               | 0.493   | 0.483 |       |                |
| A11        | 37             | 0.8           | 15               | 8.1             | 0.443   | 0.506 | 1.237 | 0.660 - 2.317  |
| A19        | 3              | 0.8           | 0.               | 0               | 1.484   | 0.223 |       |                |
| A20        | 1              | 0.3           | 0.               | 0               | 0.493   | 0.483 |       |                |
| A23        | 13             | 3.4           | 10               | 5.4             | 1.196   | 0.274 | 0.627 | 0.270 - 1.456  |
| A24        | 62             | 16.4          | 36               | 19.4            | 0.757   | 0.384 | 0.818 | 0.519 - 1.288  |
| A25        | 1              | 0.3           | 1.               | 0.5             | 0.263   | 0.608 | 0.491 | 0.031 - 7.889  |
| A26        | 22             | 5.8           | 12               | 6.5             | 0.888   | 0.767 | 0.896 | 0.433 - 1.853  |
| A29        | 10             | 2.6           | 5                | 2.7             | 0.001   | 0.976 | 0.984 | 0.331 - 2.920  |
| A30        | 14             | 3.7           | 8                | 4.3             | 1.119   | 0.730 | 0.556 | 0.352 - 2.078  |
| A31        | 4              | 1.1           | 1                | 0.5             | 0.384   | 0.535 | 1.979 | 0.220 - 17.826 |
| A32        | 18             | 4.8           | 6                | 3.2             | 0.722   | 0.395 | 1.500 | 0.585 - 3.844  |
| A33        | 10             | 2.6           | 2                | 1.1             | 1.476   | 0.224 | 2.500 | 0.542 - 11.528 |
| A36        | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493   | 0.483 |       |                |
| A62        | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493   | 0.483 |       |                |
| A68        | 21             | 5.6           | 15               | 8.1             | 1.313   | 0.252 | 0.671 | 0.337 - 1.333  |
| A69        | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493   | 0.483 |       |                |

**Tablo 5.** HLA B antijenlerinin 189 AS ön tanılı HLA-B27 negatif ve 93 kontrol olgusunda görülen fenotip sıklığı

| B ALLELERİ | HASTA FREKANSI | HASTA YÜZDESİ | KONTROL FREKANSI | KONTROL YÜZDESİ | Kİ -KARE | P     | OR    | GÜVEN ARALIĞI |
|------------|----------------|---------------|------------------|-----------------|----------|-------|-------|---------------|
| B6         | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493    | 0.483 | 1.178 | 0.506 - 2.762 |
| B7         | 19             | 5.0           | 8                | 4.3             | 0.144    | 0.704 | 1.178 | 0.506 - 2.762 |
| B8         | 16             | 4.2           | 11               | 5.9             | 0.773    | 0.379 | 0.703 | 0.320 - 1.547 |
| B11        | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493    | 0.483 |       |               |
| B13        | 17             | 4.5           | 6                | 3.2             | 0.515    | 0.473 | 1.413 | 0.548 - 3.645 |
| B14        | 6              | 1.6           | 0                | 0               | 2.984    | 0.084 |       |               |
| B17        | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493    | 0.483 |       |               |
| B18        | 14             | 3.7           | 8                | 4.3             | 0.119    | 0.730 | 0.856 | 0.352 - 2.078 |
| B22        | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493    | 0.483 |       |               |
| B35        | 72             | 19.0          | 35               | 18.8            | 0.004    | 0.948 | 1.015 | 0.648 - 1.590 |
| B37        | 1              | 0.3           | 1                | 0.5             | 0.263    | 0.608 | 0.491 | 0.031 - 7.889 |
| B38        | 17             | 4.5           | 5                | 2.7             | 1.088    | 0.297 | 1.705 | 0.619 - 4.694 |
| B39        | 3              | 0.8           | 3                | 1.6             | 0.795    | 0.373 | 0.488 | 0.098 - 2.441 |
| B40        | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493    | 0.483 |       |               |
| B41        | 15             | 4.0           | 8                | 4.3             | 0.035    | 0.851 | 0.919 | 0.383 - 2.209 |
| B42        | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493    | 0.483 |       |               |
| B44        | 32             | 8.5           | 17               | 9.1             | 0.071    | 0.789 | 0.919 | 0.496 - 1.703 |
| B45        | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493    | 0.483 |       |               |
| B47        | 1              | 0.3           | 0                | 0               | 0.493    | 0.483 |       |               |
| B49        | 14             | 3.7           | 7                | 3.8             | 0.001    | 0.972 | 0.984 | 0.390 - 2.480 |
| B50        | 10             | 2.6           | 8                | 4.3             | 1.106    | 0.293 | 0.805 | 0.235 - 1.558 |
| B51        | 81             | 21.4          | 31               | 16.7            | 1.776    | 0.183 | 1.364 | 0.863 - 2.154 |
| B52        | 7              | 1.9           | 10               | 5.4             | 5.297    | 0.021 | 0.332 | 0.124 - 0.887 |
| B53        | 2              | 0.5           | 1                | 0.5             | 0.000    | 0.990 | 0.984 | 0.891 - 0.922 |
| B55        | 8              | 2.1           | 5                | 2.7             | 0.181    | 0.671 | 0.783 | 0.252 - 2.426 |
| B56        | 2              | 0.5           | 0                | 0               | 0.988    | 0.320 |       |               |
| B57        | 3              | 0.8           | 2                | 1.1             | 0.113    | 0.737 | 0.736 | 0.122 - 4.443 |

**Tablo 5 Devamı** HLA B antijenlerinin 189 AS ön tanılı HLA-B27 negatif ve 93 kontrol olgusunda görülen fenotip sıklığı

| <b>B<br/>ALLELERİ</b> | <b>HASTA<br/>FREKANSI</b> | <b>HASTA<br/>YÜZDESİ</b> | <b>KONTROL<br/>FREKANSI</b> | <b>KONTROL<br/>YÜZDESİ</b> | <b>Kİ -KARE</b> | <b>P</b> | <b>OR</b> | <b>GÜVEN<br/>ARALIĞI</b> |
|-----------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------|----------|-----------|--------------------------|
| B58                   | 2                         | 0.5                      | 4                           | 2.2                        | 3.114           | 0.078    | 0.242     | 0.044 - 1.334            |
| B60                   | 7                         | 1.9                      | 2                           | 1.1                        | 0.479           | 0.489    | 1.736     | 0.357 - 8.349            |
| B61                   | 1                         | 0.3                      | 0                           | 0                          | 0.493           | 0.483    |           |                          |
| B62                   | 5                         | 1.3                      | 3                           | 1.6                        | 0.075           | 0.784    | 0.818     | 0.193 - 3.459            |
| B63                   | 9                         | 2.4                      | 4                           | 2.2                        | 0.029           | 0.854    | 1.110     | 0.337 - 3.652            |
| B64                   | 1                         | 0.3                      | 0                           | 0                          | 0.493           | 0.483    |           |                          |
| B65                   | 4                         | 1.1                      | 0                           | 0                          | 1.962           | 0.159    |           |                          |
| B68                   | 2                         | 0.5                      | 0                           | 0                          | 0.988           | 0.320    | 0.995     | 0.987 - 1.002            |
| B33                   | 0                         | 0                        | 1                           | 0.5                        | 2.036           | 0.154    |           |                          |
| B54                   | 0                         | 0                        | 1                           | 0.5                        | 2.036           | 0.154    |           |                          |
| B66                   | 0                         | 0                        | 1                           | 0.5                        | 2.036           | 0.154    |           |                          |
| B73                   | 0                         | 0                        | 3                           | 1.6                        | 6.129           | 0.134    |           |                          |

