

KLİNİK ARAŞTIRMALAR

SSK TEPECİK HASTANESİ DOKU TIPLENDİRME LABORATUVARINDA 891 OLGUDA HLA DAĞILIMI

HLA DISTRIBUTION IN 891 CASES EVALUTED IN OUR TISSUE TYPING
LABORATORY

Füsun KARAARSLAN
Işıl ÇOKER
Harika SERT
Deniz EGELİ
Suat ÇAĞLAYAN

SUMMARY

It is very hard to estimate Turkish population'a HLA mapping because limited studies have been reported. 891 blood sample were evaluated regarding HLA typing in our center at last 2 years.

Our results showed that the most common HLA-A and B locus antigens were A9, A1, A2 and B5, B35, B12 respectively. A significant positive linkage disequilibrium was found for the haplotype of A2B5.

(Keywords: Haplotyp.)

ÖZET

Bu çalışmada, doku tiplendirme laboratuvarımızda 2 yılda değerlendirilen 891 kan numunesinde HLA antijenlerinin dağılımı sunulmaktadır. Çalışmamızda, HLA-A ve B lokus antijenlerinden sırasıyla; A9, A1, A2, B5, B35, B12'inin yaygınlığı ve beklenene göre daha fazla yanyana bulunan antijen birlikteliğinin (Linkage Disequilibrium) A2B5 haplotipi arasında olduğu ortaya kondu.

(Anahtar Sözcükler: Haplotip.)

Kemik İliği Nakli Bölümü (Prof.Dr.S Çağlayan, Baştabip ve
Bölüm Başkanı)

Biyokimya Lab. (Dr.D Egeli, Şef Yard.)

Doku Tiplendirme ve İmmunoloji Lab. (Dr.I. Çoker,

Bio.Uz.F Karaarslan, Bio.H Sert)

SSK Tepecik Hastanesi 35120 Yenişehir-İZMİR

Yazışma: Bio.Uz.F Karaarslan

İnsanda HLA (Human Leukocyte Antigens) diye adlandırılmış olan doku antijenlerini kodlayan sistem Major Histocompatibility Complex (MHC) adını alır. Altıncı kromozomun kısa kolunda yerleşmiş olan bu sistemin kodladığı üç ana grup antijen vardır. Klas-I antijenleri HLA-A, B, C olarak bilinirler. Klas-II antijenleri HLA-D, DR, DQ ve DP olarak sınıflandırılmaktadır. Klas-III antijenleri ise MHC'deki Klas-III gen bölgesi tarafından kodlanır ve bazı kompleman komponentlerini içerir (1, 2). İnsanda HLA olarak adlandırılan bu sistemin faredeki karşıtı H-2, sıçanda RT-1. tavşanda RLA, koyunda OLA, domuzda SLA, koyda GPLA, atta ELA ve köpekte DLA olarak adlandırılmıştır. MHC sisteminin kodladığı HLA antijenleri birçok immünolojik olayda rol almakta iseler de en önemli rollerini transplant reddinde oynarlar. MHC sistemi birbiriyle sıkı bağlantıları olan genleri ve gen lokuslarını içerir ve bir bütün olarak genetik geçiş gösterir. Bu grup genlere paplotip denmektedir. MHC'de gen lokuslarının fazla sayıda olması yüzünden bu bölge oldukça polimorfizm gösterir. Bu durum sonucunda bir toplumda fazla sayıda farklı haplotipler ortaya çıkmaktadır.

HLA sistemi bireyler arası değişkenliğin fazlalığı yönünden bilinen en karmaşık ve değişkenliği en fazla olan sistemi oluşturur. Eğer HLA-A, B, C, D DQ, DP antijenlerinin sadece günümüzde tanınan tiplerini ele alırsak, bireyler arasında fenotipik olarak farklı dağılım olasılığı hesaplandığında karşımıza 400 milyar gibi inanılmaz bir değişkenlik çıkmaktadır. Ancak belirli toplumlarda bazı HLA antijenlerinin birarada bulunma olasılığı matematiksel olarak hesaplanandan farklıdır. İki antijenin yan yana bulunma olasılığı matematiksel olarak şöyle hesaplanır:

İki antijenin yanyana	Birinci antijenin	İkinci
BULUNMA SIKLIĞI-	SIKLIĞI	X antijenin
		SIKLIĞI

Örneğin, A1 antijeninin bir popülasyonda bulunma sıklığı %16, B8 an-

tijeninin bulunma sıklığı %10 olduğunda A1B8 birlikteliğini formüle koyarak hesapladığımızda;

Birlikte bulunma

SIKLIĞI - $16 \times 10 = 160 : 100 = \%1.6$ olarak bulunur.