**Tablo 6.** HLA C antijenlerinin 189 AS ön tanılı HLA-B27 negatif ve 93 kontrol olgusunda görülen fenotip sıklığı

| HLA C<br>ALLELLERİ | HASTA<br>FREKANSI | HASTA<br>YÜZDESİ | KONT<br>FREKANSI | KONTROL<br>YÜZDESİ | Kİ-KARE | P<br>DEĞERİ | O R   | GÜVEN<br>ARALIĞI |
|--------------------|-------------------|------------------|------------------|--------------------|---------|-------------|-------|------------------|
| Cw1                | 14                | 3.7              | 5                | 2.7                | 0.574   | 0.449       | 1.495 | 0.525 - 4.260    |
| Cw2                | 3                 | 0.8              | 3                | 1.6                | 0.666   | 0.415       | 0.516 | 0.103 - 2.599    |
| Cw3                | 19                | 5.0              | 7                | 3.8                | 0.586   | 0.408       | 1.456 | 0.594 - 3.578    |
| Cw4                | 73                | 19.3             | 34               | 18.3               | 0.454   | 0.500       | 1.183 | 0.725 - 1.929    |
| Cw5                | 19                | 5.0              | 13               | 7.8                | 0.522   | 0.430       | 0.742 | 0.352 - 1.562    |
| Cw6                | 29                | 7.7              | 17               | 9.1                | 0.163   | 0.686       | 0.875 | 0.459 - 1.670    |
| Cw7                | 53                | 14.0             | 34               | 18.3               | 1.177   | 0.278       | 0.756 | 0.456 - 1.254    |
| Cw8                | 4                 | 1.1              | 0                | 0                  | 2.116   | 0.140       |       |                  |
| Cw17               | 6                 | 1.6              | 2                | 1.1                | 0.316   | 0.574       | 1.584 | 0.315 - 7.976    |

## 5. TARTIŞMA

Genetik çalışmalarda belli HLA allellere sahip olan bireylerin, bu allellere sahip olmayan bireylere göre bazı otoimmün hastalıklara daha yatkın oldukları belirlenmiştir. Bunun en iyi örneği; Ankilozan Spondilit ve HLA-B27 ilişkisidir. Tahminen hasta bireylerin %90'nı bu alleli taşıırken, kontrol örneğindeki sıklığı %9'dur. HLA-B27 'ye ilave olarak diğer Sınıf I ve Sınıf II HLA genlerinin AS'in gelişiminde veya yatkınlığında rol oynayabileceği düşünülmüştür.<sup>46,47</sup>

Diğer bir otoimmün hastalık olan Tip I Diabet Pankreasda insülin üreten  $\beta$  hücrelerindeki harabiyet sonucu oluşan bir otoimmün hastalıktır. Tip I Diabetli hastaların %95'den fazlası DR3-DR4 taşıyıcısıdır.<sup>11,25</sup>

1970'lerden önce bu tip hastalıkların etyolojileri ve genetik karakterleri hakkında çok az bilgi vardı.<sup>59,60</sup> İlk olarak 1973'de Londra'da Brevverton ve arkadaşları, Los Angeles'da Schlosstein ve arkadaşları tarafından HLA-B27 ilişkisinin birbirinden bağımsız ve eş zamanlı olarak keşfedilmesi önemli bir gelişme olmuştur. AS ve HLA-B27 arasındaki önemli orandaki birliktelik hastalığın etyopatogenezinin anlaşılmasında önemli katkılar sağlamıştır.<sup>61,62</sup> Öncelikle AS'nin RA' ten farklı bir hastalık olduğu açık bir şekilde ortaya konmuş olup, yeni Sınıflama kriterlerinin geliştirilmesi için bir adım atılmıştır. Ayrıca genetik bir belirteç olan HLA-B27 ilişkisinin ortaya konması hastalığın ailesel karakterli olduğuna dair düşüncüyü güçlendirmiştir.<sup>62,63</sup>

Bluestone, Terasaki ve arkadaşları 1988 yılında yaptıkları çalışmalarda AS'li hastaların %95 inde HLA-B27 pozitif bulmuşlardır. HLA-B27 nin keşfi sadece belirgin patogenetik etkilerinden değil, aynı zamanda önemli bir tanısal ve prognostik araç olduğu için dönüm noktası olan bir buluş olmuştur. Bundan yola çıkılarak yapılan sonraki birçok araştırmada da aynı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan bir çalışmada genel

Kafkas popülasyonunda HLA-B27 yaklaşık %8 oranında pozitif bulunurken, AS'li Kafkas hastalarda ise bu oranın %90-95 olduğu bildirilmiştir. HLA-B27 ilişkisinde farklı ırk ve etnik gruplarda anlamlı farklılıklar olduğu görülmüştür.<sup>61, 66</sup>

Çoğu romatizmal hastalığın çevre ile genetik etkileşim sonucu oluştuğu bilinmektedir. Spondiloartrit ve özellikle AS bu etkileşimin en iyi örneklerindendir. Otuz yıldan uzun bir süre önce HLA-B27'nin AS ile olan ilişkisinin tanımlanması; modern genetik analiz çağında HLA ve diğer genetik belirteçlerin romatizmal hastalıklarla olan ilişkisinin araştırılmasında dönüm noktası oluşturmuştur.<sup>86,87</sup> Bazı olgularda daha az sonuç vermekle birlikte, çoğu AS'li olguda ve diğer bazı romatizmal hastalıkların belirlenmesinde, genetik belirteçlerin kullanılması güvenilirdir. HLA-B27 testi sıklıkla tanıda kullanılmaktadır. AS'nin HLA-B27 ile ilişkisi herediter bir belirtecin herhangi bir hastalıkla ilişkisinin en güzel örneklerinden birini teşkil etmektedir.

Bununla birlikte geride bir çok cevapsız soru hala güncelliğini korumaktadır. HLA-B27'nin AS'ye neden olduğu mekanizma günümüzde de tam olarak anlaşılamamıştır. Üstelik çoğu HLA-B27 pozitif bireylerde AS yada diğer spondiloartropatiler hiç gelişmeyebileceği gibi AS'li hastaların %5-10'unda HLA-B27 negatif olabilmektedir.<sup>88</sup> HLA-B27 pozitif olan hastalar ile HLA-B27 negatif olanların etyopatogenezinin aynı olup olmadığı da netlik kazanmamıştır. Bazı etnik gruplarda (Afrika kökenli, vb.), AS'li hastaların yarıya yakınında HLA-B27 negatiftir.<sup>88</sup> Sonuç olarak genetik yatkınlığı olan bireylerde spondiliti başlatan tetikleyicilerin ne olduğu hakkındaki bilgiler çok azdır. Bu zamana kadar yapılan çalışmalar, HLA-B27'nin spondiloartrit riskinin sadece bir kısmını açıklayabildiğini öne sürmektedir.<sup>88</sup> Genel popülasyonda HLA-B27 pozitif kişilerin %5'den azı spondiloartrit geliştirir. Öte yandan AS'li hastaların HLA-B27 pozitif akrabalarının %20'sinde spondiloartrit gelişmektedir.



Aile çalışmaları HLA-B27'nin spondiloartritler için tüm genetik riskin %37'sini teşkil ettiğini öne sürmektedir.<sup>88</sup>

AS 'de aynı zamanda B27'ye ilave olarak diğer MHC genlerinin de etkili olabileceği gösterilmiştir. Bu genleri tanımlama oldukça komplekstir. Geniş sistematik çalışmalar hala devam etmektedir. Bununla birlikte bugüne kadar MHC gen çalışmalarında, HLA-B27 dışında MHC genetik etkilerinin varlığının AS' ye yatkınlığı arttırdığına dair güçlü kanıtlar vardır.<sup>89</sup>

HLA DRB1\*01 ve HLA DRB1\*04 alellerinin AS'ye ek yatkınlık sağladıkları gösterilmiştir. Bununla birlikte HLA-B27 haplotipleriyle bağlantı, AS spondiloartritlere yatkınlığa bağımsız katkının ayırt edilmesini zorlaştırmaktadır. Ayrıca AS zemininde üveit ve juvenil başlangıçlı AS'ye yatkınlıkta HLADRB1\*08'de gösterilmiştir. Juvenil başlangıçlı AS hastalarında HLADPB1\*0301'in etkisi öne sürülmüş ancak herhangi bir bu konu netlik kazanmamıştır.<sup>90,91</sup>

AS insidansı farklı coğrafik bölgelerde ve etnik grup ve cinsiyete göre değişkenlik gösterdiği ortaya konulmuştur. Yapılan çalışmalarda kadınlarla karşılaştırıldığında erkeklerde insidansın 2-3 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ortalama başlangıç yaşının 3. dekatta olduğu ve tanıda gecikmenin 2 ila 5 yıl arasında değiştiği gösterilmiştir. Prevalans analizleri yapılırken önemli bir faktör HLA-B27 dağılımı ve hastalığın prevalansını etkileyen subtipleridir. B27'nin en yüksek dağılım gösterdiği yer Papua Yeni Ginedir ve burada yaşayan Pawaia adında bir kabileye aittir (%53). Batı Kanada adalarında %50, Sibiry eskimolarında %40 olarak rapor edilmiştir.<sup>92,93</sup>

Dünyada çeşitli populasyon gruplarında HLA-B27 prevalansı, Kafkas halk gruplarında ve Türklerde %7.8, Kuzey İskandinavya'da %10-16, Güneydoğu Asya'da

%4-12, Polinezya'da % 0-3, Afrika halk gruplarına örnek olarakta Kuzey Afrikada %1-5 olarak dağılım göstermektedir. Buna karşın HLA-B27 genetiksel olarak Güney Amerika, Güney Afrika ve Batı Polinesya popülasyonlarında hemen hemen hiç yoktur.<sup>94-97</sup>

AS'de HLA-B27 sıklığı çeşitli popülasyonlarda incelenmiştir. Schumacher ve ark. HLA-B27 prevalansını AS'de %100 olarak bulmuşlardır<sup>98</sup>. Yine 51 Kuzey Hindistan'lı ve 11 Norveç'li AS'li hasta ile yapılan çalışmalarda bu oran sırasıyla %94 ve %91 olarak bildirilmiştir.<sup>99,100</sup>

Ülkemizde Sarpel ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada HLA-B27 pozitifliği 87 AS'li hastada %77 olarak bildirilmiştir.<sup>101</sup> Yıldırım ve ark.nın İç Anadolu bölgesinde yapmış oldukları çalışmada AS'li hastalarda HLA-B27 pozitifliği %58.1 olarak belirlenmiştir.<sup>102</sup>

Ülkemizde tüm Türkiye'yi içine alan geniş çaplı HLA dağılımı analizleri bulunmamaktadır. Daha çok bölgesel ve dar kapsamlı çalışmalar vardır. Ülkemizde bizim çalışmamıza benzer, AS'li HLA-B27 dışında HLA alellerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Netice olarak HLA Sınıf I genleri ve AS arasındaki ilişki belirtildiği gibi iyi bilinmektedir, buna ilave olarak HLA-B27 dışında diğer Sınıf I ve Sınıf II HLA genlerinin AS gelişiminde ve yatkınlığında rol oynayabileceği ile ilgili net bir bilgi yoktur.<sup>103</sup>

Bu çalışmamızda AS ön tanısı ile laboratuvarımıza HLA-B27 tetkiki istemiyle gelen hastalarda HLA Sınıf I genlerini araştırdık ve kontrol grubuyla istatistiksel olarak karşılaştırdık. Literatürde HLA-B27 negatif olan AS'li hastalarda HLA-B60 ve B61

sıklığının fazla olduğu rapor edilmişse de bu bilgiler daha geniş hasta populasyonunda teyit edilmemiştir.<sup>104</sup>

Çalışmamızda HLA B60 allel sıklığını AS ön tanılı hastalarda istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı sıklıkta değildi. Ayrıca AS'li HLA-B27 negatif hastalarda HLA B7 ve B7 ile çapraz reaksiyona giren antijenlerin (HLA B13-B22-B27-B40) varlığı rapor edilmesine rağmen çalışmamızda bu allellerle hastalık ilişkisini istatistiksel olarak anlamlı bulamadık.<sup>104</sup>

Çalışmamızda HLA-B27 dışında aradığımız diğer bir HLA Sınıf I genini AS'li hastalarda sık bulsaydık, bulduğumuz HLA antijenlerinin yapısı ve peptit sunumu HLA-B27 ile karşılaştırılıp anlamlı benzerlik veya farklılıklarını izah ederek başka bir HLA Sınıf I geninin AS'in etyopatolojisindeki yerini belirtecektik.

## 6. KAYNAKLAR

1. Uçar F, Ovalı E, Değer O, Önder E, Kartı SS. MHC gen kompleksi ve HLA doku tiplemesi testlerinin önemi. İbni Sina Tıp Dergisi. 2001; 6: 117-124.
2. Majör Histocompatibility Complex", (Çevrimiçi)  
"http://www.dorak.info/mhc/mhc.html", 14.06.2007.
3. Halloran PF, The clinical importance of alloantibody mediated rejection. Am J. Transplant. 2003; 3: 639-640.
4. Temiz N. Akdeniz bölgesinde HLA (Human Leucocyte Antigens) tipleri ve sıklığının hesaplanması. Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans. Kahramanmaraş. 2005.
5. Kılıçturgay K, İmmünoloji. Motif Matbaacılık. Nobel & Güneş Tıp Kitapevi. 2003; 261:288.
6. Benacerraf B and Germain RN. The immune response genes of the major histocompatibility complex. Immunol Rev. 1978; 38: 70-119.
7. Choo SY. Immunogenics of the HLA system. Yonsei Med J. 1991; 32:1
8. Transplantasyon İmmünolojisi", (Çevrimiçi)  
[http://www.medicine.ankara.edu.tr/dahili\\_tip/nefroloji/files/Tximmunoloji.doc](http://www.medicine.ankara.edu.tr/dahili_tip/nefroloji/files/Tximmunoloji.doc),  
10.12.2006
9. Navarrete CV. The HLA system in blood transfusion. Baillière's Clin Haematol. 2000; 13:511 – 532.
10. Transplantasyon ve immün yanıt", (Çevrimiçi)  
"http://lokman.cu.edu.tr/anestezi/v\_cag/new\_page\_2.htm", 04.06.2007.
11. Abbas AK, Lichtman HA. Cellular and molecular immunology. Elsevier Saunders. 2005; 365-369.
12. Jing P and Wang E. Polimorphism in clinical immunology -Form HLA typing to immunogenetic profiling. J Trans Medicine. 2003; 1: 1-8.
13. Lawlor DA, Zemmour J, Enis PD and Parham P. Evolution of Sınıf I MHC genes and proteins: from natural selection to thymic selection. Annu Rev Immunol. 1990; 8: 23-63.
14. Geraghty DE. Structure of HLA Sınıf I region and exspression of resident genes. Curr Opin Immunol. 1993;5: 3-7.

15. Rollini P, Mach B, Gorski J. Linkage map of three HLA-DR beta chain genes: evidence for a recent duplication event. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1985; 82: 7197-7201.
16. Klein J. Sato A; The HLA System first of two parts. *N Engl J. Med* 2000: 702-709
17. Beksac M. Kan ve Kemik İliği 11 Transplantasyon Kursu Kitabı 2004: 42-49
18. Dalva K. XXXI Ulusal Hemotoloji Kongresi, IV Hemotoloji İlk Basamak Kursu Kitabı. 2004;1; 42-45
19. Ulbrecht M, Kellermann J, Johnson JP and Weiss EH. Impaired intracellular transport and cell surface expression of nonpolymorphic HLA – E: evidence for inefficient peptide binding. *J. Exp Med.* 1992; 176: 1083 – 1090.
20. Braud VM, Altan DSJ., O’Callaghan CA et al. HLA – E binds to natural killer cell receptors, *Nature*, 1998; 391:795 – 797.
21. Le Boiteller P. HLA class I chromosomal region, genes and products: fact and question. *Crit Rev Immunol.* 1994; 1: 89-129.
22. Loke YW and King A. Recent developments in the human maternal-fetal immune interaction. *Curr Opin Immunol.* 1991; 3:762-766.
23. Parham P. Immunology: keeping mother at bay. *Curr Biol.* 1996; 6; 638-641
24. "HLA Molecules, Biosynthesis and Expression", (Çevrimiçi) "<http://www.dorak.info/mhc/mhc.html>", 14.06.2007.
25. Abbas AK, Lichtman AH. Basic Immunology. Tercüme: Camcıoğlu Y, Deniz G. Temel İmmünoloji; İmmün sistemin işlev ve bozuklukları. İstanbul Medikal Yayıncılık. İstanbul Tıp Kitapevi. 2007; 41-177.
26. Endert PV and Villadangos JA. Antigen processing and recognition. *Curr Opin Immunol.* 2007; 19: 63-65.
27. Güneş HV. Moleküler hücre biyolojisi. Etam. Kaan Kitabevi. 2003; 356.
28. Cho S, Ataya M, Monaco JJ. New Sınıf II-like genes in the murine MHC. *Nature.* 1991; 353:573-576.
29. Sanderson F and Trowsdale J. Kissing cousins exchange CLIP. *Curr Biol.* 1995; 5: 1372-1376.
30. Townsend A and Trowsdale J. The transporter associated with antigens processing. *Semin Cell Biol.* 1993; 4: 53-61.