Fakat popülasyonda bu iki antijenin yan yana bulunma olasılığı bulunan bu değerden daha fazladır. Bu beklenmeyen şekilde yan yana bulunma olayı LINKAGE DISEQUILIBRIUM (=DENGESİZ BAĞLANTI=D.B) olarak tanımlanmaktadır. D.B=BULUNAN SIKLIK-BEKLENEN SIKLIK formülüne göre hesaplanır. Gerek Dengesiz Bağlantı'ya bağlı olarak, gerekse toplumun yapısına bağlı olarak (göç, farklı ırkların karışması, kapalı toplum, akraba evlilikleri v.b.) HLA antijenlerinin toplumdaki dağılımı matematiksel hesaplamalarla elde edilen orandan oldukça değişkenlik gösterir.

SSK Tepecik Hastanesi Organ Nakli Merkezine bağlı Doku Tipi ve İmmünooloji laboratuvarında 2 yıldır doku tiplendirme ve karışık lenfosit kültürü yapılmaktadır. Bu çalışma doku gruplarını araştırdığımız 891 kişinin doku antijen dağılımını sunan bir ön çalışma niteliğindedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Doku Tiplendirme Laboratuvarında, Nisan 1992-Nisan 1994 tarihleri arasında hastane içi ve dışından gelen 891 kişinin doku antijenlerine bakılmıştır. Özel bir guruplama yapılmamıştır. Her kişiden 10 ml. heparinize kan alınarak önce lenfoprep solüsyonu ile lökositler ayrılmış ve bu hücrelerden mikrolen fositotoksiste yöntemiyle HLA KLAS-I doku antijenleri tayini yapılmıştır. Tayinde hazır antiserum plakları kullanılmıştır (Biotest, 2x60 well Trays Anti-HLA-ABC SERA). Plaklar floresan boya Acridin orange (Merk. lot : K3533031) ile boyanmış ve değerlendirilmeler floresan-mikroskop (Nikon inc.) ile yapılmıştır.

Değerlendirme sonucu bulunan antijenlerin oranı yüzde cinsinden verilmiştir. Sadece iki antijenin yan yana bulunma

sıklığı ve dengesiz bağlantı linkage disequilibrium yukarıda belirtilen hesaplamalar ile belirlenmiştir.

SONUÇ VE BULGULAR

891 kişide görülen HLA-A lokus antijenleri sorasıyla; A9 (%67.7), A2(%39.2), A1 (%43.8), A3 (%39.8), A28(%26.7), A10 (%25.3), A11(%24.4) (TABLO 1). B lokus antijenleri sırasıyla ; B5 (%33.3), B35 (%24.4), B12 (%11.67, B8 (%8.3) (TABLO II). HLA Klas-I antijenlerinin iki lokus arasındaki antijen birlikteliği ve linkage disequilibrium incelendi. İstatistiksel olarak anlamlı 2 farklı yaygın haplotip belirlendi. Yaygın görülen Klas-I iki lokus haplotipleri A2B5 (%15.94). A1B8 (%3.14) şeklindedir. Linkage disequilibrium bu haplotip gruplarından sadece birinde, A2B5 haplotipinde anlamlıdır ($p<0.05$). Negatif linkage disequilibrium A2B27 haplotipinde görülmüştür.