31. Denzin LK and Cresswell P. HLA-DM induced CLIP dissociation from MHC Sınıf II dimers and facilitates peptide loading. *Cell*. 1995; 82: 155-165.
32. Raghavan M. Immunodeficiency due to defective antigen processing: the molecular basis for type 1 bare lymphocyte syndrome. *J Clin Invest* 1999; 103: 595-600.
33. De La Salle H, Zimmer J, Fricker D, et al. HLA Sınıf I deficiencies due to mutations in subunit 1 of the peptide transporter TAP 1. *J Clin Invest* 1999;103:9-13
34. P.DeSandro A, Nagarajan UM, Boss JM. The bare lymphocyte syndrome: molecular clues to the transcriptional regulation of major histocompatibility complex Sınıf II genes. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 279-286.
35. Lin L, Faraco J, Li R, et al. The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell* 999;98:365-376.
36. Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, et al. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 1999;98:437-451.
37. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999;341: 1986-95.
38. Kühn LC. Iron overload: molecular clues to its cause. *Trends Biochem Sci* 1999;24:164-166.
39. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC Sınıf I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996; 13: 399-408.
40. Lebron JA, Bennett MJ, Vaughn DE, et al. Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. *Cell* 1998;93: 111-123.
41. Hill AVS. The immunogenetics of human infectious diseases. *Annu Rev Immunol* 1998;16: 593-617.
42. Hill AVS, Allsopp CEM, Kwiatkowski D, et al. Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature* 1991;352:595-600
43. Hill AVS, Elvin J, Willis AC, et al. Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria. *Nature* 1992;360:434-439.
44. Carrington M, Nelson GW, Martin MP, et al. *HLA* and HIV-1: heterozygote Advantage and *B\*35-Cw\*04* disadvantage. *Science* 1999;283:1748-1752
45. Klenerman P, Rowland-Jones S, McAdam S, et al. Cytotoxic T-cell activity antagonized by naturally occurring HIV-1 Gag variants. *Nature* 1994;369:403-407.

46. Flavell RA, Hafler DA, eds. Autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 1999;11:635-707.
47. Thorsby E. Invited anniversary review: HLA associated diseases. *Hum Immunol* 1997;53:1-11.
48. Benjamin R, Parham P. Guilt by association: HLA-B27 and ankylosing spondylitis. *Immunol Today* 1990;11:137-42. Feltkamp TEW, Khan MA, Lopez de Castro JA. The pathogenetic role of HLA-B27. *Immunol Today* 1996;17:5-7.
49. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management. *Pediatr Clin North Am* 2005; 52:1553-1578.
50. Redondo MJ, Fain PR, Eisenbarth GS. Genetics of type 1A diabetes. *Recent Prog Horm Res* 2001; 56:69-89.
51. Kelly MA, Mijovic CH, Barnett AH. Genetics of type 1 diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2001; 15:279-291.
52. Morales A.E, She J.X, Schatz D.A. Genetics of Type 1 Diabetes. In: Pescovitz O.H, Eugster E.A (eds). *Pediatric Endocrinology*. 1 edition. Philadelphia (USA): Lippincott Williams and Wilkins; 2004; 403-410.
53. Norris A.W, Wolfsdorf J.I. Diabetes Mellitus. In: Brook G.D.C, Clayton P.E, Brown RS, Savage M.O (eds). *Clinical Pediatric Endocrinology*. 5 edition. Massachusetts (USA): Blackwell Publishing Ltd; 2005;436-491.
54. Knip M, Veijola R, Virtanen SM, Hyoty H, Vaarala O, Akerblom HK. Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes. *Diabetes* 2005; 54:125-136.
55. Alemzadeh R, Wyatt D.T. Diabetes Mellitus. In: Behrman R.E, Kliegman R.M, Jenson H.B (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17 edition. Pennsylvania: Elsevier Saunders; 2004, 1947-1972.
56. Khan MA. Clinical features of ankylosing spondylitis. In: Hochberg M, et al., eds. *Rheumatology*. Section 9: Spondyloarthropathies. Spain: Elsevier; 2003;1161-1181.
57. Van Der Linden S, Van Der Heijde D. Smifification of spondyloarthropathies. In: Hochberg M, et al., eds. *Rheumatology*. Sectio 9: Spondyloarthropathies. Spain: Elsevier; 2003;1149-1151.
58. Brown MA, Wordsworth BP, Reveille JD. Genetics of ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol*. 2002;20 ;43-49.

59. Strumpell A. Observations on chronic ankylosing inflammation of the vertebrae and hip joints. *Clin Orthop Relat Res* 1974; 74:4-6.
60. Brewerton DA. Discovery: HLA and disease. *Curr Opin Rheumatol.* 2003;15:369-373.
61. Schlosstein L, Terasaki PI, Bluestone R, Pearson CM. High association of an HL-A antigen, W27, with ankylosing spondylitis. *N Engl J Med.* 1973; 288:704-706.
62. Kemple K, Bluestone R. The histocompatibility complex and rheumatic-disease. *Pathobiol Annu.* 1977;7:305-326.
63. Bluestone R. Identification of associations with HLA-B27. *Milestones Rheumatol Patient Care* ;1988; 31:15-24.
64. Louie J. Personal Communication, 5. Baker, ed. 2005. 31. Goldin RH, Bluestone R. Tissue typing in rheumatic diseases. In: English DS, ed. *Clinics in rheumatic diseases.* Bath, England: W.B. Saunders; 1976:231-252.
65. White SH, Newcomer VD, Mickey MR, Terasaki PI. Disturbance of HL-A antigen frequency in Psoriasis. *N Engl J Med*; 1972;287(15):740-743.
66. Gran J, Jusby G. Epidemiology of ankylosing spondylitis. In: flochberg M, et al., eds. *Rheumatology. Section 9: Spondyloarthropathies.* Spain: Elsevier; 2003:1153-1159.
67. Özgöçmen S. Ankilozan Spondilit ve Spondiloartropatiler .Veri Medikal Yayıncılık. 2008; 1;24-25
68. Kuon W, Holzthutter HG, Appel H, et al. Identification of HLA – B27 restricted peptides from the chlamydia trachomatis proteome with possible relevance to HLA – B27 – associated diseases. *J Immunol* 2001; 167; 4738 –4746.
69. Montserrat V, Marti M, Lopez de castro JA, Allospecitic T cell epitope sharing reveals extensive conservation of the antigenic features of peptide ligands among HLA – B27 Subtypes differentially associated with spondyloarthritis. *J Immunol*, 2003; 170: 5778 – 5785.
70. Dulphy N, Peyrat MA, Tieng V, et al. Common intra-articular T cell expansions in patients with reactive arthritis: identical  $\beta$  chain junctional sequences and cytotoxicity toward HLA-B27. *J Immunol.* 1999;162:3830-3839.



71. May E, Dulphy N, Frauendorf E, et al. Conserved TCR  $\beta$  chain usage in reactive arthritis; evidence for selection by a putative 57. HLA-B27-associated autoantigen. *Tissue Antigens*. 2002; 60: 299-308.
72. Dangoria NS, Delay ML, Kingsbury DJ, et al. HLA-B27 misfolding is associated with aberrant intermolecular disulfide bond formation (dimerization) in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*. 2002;277:23459-23468.
73. Bird LA, Peh CA, Kollnberger S, Elliott T, McMichael AJ, Bowness P. Lymphoblastom cells express HLA-B27 homodimers both intra cellularly and at the cell surface following endosomal recycling. *Eur. J Immunol*. 2003;33:748-759.
74. Ekman P, Saarinen M, et al. HLA-B27-transfected (*Salmonella* permissive) and HLA-A2-transfected (*Salmonella* nonpermissive) human monocytic U937 cells differ in their production of cytokines. *Infect Immun*. 2002;70: 1609-1614.
75. Popov I, Dela Cruz CS, Barber BH, et al. Inman RD. Breakdown 63. of CTL tolerance to self HLA-B\*2705 induced by exposure to *Chlamydia trachomatis*. *J Immunol*. 2002;169:4033-4038.
76. Ekman P, Kirveskari J, Granfors K. Modification of disease outcome in Salmonella-infected patients by HLA-B27. *Arthritis Rheum*. 2000;43:1527-1534.
77. Ebringer, A, Cowling, P, Nig'a Sah N. Cross reactivity between Klebsiella greggii species and B27 lymphocyte antigens in HLA and: *Disease* 1976; 27.
78. Lahesma, R., Skurnik, M, Granfors K, Molecular mimicry in the pathogenesis of spondyloarthropathies. A critical appraisal of cross – reactive between microbial antigen and HLA-B27 *Be J. Rheumatol* 1992, 31; 221 – 229
79. Isuchiya, N, Husby, G, Williams RJ, Autoantibodies to the HLA – B27 sequence cross – react with the hypothetical peptide from the arthritis associated shigella plasmid *J. Clin invest* 1990, 86;1193 – 1203.
80. Reveille JD, Ball EJ, Khan MA. HLA – B27 and genetic predisposing factors in spondyloarthropathies. *Curr Opin Rheumatol*, 2001, 13;265 -272.
81. Tazi Ahnini R, Cork MJ, Wengraf D, et al. NOTCH4, a non-HLA gene in the MHC is strongly associated with the most severe form of alopecia areata. *Hum Genet*. 2003;112 :400-403.
82. Steiner NK, Gans C, Baldassarre L, et al. Twenty-five novel HLA-B alleles. *Tissue Antigens*. 2003; 62:263-266.

83. Ramos M, Lopez de Castro JA. HLA-B27 and the pathogenesis of spondyloarthritis. *Tissue Antigen*. 2002;60:191-205.
84. Khare SD, Luthra HS, David CS. Animal models of human leukocyte antigen B27-linked arthritides. *Rheum Dis Clin North Am*. 1998; 24:883-894.
85. Colbert RA. HLA-B27 misfolding: a solution to the spondyloarthropathy conundrum? *Mol Med Today*. 2000; 6:224-230.
86. Schlosstein L, Terasaki PI, Bluestone R, Pearson CM. High association of an HLA-A antigen, W27, with ankylosing spondylitis. *N Engl J Med*. 1973;288:704-706.
87. Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A, Caffrey M, James DC, Turroff RD. Ankylosing spondylitis and HLA-A27. *Lancet*. 1973; 1:904-907.
88. Khan MA, Kushner I, Braun WE, Schacter BZ, Steinberg AG. HLA-B\*27 and ankylosing spondylitis in American blacks. *N Engl J Med*. 1977; 297:53.
89. Milicic A, Lindheimer F, Laval S, et al. Interethnic studies of TNF polymorphisms confirm the likely presence of a second MHC susceptibility locus in ankylosing spondylitis. *Genes Immun*. 2000;1: 418-422.
90. Brown MA, Kennedy LG, Darke C, et al. The effect of HLA-DR genes on susceptibility to and severity of ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*. 1998;41: 460-465.
91. Said-Nahal R, Miceli-Richard C, Gautreau C, et al. The role of HLA genes in familial spondyloarthropathy: a comprehensive study of 70 multiplex families. *Ann Rheum Dis*. 2002;61:201-206.
92. Khan MA. A world wide overview: the epidemiology of HLA – B27 and associated spondyloarthritides, In: Calin A, Taurog JD, eds. *Spondyloarthritides*. New York NY: Oxford University Press; 1998: 17 -26.
93. Bhatia K, Prasad ML, Barnish G, Koki G. Antigen and haplotype frequencies at three human leucocyte antigen loci (HLA-A-B, -C) in the Pawaia of Papua New Guinea. *Am J phys Anthropol*, 1988, 75: 329 – 340.
94. Krylov M, Etdexa S, Alexeeva L, Benevolenskaya L, Arnett FC, Reville JD. HLA Class II and HLA – B27 oligotyping in two Siberian native population groups. *Tissue Antigens*. 1995;46: 382 –386.

95. Alexeeva L, Krylov M, Vturin V, et al. Prevalence of spondyloarthropathes and HLA-B27 in the native population of Chukotka, Russia. *J Rheumatol.* 1994; 21:2298-2300.
96. Khan MA. -HLA-B27 and its subtypes in world populations. *Curr V Opin Rheumatol.* 1995;7: 263-269.
97. Khan MA, Braun WE, Kushner I, Grecek DE, Muir WA, Steinberg AG. HLA-B27 in ankylosing spondylitis: differences in frequency and relative risk in American blacks and Caucasians. *J Rheumatol Suppl.* 1977;3 :39-43.
98. Schumacher TM, Genant HK, Kellet MJ, et al. HLA-B27 associated arthropathies. *Radiology* 1978; 2:289-297.
99. Prekash S, Mehra NK, Bhargava S, et al. Ankylosing spondylitis in north India: a clinical and immunogenetic study. *Ann Rheum Dis* 1984; 3:381-385.
100. Johnsen K, Gran JT, Dale K, et al. The prevalence of ankylosing spondylitis among Norwegian Samis (Lapps). *Ter Arkh* 1991; 63: 37-38.
101. Sarpel T, Şahin G, Güzel R, et al. Ankilozan spondilitte periferik eklem tutulumu, *Ege Fiziksel Tıp Reh Der* 1996, 2:247-249.
102. Yıldırım Ç, Kaptanoğlu, E, Kaçar C, Arıkan V, Tercan E, Tuncer T, Akyokuş A, Seronegatif Spondiloartropatilerde HLA-B27 ve Klinik Bulgularla İlişkisi. *Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi.* Sayı: 1; 2002 ;2048
103. Robinson WP, Vander linden SM, Khan MA, et al. HLA – BWGO increages suptblity to anklaing spendylitis in HLA – B27 patrots: 1989: 32: 1135 -1141
104. Cedos JP, wendling D, Viel JF: The B7 cross reactive group and spondylarthropathies an epidemia logial approach. *Lj Rheumatol* 1995; 22. 1884–1890