TARTIŞMA

Çalışmamızda, HLA-A, B antijenleri için bulunan yüzde sıklık oranı ve yaygın görülen haplotipler hem ülkemizde hem de yabancı ülkelerde yapılan çalışmalar ile karşılaştırılmıştır. Toplumumuz da 550 sağlıklı kişide yapılan bir çalışmada A2, A9 ve B5 antijenlerinin yüzde olarak sıklıklarının yüksek olduğu gösterilmiştir (4). Bizim sonuçlarımız da A2, A9 ve B5 antijenlerinin yaygın olduğunu doğrulamaktadır. Kore'de 4622 kişide yapılan çalışmada da Klas-I A lokus antijenlerinden A2, A24, A33, A11, A26, A31; B lokus antijenlerinden B62, B51, B44, B54, B61, B35, B58 antijenlerinin sıklıkla gözlemlendiği belirtilmiştir (5). Yunanistan'da 189 kişide yapılan bir çalışmada ise A9, B5, B18, B35 antijenlerinin yaygınlığına dikkat çekilmiştir (6). Brezilya'da A31, A2, A24, B35, B51, B39, B48 antijenlerinin sık olarak gözlemlendiği belirtilmiş ise de bunların bölgede yaşayan etnik gruplara göre değişiklik gösterebildiği her popülasyon için antijen sıklıklarının ya

da sıklık yüzdelerinin değiştiği belirlenmiştir (7). Yine Brezilya'da beyaz 977 kişide ve siyah 173 kişide HLA-A ve B antijenlerine bakılmış siyah ve beyaz ırk antijenleri arasında benzerliği olmakla birlikte ırklar arasında hem antijen sıklığı yönünden hem de linkage disequilibrium yönünden ortak haplotipler belirlenmemiştir (8). Yine toplumumuzda görülen yaygın haplotipler sırasıyla: A2B5, A1B8, A30B13, A9B35, A2B12, A10B16, A9B12, A1B8, A1B8, A1B17, A3B15, A10B7, A3B7, A29B14 olarak belirlenmiştir. Bu haplotipler arasında pozitif linkage disequilibrium (=D?B) gösteren haplotipler A2B5, A30B13, A9B35, A9B21, A1B8'dır (3,4,9). Çalışmamızda A2B5 ve A1B8 haplotiplerinin yaygınlığını gözledik. A2B5 için beklenen değer %13 olmasına rağmen, bulunan değer %15.9; A1B8 için beklenen değer %1.7 iken, bulduğumuz değer %3.14 şeklindedir. Bu iki haplotipten A2B5 için linkage disequilibrium anlamlıdır. Toplumların kökenine göre doku grup antijenleri farklılıklar gösterebileceği bildirildiğinden her topluma ait antijen dağılımının saptanmasının pratik yararları olabileceği bir gerçektir.

TABLO 1: 891 olguda HLA-Klas-I antijen sıklığı

ANTİJEN	SIKLIĞI (%)
A9	67.7
A2	59.2
A1	43.8
A3	39.8
A28	26.7
A10	25.3
A11	24.4
A30	14.5
A24	11.5
A26	8.7
A29	6.8
A25	4.5
A23	1.6

TABLO 2: 891 olguda HLA Klas-I B lokus antijen sıklığı

ANTİJEN	SIKLIĞI (%)
B5	33.3
B51	6.3
B49	2.6
B44	3.2
B7	6.2
B8	8.3
B12	11.56
B14	4.7
B16	5.9
B38	1.2
B39	0.8
B17	5.6
B18	6.8
B21	8.0
B27	6.6
B35	24.4
B40	8.2
B57	0.7

KAYNAKLAR

1. Begemen, M. Das HLA-System des menchen MKW 1982 ; 77 : 14-5.
2. Lamm, L. *The Essential Aspects of Tissue Typing*. Council of Europe., Select Committee of Experts. 1982.
3. Dorak M.T, Yegin O. *Insan Doku Antijenleri*. *Doğa-Tur J Med Res* 1990 ; 14 : 686-702.
4. Tokgöz G, Düzgün N, Turgay M ve ark. *The Distribution of HLA, B and C antigens in Turkish population*. *Turk J Med Res* 1993 ; 11 (1) : 32-6.
5. Kim TG, Han H. *Distribution of HLA classI alleles and haplotype in Koreans*. *Med Sci*. 1993 ; 8 (3) : 180-6.
6. Pachoula-Papasteriadis C, Ollier W et al. *HLA antigen and haplotype frequencies in Greeks*. *Tissue Antigens*. 1989 ; 33 (4) : 488-90.
7. Rosales T, Guilherme L. *Human leukocyte A and b antigen gen and haplotype frequencies in the population of the city of Sao Paulo in Brazil*. *Braz J Med Biol Res*. 1992 ; 25 (1) : 39-47.
8. Trachtenberg A, Jobim LF. *The HLA polymorphism in five Brazilian populations*. *Hum Biol*. 1988 ; 15 (3) : 213-21.