**EK-1.** AS ön tanılı hasta grubunda HLA A, -B, -C lokuslarındaki antijenleri, kan grupları ve yaşları

| A. S | A LOKUSU |     | B LOKUSU |     | C LOKUSU |     | Kan Grubu | Yaş |
|------|----------|-----|----------|-----|----------|-----|-----------|-----|
| M. A | A2       | A2  | B51      | B41 | Cw17     |     |           | 36  |
| G. D | A1       | A2  | B51      | B51 | Cw7      |     |           | 53  |
| M. Ö | A2       | A62 | B38      | B38 | Cw3      |     | BRh+      | 43  |
| İ. S | A24      | A29 | B7       | B7  | Cw6      |     |           | 13  |
| G. E | A2       | A24 | B51      | B39 |          |     | ARh+      | 18  |
| M. B | A1       | A24 | B18      | B8  | Cw7      |     | BRh -     | 35  |
| E. Ç | A11      | A68 | B51      | B38 | Cw2      |     |           | 17  |
| M. Ö | A2       | A3  | B51      | B35 | Cw4      |     |           | 40  |
| D. U | A3       | A11 | B38      | B35 | Cw4      |     | ARh-      | 58  |
| O. A | A2       | A30 | B51      | B51 |          |     |           | 40  |
| R. Y | A24      | A26 | B38      | B38 | Cw3      |     |           | 24  |
| E. U | A1       | A3  | B57      | B35 | Cw4      |     |           | 10  |
| A. K | A24      | A20 | B51      | B38 |          |     |           | 14  |
| O. A | A29      | A32 | B7       | B51 | Cw7      |     | ARh+      | 30  |
| R. B | A24      | A24 | B56      | B35 | Cw3      | Cw4 |           | 45  |
| S. T | A3       | A33 | B51      | B51 |          |     | ABRh+     | 21  |
| S. A | A2       | A11 | B51      | B35 | Cw4      |     | BRh-      | 43  |
| M. A | A2       | A3  | B44      | B41 | Cw17     | Cw5 | BRh+      | 41  |
| O. B | A3       | A24 | B51      | B18 |          |     |           | 47  |
| Z. D | A11      | A23 | B44      | B41 | Cw7      |     |           | 37  |
| S. T | A11      | A68 | B52      | B35 | Cw4      |     |           | 26  |
| S. S | A1       | A32 | B8       | B63 | Cw7      |     | ARh+      | 28  |
| N. T | A3       | A29 | B44      | B35 | Cw4      |     |           | 36  |
| U. Y | A2       | A2  | B51      | B51 |          |     | ARh+      | 16  |
| L. A | A1       | A23 | B49      | B37 | Cw7      | Cw6 | ARh+      | 46  |
| C. E | A3       | A68 | B51      | B7  | Cw7      |     | ARh+      | 44  |
| Y. A | A2       | A2  | B44      | B18 | Cw5      |     | ARh+      | 31  |
| F. G | A1       | A26 | B35      | B35 | Cw4      |     | ARh+      | 33  |
| N. Y | A2       | A26 | B51      | B51 |          |     | ORh+      | 27  |
| F. K | A11      | A33 | B35      | B35 | Cw4      |     |           | 52  |
| H. Ç | A1       | A11 | B51      | B58 | Cw3      |     | ARh+      | 34  |
| E. A | A1       | A2  | B63      | B38 |          |     |           | 18  |
| M. B | A3       | A24 | B7       | B35 | Cw7      |     |           | 30  |
| F. Y | A24      | A11 | B52      | B38 |          |     |           | 20  |
| E. G | A24      | A29 | B40      | B17 | Cw2      |     |           | 46  |
| M. H | A24      | A68 | B35      | B41 | Cw4      |     |           | 20  |
| F. K | A2       | A2  | B51      | B8  | Cw7      |     | ARh-      | 21  |
| Ö. G | A23      | A68 | B13      | B13 | Cw6      |     | ABRh-     | 37  |
| S. A | A2       | A26 | B51      | B51 |          |     | ARh+      | 35  |
| G. K | A3       | A11 | B35      | B63 | Cw4      |     | ARh+      | 41  |
| Z. K | A2       | A3  | B60      | B60 | Cw3      |     |           | 30  |
| N. K | A68      | A33 | B14      | B35 | Cw4      |     |           | 46  |

## Ek-1. Devam

| A. S | A LOKUSU |     | B LOKUSU |     | C LOKUSU |     | Kan Grubu | Yaş |
|------|----------|-----|----------|-----|----------|-----|-----------|-----|
| T. K | A1       | A3  | B13      | B49 | Cw6      | Cw7 |           | 26  |
| A. C | A2       | A68 | B13      | B65 | Cw6      |     |           | 29  |
| N. T | A2       | A33 | B35      | B35 | Cw4      |     |           | 24  |
| A. K | A2       | A11 | B13      | B65 | Cw8      | Cw6 |           | 32  |
| G. İ | A26      | A11 | B50      | B35 | Cw4      | Cw6 |           | 25  |
| A. B | A32      | A33 | B8       | B14 | Cw7      |     |           | 39  |
| T. Ö | A2       | A24 | B51      | B51 |          |     | ABRh+     | 41  |
| A. E | A2       | A32 | B44      | B44 | Cw5      | Cw6 | ARh+      | 30  |
| A. Ö | A32      | A33 | B52      | B64 | Cw8      | Cw8 | ABRh+     | 38  |
| M. A | A2       | A3  | B51      | B51 |          |     | ARh+      | 24  |
| E. U | A2       | A2  | B44      | B44 | Cw5      |     | ARh+      | 28  |
| K. T | A2       | A11 | B44      | B35 | Cw4      | Cw5 | ARh+      | 8   |
| M. D | A1       | A68 | B44      | B39 | Cw7      | Cw5 |           | 23  |
| S. C | A1       | A24 | B35      | B41 | Cw4      |     | ORh+      | 30  |
| İ. T | A2       | A2  | B35      | B51 | Cw4      |     |           | 27  |
| S. T | A11      | A68 | B51      | B51 |          |     |           | 35  |
| A. K | A1       | A1  | B41      | B35 | Cw17     | Cw4 | ARh+      | 28  |
| H. Y | A2       | A24 | B51      | B44 | Cw5      |     |           | 24  |
| S. A | A11      | A68 | B51      | B35 | Cw4      |     | ARh+      | 18  |
| F. B | A68      | A30 | B51      | B49 |          |     |           | 25  |
| H. B | A2       | A11 | B44      | B44 | Cw5      | Cw7 |           | 78  |
| M. Y | A2       | A31 | B51      | B35 | Cw4      |     | ARh+      | 16  |
| O. P | A23      | A26 | B51      | B38 |          |     | ARh+      | 36  |
| G. H | A3       | A24 | B8       | B35 | Cw4      | Cw7 |           | 24  |
| K. S | A2       | A26 | B13      | B35 | Cw4      | Cw6 | ARh+      | 36  |
| B. Y | A3       | A26 | B51      | B44 | Cw5      |     |           | 8   |
| M. D | A3       | A11 | B44      | B35 | Cw4      | Cw7 | ORh+      | 36  |
| M. K | A1       | A24 | B44      | B41 | Cw17     | Cw5 | ORh+      | 25  |
| B. Ö | A2       | A24 | B18      | B39 | Cw7      |     |           | 13  |
| B. B | A2       | A24 | B51      | B38 | Cw4      | Cw7 |           | 43  |
| T. O | A2       | A24 | B44      | B35 | Cw4      |     |           | 34  |
| M. G | A24      | A24 | B62      | B35 | Cw3      | Cw5 |           | 19  |
| E. E | A2       | A2  | B50      | B51 | Cw6      |     |           | 35  |
| E. A | A3       | A11 | B44      | B35 | Cw4      |     | ORh+      | 44  |
| F. D | A2       | A23 | B51      | B49 | Cw7      |     |           | 51  |
| Z. D | A3       | A3  | B51      | B51 | Cw1      |     |           | 27  |
| T. A | A1       | A29 | B45      | B55 | Cw6      | Cw1 |           | 25  |
| A. A | A26      | A11 | B7       | B49 | Cw7      |     | ORh+      | 36  |
| B. K | A24      | A26 | B51      | B62 | Cw1      |     |           | 16  |
| T. D | A32      | A68 | B52      | B35 | Cw4      |     |           | 28  |
| M. K | A1       | A2  | B8       | B35 | Cw4      | Cw7 |           | 20  |
| B. A | A3       | A68 | B7       | B35 | Cw4      | Cw7 |           | 50  |

**EK-1 Devam**

| A. S | A LOKUSU |     | B LOKUSU |     | C LOKUSU |     | Kan Grubu | Yaş |
|------|----------|-----|----------|-----|----------|-----|-----------|-----|
| E. B | A24      | A24 | B44      | B49 | Cw7      |     | ARh+      | 19  |
| F. E | A1       | A68 | B52      | B52 | Cw2      |     |           | 30  |
| K. Y | A36      | A68 | B63      | B49 | Cw4      |     | ARh+      | 8   |
| F. M | A2       | A2  | B44      | B35 | Cw4      | Cw5 |           | 53  |
| A. S | A1       | A31 | B51      | B63 |          |     |           | 15  |
| M. B | A3       | A19 | B35      | B50 | Cw4      | Cw6 |           | 24  |
| H. K | A1       | A31 | B7       | B35 | Cw7      | Cw4 | ARh+      | 12  |
| A. G | A1       | A24 | B51      | B57 | Cw6      |     | ARh+      | 26  |
| B. Z | A19      | A19 | B13      | B57 | CW6      |     |           | 30  |
| Y. K | A2       | A2  | B11      | B44 | Cw4      | Cw1 |           | 30  |
| N. E | A2       | A3  | B51      | B51 |          |     | ORh+      | 39  |
| M. D | A26      | A29 | B7       | B65 | Cw7      | Cw8 |           | 24  |
| K. A | A23      | A31 | B49      | B35 | Cw4      | Cw7 |           | 13  |
| T. O | A2       | A11 | B18      | B41 | Cw17     |     |           | 28  |
| K. Ç | A24      | A26 | B62      | B18 | Cw3      |     |           | 30  |
| E. D | A2       | A2  | B35      | B51 | Cw4      |     |           | 19  |
| B. Y | A1       | A3  | B62      | B63 | Cw3      |     |           | 40  |
| N. P | A3       | A11 | B8       | B44 | Cw4      |     |           | 18  |
| A. K | A24      | A30 | B13      | B35 | Cw4      |     | ARh+      | 22  |
| A. P | A24      | A26 | B8       | B35 | Cw4      | Cw7 |           | 13  |
| E. P | A11      | A33 | B51      | B49 | Cw7      |     |           | 28  |
| E. B | A26      | A26 | B51      | B55 | Cw1      |     |           | 28  |
| E. Y | A3       | A30 | B8       | B13 | Cw6      | Cw7 | ARh+      | 13  |
| G. A | A24      | A24 | B50      | B18 | Cw6      |     | ORh+      | 37  |
| A. Ö | A24      | A30 | B13      | B18 | Cw6      |     | ORh+      | 22  |
| S. T | A2       | A3  | B51      | B51 |          |     |           | 18  |
| C. A | A2       | A11 | B51      | B50 | Cw6      |     |           | 21  |
| E. K | A3       | A24 | B51      | B35 | Cw4      |     |           | 15  |
| F. S | A2       | A68 | B13      | B35 | Cw4      | Cw6 |           | 28  |
| K. K | A3       | A24 | B51      | B55 | Cw1      |     |           | 30  |
| B. B | A24      | A11 | B44      | B68 | Cw5      | Cw7 |           | 20  |
| D. E | A1       | A3  | B8       | B8  | Cw7      |     |           | 18  |
| A. K | A2       | A24 | B55      | B51 | Cw1      |     |           | 14  |
| S. Y | A1       | A29 | B55      | B41 | Cw1      | Cw7 |           | 13  |
| M. P | A23      | A24 | B51      | B44 | Cw5      |     | ARh-      | 35  |
| E. Y | A3       | A32 | B35      | B55 | Cw3      | Cw4 | ARh+      | 33  |
| G. K | A1       | A32 | B47      | B61 | Cw6      |     |           | 33  |
| M. U | A32      | A32 | B51      | B35 | Cw4      |     |           | 26  |
| Ş. Ö | A24      | A11 | B6       | B50 | Cw6      | Cw7 |           | 37  |
| E. Ö | A2       | A32 | B51      | B51 |          |     |           | 40  |
| B.D  | A1       | A11 | B41      | B35 | Cw4      | Cw7 |           | 59  |
| O. Ç | A24      | A11 | B51      | B51 |          |     |           | 19  |

## Ek 1 Devam

| A. S  | A LOKUSU |     | B LOKUSU |     | C LOKUSU |     | Kan Grubu | Yaş |
|-------|----------|-----|----------|-----|----------|-----|-----------|-----|
| N. E  | A24      | A29 | B7       | B35 | Cw4      |     | ARh-      | 41  |
| U. A  | A11      | A7  | B51      | B56 | Cw1      |     | ARh+      | 45  |
| M. Ç  | A2       | A30 | B63      | B51 | Cw1      |     |           | 19  |
| L. A  | A2       | A24 | B41      | B68 | Cw3      |     |           | 21  |
| S. Ç  | A1       | A68 | B51      | B53 | Cw4      |     |           | 43  |
| H. T  | A2       | A2  | B51      | B35 | Cw4      |     | ARh+      | 37  |
| M. E  | A2       | A30 | B41      | B38 | Cw7      |     | ARh+      | 16  |
| Z. Y  | A2       | A2  | B41      | B51 | Cw17     |     |           | 56  |
| N. E  | A3       | A11 | B35      | B51 | Cw4      |     | ARh+      | 40  |
| M. Y  | A2       | A2  | B7       | B50 | Cw7      | Cw6 | ARh-      | 24  |
| N. K  | A2       | A3  | B8       | B60 | Cw3      | Cw7 |           | 43  |
| D. G  | A3       | A24 | B35      | B38 | Cw4      |     |           | 30  |
| K. B  | A2       | A2  | B51      | B50 | Cw6      |     |           | 27  |
| K. A  | A23      | A30 | B49      | B35 | Cw4      | Cw7 | ARh+      | 14  |
| N. Ö  | A11      | A11 | B55      | B35 | Cw4      | CW1 |           | 24  |
| Y. T  | A1       | A2  | B8       | B35 | Cw4      | Cw7 | ABRh+     | 28  |
| Y. G  | A2       | A3  | B51      | B8  | Cw7      |     |           | 55  |
| S. D  | A1       | A32 | B8       | B22 | Cw7      | Cw3 |           | 30  |
| A. B  | A24      | A32 | B18      | B35 | Cw3      |     |           | 34  |
| Z. Ç  | A23      | A32 | B35      | B35 | Cw4      |     |           | 24  |
| D. B  | A68      | A24 | B44      | B60 | Cw3      | Cw7 |           | 25  |
| R. Ç  | A11      | A24 | B50      | B35 | Cw4      | Cw6 |           | 27  |
| A. P  | A3       | A24 | B51      | B63 | Cw4      | Cw7 |           | 30  |
| P. A  | A24      | A24 | B18      | B60 | Cw3      | CW5 |           | 53  |
| H. G  | A26      | A30 | B13      | B13 | Cw6      |     |           | 36  |
| E. B  | A23      | A30 | B13      | B38 | Cw6      |     |           | 35  |
| R. M  | A1       | A32 | B52      | B35 | Cw4      |     |           | 44  |
| B. B  | A2       | A3  | B44      | B18 | Cw5      |     |           | 61  |
| C. B  | A2       | A30 | B51      | B51 |          |     |           | 49  |
| D. G. | A2       | A24 | B41      | B49 | Cw7      |     |           | 21  |
| Z. K  | A11      | A33 | B51      | B14 | Cw7      |     |           | 26  |
| S. K  | A24      | A24 | B18      | B55 | Cw1      |     |           | 18  |
| S. K  | A68      | A30 | B35      | B38 | Cw4      |     |           | 23  |
| M. B  | A24      | A24 | B14      | B14 | Cw7      |     |           | 48  |
| H. T  | A2       | A2  | B7       | B7  | Cw7      |     |           | 20  |
| Z. E  | A2       | A24 | B7       | B60 | Cw7      | CW3 | ORh+      | 20  |
| S. E. | A1       | A23 | B49      | B49 | Cw7      |     |           | 23  |
| B. S  | A24      | A26 | B35      | B35 | Cw4      |     |           | 51  |
| Z. K  | A3       | A11 | B58      | B51 | Cw3      |     |           | 20  |
| S. Y  | A33      | A11 | B14      | B42 | Cw1      |     |           | 54  |
| D. Ç  | A3       | A24 | B51      | B8  | Cw4      |     | BRh+      | 42  |

**Ek-2** Kemik iliği ve böbrek nakli bekleyen hastaların sağlıklı vericilerinin HLA A, -B, -C lokuslarındaki antijenleri.

| A. S.    | A LOKUSU |     | B LOKUSU |     | C LOKUSU |     |
|----------|----------|-----|----------|-----|----------|-----|
| Z. D.    | A26      | A68 | B62      | B41 | Cw1      | Cw4 |
| E. I.    | A1       | A24 | B41      | B18 | Cw1      | Cw4 |
| İ. A.    | A1       | A24 | B51      | B57 | Cw6      |     |
| K. A.    | A3       | A3  | B35      | B38 | Cw4      |     |
| A. S.    | A26      | A32 | B50      | B51 | Cw6      |     |
| Z. K.    | A1       | A11 | B35      | B38 |          |     |
| E. Ş     | A3       | A23 | B39      | B49 |          |     |
| S. H.    | A1       | A68 | B7       | B44 |          |     |
| E. S.    | A3       | A24 | B52      | B44 | Cw2      |     |
| Y. S     | A24      | A3  | B52      | B44 | Cw2      |     |
| F. D.    | A1       | A68 | B51      | B58 | Cw3      |     |
| T. Ç.    | A24      | A11 | B55      | B35 | Cw5      |     |
| A. Ç.    | A2       | A68 | B13      | B53 | Cw4      |     |
| N. S.    | A2       | A24 | B35      | B38 |          |     |
| S. A.    | A11      | A30 | B8       | B35 | Cw4      | Cw7 |
| A. S.    | A26      | A30 | B44      | B51 | Cw5      |     |
| E. G.    | A2       | A2  | B63      | B63 | Cw4      |     |
| B. P.    | A2       | A31 | B52      | B63 | Cw7      |     |
| B. S.    | A11      | A33 | B50      | B35 | Cw4      | Cw6 |
| M. D.    | A24      | A11 | B8       | B50 | Cw6      | Cw7 |
| E. D     | A30      | A68 | B13      | B41 | Cw7      |     |
| N. T.    | A2       | A68 | B51      | B55 | Cw1      |     |
| H. K.    | A1       | A68 | B13      | B35 | Cw4      | Cw6 |
| S. C.    | A24      | A29 | B7       | B50 | Cw6      |     |
| E. E.    | A3       | A30 | B41      | B57 | Cw6      | Cw7 |
| C. Ö.    | A24      | A33 | B7       | B66 | Cw7      | Cw5 |
| A. Ö.    | A24      | A26 | B44      | B51 | Cw6      |     |
| C. B.    | A1       | A11 | B58      | B60 | Cw3      | Cw7 |
| R. A.    | A26      | A29 | B7       | B18 | Cw5      | Cw7 |
| S. A.    | A2       | A32 | B7       | B51 | Cw7      |     |
| S. A.    | A1       | A24 | B7       | B35 | Cw4      | Cw7 |
| H. Y.    | A1       | A2  | B51      | B50 | Cw6      |     |
| C. K.    | A2       | A3  | B35      | B49 | Cw4      | Cw7 |
| M. H. A. | A3       | A24 | B8       | B51 | Cw4      | Cw7 |
| A. R. A. | A2       | A3  | B8       | B35 | Cw4      | Cw7 |
| İ. A.    | A1       | A24 | B51      | B60 | Cw3      |     |
| B. T     | A2       | A24 | B35      | B52 | Cw4      |     |
| N. A.    | A2       | A23 | B55      | B50 | Cw4      | Cw6 |
| S. G.    | A11      | A24 | B35      | B51 | Cw4      |     |
| Ş. S.    | A2       | A3  | B35      | B44 |          |     |
| L. G     | A2       | A24 | B52      | B52 |          |     |
| M. A     | A23      | A68 | B35      | B49 | Cw4      | Cw7 |



**EK-2 Devam**

| A.S.  | A. LOKUSU |     | B LOKUSU |     | C LOKUSU |     |
|-------|-----------|-----|----------|-----|----------|-----|
| I. S. | A1        | A23 | B44      | B73 |          |     |
| H. S. | A2        | A23 | B44      | B39 |          |     |
| S. K. | A24       | A32 | B7       | B39 | Cw7      |     |
| S. E. | A2        | A68 | B35      | B51 | Cw4      |     |
| F. Y. | A2        | A11 | B51      | B52 |          |     |
| S. Y. | A1        | A23 | B35      | B63 | Cw4      | Cw7 |
| C. D. | A2        | A24 | B51      | B49 | Cw7      |     |
| A. K. | A2        | A30 | B8       | B35 | Cw4      | Cw7 |
| M. Y. | A1        | A11 | B41      | B35 | Cw1      | Cw7 |
| N. A. | A30       | A68 | B8       | B35 | Cw7      | Cw4 |
| H. Ş. | A11       | A24 | B41      | B51 |          |     |
| Z. A. | A68       | A68 | B51      | B55 | Cw3      |     |
| H. G. | A11       | A23 | B52      | B49 | Cw7      |     |
| F. D. | A25       | A26 | B38      | B44 | Cw4      |     |
| B. K. | A11       | A24 | B51      | B62 | Cw3      |     |
| Ş. K. | A1        | A1  | B41      | B51 | Cw17     |     |
| H. B. | A23       | A23 | B49      | B52 | Cw7      |     |
| A. O. | A26       | A32 | B8       | B35 | Cw4      | Cw7 |
| F. E. | A2        | A24 | B35      | B37 | Cw4      | Cw6 |
| M. T. | A2        | A3  | B8       | B35 |          |     |
| A. K. | A2        | A32 | B52      | B72 | Cw7      |     |
| S. A. | A3        | A26 | B18      | B62 | Cw3      |     |
| A. G. | A1        | A2  | B8       | B51 | Cw7      |     |
| E. G. | A1        | A24 | B18      | B73 | Cw7      |     |
| M. B. | A1        | A2  | B73      | B50 | Cw6      | Cw7 |
| Z. L. | A2        | A3  | B51      | B51 |          |     |
| Z. L. | A2        | A30 | B50      | B13 | Cw6      |     |
| H. L. | A3        | A24 | B18      | B51 | Cw7      |     |
| B. Ç. | A2        | A11 | B35      | B44 | Cw5      | Cw4 |
| Ö. Ö  | A24       | A26 | B44      | B51 | Cw5      |     |
| S. Ş. | A24       | A30 | B13      | B58 | Cw5      | Cw6 |
| E. Ş. | A29       | A68 | B44      | B44 | Cw3      | Cw6 |
| S. Ö  | A1        | A26 | B7       | B51 | Cw6      | Cw7 |
| H. Ş. | A24       | A68 | B44      | B35 | Cw4      | Cw5 |
| M. Ş. | A24       | A29 | B35      | B44 | Cw4      | Cw5 |
| A. Ş. | A3        | A24 | B44      | B35 | Cw4      | Cw5 |
| M. Ş. | A24       | A29 | B35      | B55 |          |     |
| D. Y. | A3        | A23 | B8       | B33 | Cw4      | Cw7 |
| A. Ş. | A3        | A3  | B54      | B35 | Cw1      | Cw4 |
| A. G. | A24       | A11 | B51      | B51 |          |     |

**EK-2 Devamı**

| A. S. | A LOKUSU |     | B LOKUSU |     | C LOKUSU |      |
|-------|----------|-----|----------|-----|----------|------|
| M. T. | A2       | A26 | B51      | B51 |          |      |
| F. B. | A3       | A32 | B18      | B58 | Cw7      |      |
| G. T. | A24      | A24 | B35      | B49 | Cw4      | Cw7  |
| Z. G. | A24      | A24 | B35      | B35 | Cw4      |      |
| Ş. Y. | A2       | A3  | B35      | B51 | Cw4      |      |
| G. U. | A2       | A24 | B18      | B51 | Cw5      |      |
| A. A. | A2       | A3  | B18      | B8  | Cw7      | Cw5  |
| İ. A. | A2       | A24 | B35      | B51 | Cw4      |      |
| T. R. | A11      | A68 | B13      | B41 | Cw6      | Cw17 |
| F. T. | A1       | A26 | B38      | B44 | Cw5      | Cw7  |
| F. P. | A2       | A3  | B35      | B35 | Cw2      | Cw4  |